

COMPOSICIONES BIOFARMACÉUTICAS Y PROCEDIMIENTOS CONEXOS

Lista de secuencias

- 5 La solicitud contiene una lista de secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII y que se incorpora por referencia en su totalidad.

Campo de la invención

- 10 La invención aquí descrita proporciona composiciones que comprenden proteínas de unión a antígenos anti-BCMA y procedimientos relacionados para el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por la BCMA.

Antecedentes de la invención

- 15 El BCMA (CD269 o TNFRSF17) es un miembro de la superfamilia de receptores de TNF. Es un receptor de membrana integral no glicosilado para los ligandos BAFF y APRIL. Los ligandos de la BCMA también pueden unir receptores adicionales: TACI (Activad o de Transmembrana y Modulad o de Calcio e Interact o del ligando de ciclofilina), que se une a APRIL y BAFF; así como BAFF-R (Receptor de BAFF o BR3), que muestra una restringida pero alta afinidad por el BAFF. Juntos, estos receptores y sus correspondientes ligandos regulan diferentes aspectos de la inmunidad humoral, el desarrollo de las células B y la homeostasis.
- 20
- 25 La expresión de la BCMA se limita normalmente al linaje de las células B y se informa de que aumenta la diferenciación de las células B terminales. El BCMA lo expresan blastos de plasma humano, células plasmáticas de las amígdalas, el bazo y la médula ósea, pero también células B de memoria amigdalina y por células B de centro germinal, que tienen un fenotipo bajo de TACI-BAFFR (Darce *et al.* , 2007). El BCMA está prácticamente ausente en las células B-25 ingenuas y de memoria (Novak et al., 2004a y b). El antígeno de BCMA se expresa en la superficie de la célula, por lo que es accesible al anticuerpo, pero también se expresa en el Golgi. Como sugiere su perfil de expresión, la señalización del BCMA, normalmente vinculada a la supervivencia y la proliferación de las células B, es importante en las últimas etapas de la diferenciación de las células B, así como la
- 30
- 35 supervivencia de las células plasmáticas de la médula ósea de larga vida (O'Conn o y *otros*,

2004) y los plasmablastos (Avery y otros, 2003). Además, como la BCMA se une a APRIL con gran afinidad, se sugiere que el eje de señalización BCMA-APRIL predomina en las últimas etapas de la diferenciación de las células B, siendo tal vez la interacción fisiológicamente más importante.

5

Se ha informado que la expresión de la BCMA (tanto la transcripción como la proteína) se correlaciona con la progresión de la enfermedad en varios trastornos de las células B, incluidos los cánceres de células B como el mieloma múltiple (MM). El MM es una malignidad clonal de células B que se produce en múltiples sitios dentro de la médula ósea antes de propagarse a la circulación; ya sea de novo o como una progresión de una gammapatía monoclonal de importancia indeterminada (MGUS). Se caracteriza comúnmente por el aumento de la actividad de las paraproteínas y los osteoclastas, así como por la hipercalcemia, la citopenia, la disfunción renal, la hiperviscosidad y la neuropatía periférica. También son comunes las disminuciones tanto de los niveles normales de anticuerpos como del número de neutrófilos, lo que lleva a una susceptibilidad a la infección que pone en peligro la vida. El BCMA ha estado implicado en el crecimiento y la supervivencia de las líneas celulares de mieloma in vitro (Novak y otros, 2004 y Moreaux y otros, 2004).

20 **Resumen de la invención**

Una composición que comprende una variante isomerizada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante isomerizada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 25 % de variante isomerizada.

Una composición que comprende una variante oxidada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 40 % de variante oxidada.

35

Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en donde la composición es 0,1-25 % de isomerización en D103 en el CDRH3.

Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en donde la composición es 0,1-40 % de oxidación a M34 en el CDRH1.

Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA que es por lo menos aproximadamente 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y a la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en donde la composición comprende una isomerización del 0,1-25 % en D103 en CDRH3.

Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA que es al menos aproximadamente 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y a la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en donde la composición comprende una oxidación de 0,1-40 % en M34 CDRH1.

Una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármacoanti-BCMA (ADC), en la que el porcentaje de DL2 es por lo menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %; el porcentaje de DL4a es por lo menos aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 % a aproximadamente 38 % o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %; el porcentaje de DL4b es al menos un 5 %, un 7 % a un 9 % o un 5 % a un 10 %; el porcentaje de DL6 es al menos un 10 %, un 14 % a un 20 % o un 10 % a un 20 %; y/o el porcentaje de DL8 es al menos un 1 %, un 6 %, 0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

Una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármacoanti-BCMA (ADC), donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a cerca del 10 % o cerca del 5 %.

Breve descripción de los dibujos

5

La FIG. 1 muestra una representación esquemática de una mezcla heterogénea de especies de DL dentro de una composición de ADC.

10

La Fig. 2 muestra una caracterización representativa de los picos de HIC para determinar la distribución de DAR en una composición de ADC.

La FIG. 3 demuestra el impacto de un promedio de DAR de una composición de ADC en el volumen del tumor en un modelo de xenoinjerto.

15

La FIG. 4 muestra un electroferograma cIEF representativo para el belantamab.

Descripción detallada de la invención

20

La invención aquí descrita proporciona composiciones que comprenden proteínas de unión al antígeno anti-BCMA y procedimientos relacionados para el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por la BCMA. Se entenderá que una composición que comprende anticuerpos anti-BCMA, como se describe aquí, también puede ser referida como una población de anticuerpos anti-BCMA como se describe aquí: las frases son intercambiables.

25

Proteínas de unión a antígenos anti-BCMA

30

Una proteína de unión al antígeno anti-BCMA en las composiciones aquí descritas puede ser útil en el tratamiento o la prevención de varias enfermedades mediadas por la BCMA, incluyendo, por ejemplo, los cánceres mediados por células B como los linfomas y el mieloma múltiple. Una proteína de unión a antígenos anti-BCMA descrita aquí puede unirse a la BCMA humana, por ejemplo, BCMA humana que contiene la secuencia de aminoácidos del número de adhesión al banco de genes Q02223,2 o los genes que codifican la BCMA humana que tienen al menos un 90 por ciento de homología o al menos un 90 por ciento de identidad en ella.

35

El término "proteína de unión a antígenos", tal como se usa en este documento, se refiere a los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y otras construcciones de proteínas que son capaces de unirse a la BCMA, por ejemplo, la BCMA humana. Una proteína de unión al antígeno de la presente invención puede comprender regiones variables de cadena pesada y regiones variables de cadena ligera de la invención que pueden ser formateadas en la estructura de un anticuerpo natural o fragmento funcional o equivalente del mismo. por consiguiente, una proteína de unión a antígenos de la invención puede comprender las regiones VH de la invención formateada en un anticuerpo de longitud completa, un fragmento (Fab')₂, un fragmento Fab o su equivalente (como scFV, bi-tri o tetra-cuerpos, Tandabs, etc.), cuando se combina con una cadena ligera apropiada. Un anticuerpo puede ser un IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4; o IgM; IgA, IgE o IgD o una variante modificada de los mismos. El dominio constante de una cadena pesada de anticuerpos puede seleccionarse en consecuencia. El dominio constante de la cadena ligera puede ser un dominio constante kappa o lambda. Además, una proteína de unión al antígeno puede comprender modificaciones de todas las clases, *por ejemplo*, dímeros de IgG, mutantes Fc que ya no se unen a los receptores Fc o que median la unión C1q. Una proteína de unión al antígeno también puede ser un anticuerpo quimérico del tipo descrito en el documento WO86/01533, que comprende una región de unión al antígeno y una región no inmunoglobulina.

En otro aspecto de la invención, una proteína de unión a antígenos puede ser un dAb, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, dicuerpo, tricuerpo, tetracuerpo, minianticuerpo o un minicuerpo. En un aspecto de la presente invención, una proteína de unión a un antígeno puede ser un anticuerpo completamente humano, humanizado o quimérico. En otro aspecto, una proteína de unión a un antígeno es un anticuerpo humanizado. En un aspecto de la invención, una proteína de unión a antígenos es un anticuerpo monoclonal

Los receptores de antígenos quiméricos (RCA) se han desarrollado como receptores artificiales de células T para generar nuevas especificidades en las células T sin necesidad de unirse a los complejos peptídicos antigénicos del CMH. Estos receptores sintéticos pueden contener un dominio de enlace objetivo que se asocia a uno o más dominios de señalización a través de un enlazad o flexible en una sola molécula de fusión. El dominio de unión de objetivos puede usarse para dirigir la célula T a objetivos específicos en la superficie de las células patológicas y los dominios de señalización contienen maquinaria molecular para la activación y proliferación de las células T. El enlazad o flexible que pasa a través de la membrana de la célula T (es decir, formando un dominio transmembrana)

- puede permitir que la membrana celular muestre el dominio de unión al objetivo de la RCA. Las CAR pueden permitir con éxito que las células T se redirijan contra los antígenos expresados en la superficie de las células tumorales de varias neoplasias malignas, incluidos los linfomas y los tumores sólidos (Jena *et al.* , 2010, Blood, 116(7):1035-44). En
- 5 un aspecto de la invención, una proteína de unión a antígenos anti-BCMA puede comprender un receptor de antígenos quiméricos. En otro aspecto, la CAR puede comprender un dominio de unión, un dominio transmembrana y un dominio efecto intracelular.
- 10 En la publicación internacional N° WO2012/163805, que se incorpora por referencia en el presente documento en su totalidad, se dan ejemplos de proteínas de unión a antígenos anti-BCMA y de procedimientos de fabricación de las mismas. Otras proteínas a modo de ejemplo de unión a antígenos anti-BCMA incluyen las descritas en los documentos
- 15 WO2016/014789, WO2016/090320, WO2016/090327, WO2016/020332, WO2016/079177, WO2014/122143, WO2014/122144, WO2017/021450, WO2016/014565, WO2014/068079, WO2015/166649, WO2015/158671, WO2015/052536, WO2014/140248, WO2013/072415, WO2013/072406, WO2014/089335, US2017/165373, WO2013/154760 y WO2017/051068, cada uno de los cuales se incorpora por referencia en este documento en su totalidad.
- 20 En otra realización, una proteína de unión a antígenos anti-BCMA descrita aquí puede inhibir la unión de BAFF y/o APRIL al receptor de BCMA. En otra realización, una proteína de unión a antígenos anti-BCMA descrita aquí puede ser capaz de unirse a los FcR3A o es capaz de la función de efecto mediada por los FcR3A.
- 25 En una realización, una proteína de unión a antígenos anti-BCMA comprende un anticuerpo ("anticuerpo anti-BCMA"). En otra realización, una proteína de unión a antígenos anti-BCMA comprende un anticuerpo monoclonal. El término "anticuerpo", tal como se usa en este documento, se refiere a las moléculas con un dominio similar al de la
- 30 inmunoglobulina (por ejemplo, IgG, IgM, IgA, IgD o IgE) y puede incluir moléculas monoclonales, recombinantes, policlonales, quiméricas, humanas y humanizadas de este tipo. Los anticuerpos monoclonales pueden ser producidos por un clon de célula eucariótica o una célula cercana procariótica que exprese un anticuerpo. Los anticuerpos monoclonales también pueden ser producidos por una línea de células eucarióticas que
- 35 puede expresar recombinantemente la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo,

en virtud de tener secuencias de ácido nucleico que codifican estos introducidos en la célula. Los procedimientos a modo de ejemplo para producir anticuerpos de diferentes líneas celulares eucarióticas, como las células de ovario de hámster chino, los hibridomas o las células de anticuerpos inmortalizados derivados de un animal (p o ejemplo, humano) son bien conocidos por los expertos en la materia.

Un anticuerpo puede derivarse, por ejemplo, de una rata, un ratón, un primate (p o ejemplo, cynomolgus, un mono del Viejo Mundo o un gran simio), un humano u otras fuentes como los ácidos nucleicos generados mediante técnicas de biología molecular conocidas por los expertos en la materia que codifican una molécula de anticuerpo.

Un anticuerpo puede comprender una región constante, que puede ser de cualquier isotipo o subclase. La región constante puede ser del isotipo IgG, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 o sus variantes.

Una proteína de unión a un antígeno puede comprender una o más modificaciones, incluyendo, por ejemplo, un dominio constante mutado de tal manera que, cuando la proteína de unión a un antígeno es un anticuerpo, el anticuerpo tiene funciones efectoras mejoradas/ADCC y/o activación del complemento.

En una realización, un anticuerpo anti-BCMA ha aumentado la función del efecto de la actividad citotóxica mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC). El término "función efector" tal como se usa aquí se refiere a una o más de las respuestas mediadas por la actividad citotóxica dependiente de anticuerpos (ADCC), la actividad citotóxica dependiente del complemento (CDC), la fagocitosis mediada por Fc y/o el reciclaje de anticuerpos a través del receptor FcRn. En el caso de los anticuerpos IgG, las funcionalidades efectoriales pueden incluir ADCC y ADCP pueden estar mediadas por la interacción de la región constante de la cadena pesada con una familia de receptores Fcgamma presentes en la superficie de las células inmunes. En los seres humanos, estos pueden incluir FcgammaRI (CD64), FcgammaRII (CD32) y FcgammaRIII (CD16). La interacción entre una proteína de unión al antígeno y la formación del complejo Fc/Fcgamma puede inducir una serie de efectos, como la citotoxicidad, la activación de las células inmunitarias, la fagocitosis y/o la liberación de citoquinas inflamatorias.

En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA puede inhibir la unión del BAFF y/o APRIL al receptor de BCMA. En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA puede ser capaz de unirse al FcRIIIA o puede ser capaz de funcionar como un efecto mediado por el FcRIIIA.

- 5 En una realización, la composición comprende un anticuerpo anti-BCMA compuesto por dos cadenas pesadas de inmunoglobulina (Ig) ("HC") y dos cadenas ligeras de Ig ("LC"). La unidad estructural básica del anticuerpo puede comprender, por ejemplo, un tetrámero de subunidades. Cada tetrámero puede incluir dos pares de cadenas polipeptídicas, cada par tiene una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kDa) y una cadena
- 10 "pesada" (aproximadamente 50-70 kDa). La porción amino terminal de cada cadena puede incluir una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos, principalmente responsables del reconocimiento de los antígenos. Esta región variable puede expresarse inicialmente vinculada a un péptido de señal escindible. La región variable sin el péptido de señal puede denominarse región variable madura. Así, en un
- 15 ejemplo, una región variable madura de cadena ligera puede comprender una región variable de cadena ligera sin el péptido señal de cadena ligera. La porción carboxílica terminal de cada cadena puede definir una región constante. La región constante de la cadena pesada puede ser la principal responsable de la función efectorial.
- 20 Las regiones variables maduras de cada par de cadenas ligeras/pesadas pueden formar el sitio de unión de los anticuerpos (también conocido como el sitio de unión del antígeno). "Sitio de unión al antígeno" se refiere a un sitio en un anticuerpo que es capaz de unirse específicamente a un antígeno, este puede ser un dominio de una sola variable o puede estar emparejado con dominios VH/VL como se puede encontrar en un anticuerpo
- 25 estándar. Así, un anticuerpo intacto puede tener, por ejemplo, dos sitios de unión. Excepto en los anticuerpos bifuncionales o bispecíficos, los dos sitios de unión pueden ser los mismos. Todas las cadenas pueden presentar la misma estructura general de regiones marco relativamente conservadas (FR) unidas por tres regiones hipervariables, también llamadas regiones determinantes de la complementariedad o "CDR". Los CDR de las dos
- 30 cadenas de cada par pueden estar alineados por las regiones marco, lo que permite la unión a un epítipo específico. Así, en un ejemplo, de extremo N al extremo C, tanto las cadenas ligeras como las pesadas comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4.

Los "CDR" se definen como la región determinante de la complementariedad de las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo. Son las regiones hipervariables de las cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina. Hay tres CDR de cadena pesada y tres de cadena ligera (o regiones CDR) en la porción variable de una inmunoglobulina. por lo tanto, "CDR" como se usa aquí se refiere a los tres CDR de cadena pesada, los tres CDR de cadena ligera, todos los CDR de cadena pesada y ligera o al menos dos CDR. En una realización, una composición comprende un anticuerpo anti-BCMA que comprende uno o más CDR's según la invención aquí descrita o uno o ambos de los dominios variables de cadena pesada o ligera según la invención aquí descrita.

Los términos "variante", "variante de anticuerpo", "variante CDR" y "variante de modificación post-traducción" se refieren al menos a un cambio de aminoácidos en una secuencia de anticuerpos. Las variantes pueden ser el resultado de una modificación post-traducción, un cambio químico o un cambio de secuencia mediante al menos una delección, sustitución o adición. Algunas modificaciones postraduccionales dan lugar a un cambio químico que no cambia la secuencia (p o ejemplo, Met y Met oxidado; o Asp e isomerizado/iso-Asp; o agregación), mientras que otras dan lugar a un cambio de secuencia como la conversión de un residuo de aminoácido en otro (p o ejemplo, la conversión de Asn en Asp mediante la desamidación; o la delección de lisina). A continuación se describen otras variantes de modificación posteriores a la traducción. Una variante de la secuencia de anticuerpos que comprende un cambio de secuencia puede ser el resultado de un cambio de secuencia diseñado o de una modificación posterior a la traducción. Un cambio de secuencia de aminoácidos puede ser una delección, sustitución o adición.

En una realización de este tipo, las sustituciones son sustituciones conservadoras. En una realización alternativa, una variante de anticuerpo comprende al menos una sustitución mientras que mantiene la canónica de la proteína de unión al antígeno. En una realización, una variante de anticuerpo es un anticuerpo que es al menos un 80 %, 85 %, 90 % o 95 % idéntico (es decir, tiene identidad de secuencia) a la secuencia primaria del anticuerpo. En otra realización, una variante de anticuerpo comprende un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9 y/o una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %,

aproximadamente 90 % o aproximadamente 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10.

Las proteínas de unión a antígenos de la presente invención pueden tener modificaciones
 5 de aminoácidos que aumentan la afinidad del dominio constante o del fragmento del mismo por el FcRn. Aumentar la vida media (es decir, *la vida* media del suero) de los anticuerpos IgG terapéuticos y de diagnóstico y otras moléculas bioactivas tiene muchos beneficios, incluyendo la reducción de la cantidad y/o frecuencia de la dosificación de estas moléculas. En una realización, una proteína de unión a antígenos de la invención comprende todo o
 10 una porción (una porción de unión FcRn) de un dominio constante de IgG que tiene una o más de las siguientes modificaciones de aminoácidos.

P o ejemplo, con referencia a las mutaciones IgG1, M252Y/S254T/T256E (comúnmente conocidas como mutaciones "YTE") y M428L/N434S (comúnmente conocidas como
 15 mutaciones "LS") aumentan la unión de FcRn a un pH de 6,0 (Wang *et al.* 2018).

La vida media también puede ser mejorada por las mutaciones T250Q/M428L, V259I/V308F/M428L, N434A, y T307A/E380A/N434A (con referencia a la numeración IgG1 y Kabat) (Monnet *et al.*).
 20

La vida media y la unión FcRn también pueden ampliarse mediante la introducción de las mutaciones H433K y N434F (comúnmente denominadas mutaciones "HN" o "NHance") (con referencia a la IgG1) (WO2006/130834).

25 El documento WO00/42072 revela un polipéptido que comprende una región variante Fc con afinidad de unión FcRn alterada, cuyo polipéptido comprende una modificación de aminoácidos en una o más de las posiciones de aminoácidos 238, 252, 253, 254, 255, 256, 265, 272, 286, 288, 303, 305, 307, 309, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 386, 388, 400, 413, 415, 424, 433, 434, 435, 436, 439 y 447 de la región Fc (numeración
 30 de índice de la UE).

El documento WO02/060919 revela una IgG modificada que comprende un dominio constante de IgG que comprende una o más modificaciones de aminoácidos en relación con un dominio constante de IgG de tipo silvestre, en el que la IgG modificada tiene una
 35 vida media mayor o en comparación con la vida media de una IgG que tiene el dominio

constante de IgG de tipo silvestre, y en el que una o más modificaciones de aminoácidos se encuentran en una o más de las posiciones 251, 253, 255, 285-290, 308-314, 385-389, y 428-435.

- 5 Shields y *otros* (2001, J Biol Chem; 276:6591-604) usaron la mutagénesis de exploración de alanina para alterar los residuos en la región Fc de un anticuerpo IgG1 humano y luego evaluaron la unión a FcRn humano. Las posiciones que efectivamente abrogó la unión a FcRn cuando se cambió a alanina incluyen I253, S254, H435, y Y436. Otras posiciones mostraron una reducción menos pronunciada de la unión como la siguiente: E233-G236,
 10 R255, K288, L309, S415, y H433. Varias posiciones de aminoácidos mostraron una mejora en la unión del FcRn cuando se cambió a alanina; entre ellas destacan P238, T256, E272, V305, T307, Q311, D312, K317, D376, E380, E382, S424, y N434. Muchas otras posiciones de aminoácidos mostraron una ligera mejora (D265, N286, V303, K360, Q362, y A378) o ningún cambio (S239, K246, K248, D249, M252, E258, T260, S267, H268, S269,
 15 D270, K274, N276, Y278, D280, V282, E283, H285, T289, K290, R292, E293, E294, Q295, Y296, N297, S298, R301, N315, E318, K320, K322, S324, K326, A327, P329, P331, E333, K334, T335, S337, K338, K340, Q342, R344, E345, Q345, Q347, R356, M358, T359, K360, N361, Y373, S375, S383, N384, Q386, E388, N389, N390, K392, L398, S400, D401, K414, R416, Q418, Q419, N421, V422, E430, T437, K439, S440, S442, S444, y K447) en la unión
 20 FcRn.

El efecto más pronunciado con respecto a la mejora de la unión del FcRn se encontró en las variantes de combinación. A un pH de 6,0, la variante E380A/N434A mostró una unión 8 veces mej o a FcRn, en relación con la IgG1 nativa, en comparación con la doble para
 25 E380A y la triple para N434A. Añadiendo T307A a esto, se obtuvo una mejora de 12 veces en la unión con respecto a la IgG1 nativa. En una realización, la proteína de unión al antígeno de la invención comprende las mutaciones E380A/N434A y ha aumentado la unión a FcRn.

- 30 Dall'Acqua y *otros* (2002, J Immunol.;169:5171-80) describen la mutagénesis aleatoria y la detección de bibliotecas de visualización de fagos de fragmentos de IgG1 humana contra FcRn de ratón. Revelaron mutagénesis aleatoria de las posiciones 251, 252, 254-256, 308, 309, 311, 312, 314, 385-387, 389, 428, 433, 434 y 436. Las principales mejoras en la estabilidad del complejo FcRn IgG1-humano se producen cuando se sustituyen los
 35 residuos situados en una banda a través de la interfaz Fc-FcRn (M252, S254, T256, H433,

N434, y Y436) y, en menor medida, las sustituciones de residuos en la periferia, como V308, L309, Q311, G385, Q386, P387, y N389. La variante con mayor afinidad con el FcRn humano se obtuvo combinando las mutaciones M252Y/S254T/T256E ("YTE") y H433K/N434F/Y436H y mostró un aumento de 57 veces en la afinidad en relación con la IgG1 de tipo silvestre. El comportamiento in vivo de tal mutación de la IgG1 humana exhibió un aumento de casi 4 veces en la vida media del suero en el mono cynomolgus en comparación con la IgG1 de tipo silvestre.

Por lo tanto, la presente invención proporciona una proteína de unión a antígenos con unión optimizada a FcRn. En una realización preferida, la proteína de unión al antígeno comprende al menos una modificación de aminoácidos en la región Fc de dicha proteína de unión al antígeno, donde dicha modificación está en una posición de aminoácido seleccionada del grupo que consiste en 226, 227, 228, 230, 231, 233, 234, 239, 241, 243, 246, 250, 252, 256, 259, 264, 265, 267, 269, 270, 276, 284, 285, 288, 289, 290, 291, 292, 294, 297, 298, 299, 301, 302, 303, 305, 307, 308, 309, 311, 315, 317, 320, 322, 325, 327, 330, 332, 334, 335, 338, 340, 342, 343, 345, 347, 350, 352, 354, 355, 356, 359, 360, 361, 362, 369, 370, 371, 375, 378, 380, 382, 384, 385, 386, 387, 389, 390, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 403, 404, 408, 411, 412, 414, 415, 416, 418, 419, 420, 421, 422, 424, 426, 428, 433, 434, 438, 439, 440, 443, 444, 445, 446 y 447 de la región Fc.

Además, en varias publicaciones se describen procedimientos para obtener moléculas fisiológicamente activas con semividas modificadas, ya sea mediante la introducción de un polipéptido de unión FcRn en las moléculas (WO97/43316, US5869046, US5747035, WO96/32478 y WO91/14438) o fusionando las moléculas con anticuerpos cuyas afinidades de unión a FcRn se conservan, pero las afinidades con otros receptores Fc se han reducido mucho (WO99/43713) o fusionando con dominios de unión a FcRn de anticuerpos (WO00/09560, US4703039).

La afinidad del FcRn aumentó las variantes del Fc para mejorar tanto la citotoxicidad de los anticuerpos como la vida media se identificaron en las pruebas a pH 6,0. Las variantes IgG seleccionadas pueden ser producidas como moléculas de baja fucosilación. Las variantes resultantes muestran una mayor persistencia sérica en los ratones hFcRn, así como un ADCC mejorado conservado (Monnet et al.) Entre las variantes a modo de ejemplo se incluyen (con referencia a la numeración de IgG1 y Kabat):

P230T/V303A/K322R/N389T/F404L/N434S;

P228R/N434S;
 Q311R/K334R/Q342E/N434Y;
 C226G/Q386R/N434Y;
 T307P/N389T/N434Y;
 5 P230S/N434S;
 P230T/V305A/T307A/A378V/L398P/N434S;
 P230T/P387S/N434S;
 P230Q/E269D/N434S;
 N276S/A378V/N434S;
 10 T307A/N315D/A330V/382V/N389T/N434Y;
 T256N/A378V/S383N/N434Y;
 N315D/A330V/N361D/A387V/N434Y;
 V259I/N315D/M428L/N434Y;
 P230S/N315D/M428L/N434Y;
 15 F241L/V264E/T307P/A378V/H433R;
 T250A/N389K/N434Y;
 V305A/N315D/A330V/P395A/N434Y;
 V264E/Q386R/P396L/N434S/K439R;
 E294del/T307P/N434Y (donde 'del' indica una delección).

20

La presente invención también proporciona un procedimiento para la producción de una proteína de unión al antígeno según la invención que comprende los pasos de: a) cultivo de una célula huésped recombinante que comprende un vector de expresión que comprende el ácido nucleico aislado como se describe en el presente documento, en el

25 que el gen FUT8 que codifica la alfa-1,6-fucosiltransferasa ha sido inactivado en la célula huésped recombinante; y b) recuperación de la proteína de unión al antígeno. Esos procedimientos de producción de proteínas de unión a antígenos pueden realizarse, por ejemplo, usando el sistema de tecnología POTELLIGENT disponible en BioWa, Inc. (Princeton, NJ) en el que las células CHOK1SV que carecen de una copia funcional del

30 gen FUT8 producen anticuerpos monoclonales que tienen una mayor actividad de citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) que se incrementa en relación con un anticuerpo monoclonal idéntico producido en una célula con un gen FUT8 funcional. Los aspectos del sistema de tecnología POTELLIGENT se describen en los documentos US7214775, US6946292, WO0061739 y WO0231240, todos los cuales se

35 incorporan aquí por referencia. Los expertos en la técnica también reconocerán otros

sistemas y procedimientos apropiados para generar proteínas de unión a antígenos, como los anticuerpos.

Un anticuerpo puede recuperarse y purificarse mediante procedimientos convencionales de purificación de proteínas. por ejemplo, el anticuerpo puede ser cosechado directamente del medio de cultivo. La cosecha del medio de cultivo celular puede realizarse mediante clarificación, por ejemplo mediante centrifugación y/o filtración en profundidad. La recuperación del anticuerpo va seguida de la purificación para garantizar una pureza adecuada. por lo tanto, en un aspecto, se proporciona un medio de cultivo celular que comprende un anticuerpo descrito en este documento. En una realización, el medio de cultivo celular comprende células CHO.

El anticuerpo puede ser posteriormente purificado del medio de cultivo celular. Esto puede incluir la recolección del sobrenadante del cultivo celular, la colocación del sobrenadante del cultivo celular en contacto con un medio de purificación (p o ejemplo, resina de la proteína A o resina de la proteína G para unir las moléculas de anticuerpos) y la elución de las moléculas de anticuerpos del medio de purificación para producir un eluido. por lo tanto, en un aspecto, se proporciona un eluato que comprende un anticuerpo descrito aquí.

En la purificación se pueden usar uno o más pasos de cromatografía, por ejemplo, una o más resinas de cromatografía; y/o uno o más pasos de filtración. por ejemplo, la cromatografía de afinidad que usa resinas, como la proteína A, G o L, puede usarse para purificar la composición. Alternativamente o además, se puede usar una resina de intercambio iónico, como un intercambio catiónico, para purificar la composición.

Alternativamente, los pasos de purificación comprenden: un paso de resina de cromatografía de afinidad, seguido de un paso de resina de intercambio catiónico.

En una realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena pesada CDR1 ("CDRH1") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1. En una realización, una región variable de cadena pesada CDR1 ("CDRH1") comprende una secuencia de aminoácidos con una variación de aminoácidos ("variante") a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1.

En una realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena pesada CDR2 ("CDRH2") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2.

5 En una realización, una región variable de cadena pesada CDR2 ("CDRH2") comprende una secuencia de aminoácidos con una variación de aminoácidos ("variante") a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2.

En una realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena pesada CDR3 ("CDRH3") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3.

10 En una realización, una región variable de cadena pesada CDR3 ("CDRH3") comprende una secuencia de aminoácidos con una variación de aminoácidos ("variante") a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3.

15

En una realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena ligera CDR1 ("CDRL1") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4.

20 En una realización, una región variable de cadena ligera CDL1 ("CDR1") comprende una secuencia de aminoácidos con una variación de aminoácidos ("variante") a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4.

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena ligera CDR2 ("CDRL2") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5.

25 En una realización, una variable de cadena ligera región CDL2 ("CDR2") comprende una secuencia de aminoácidos con una variación de aminoácidos ("variante") a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5.

30

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena ligera CDR3 ("CDRL3") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100

35

% de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6. En una realización, una región variable de cadena ligera CDL3 ("CDR3") comprende una secuencia de aminoácidos con una variación de aminoácidos ("variante") a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6.

5

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende una CDRH1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1; una CDRH2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2; una CDRH3 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3; una CDRL1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4; una CDRL2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5; y/o una CDRL3 que comprenda una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6.

25

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena pesada ("VH") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7.

30

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende una región variable de cadena ligera ("VL") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8.

35

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7; y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8.

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende una región de la cadena pesada ("HC") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:9.

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende una región de cadena ligera ("LC") que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:10.

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende un HC que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:9; y un LC que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:10.

La "identidad porcentual" entre una secuencia de aminoácidos de consulta y una secuencia de aminoácidos objeto es el valor de "Identidades", expresado como porcentaje, que se calcula mediante el algoritmo BLASTP cuando una secuencia de aminoácidos objeto tiene una cobertura de consulta del 100 % con una secuencia de aminoácidos de consulta después de realizar una alineación BLASTP por pares. Estas alineaciones BLASTP por pares entre una secuencia de aminoácidos de consulta y un aminoácido objeto se realizan usando la configuración predeterminada del algoritmo BLASTP disponible en el sitio web del Instituto del Centro Nacional de Biotecnología con el filtro para regiones de baja complejidad desactivado. Es importante señalar que una secuencia de consulta puede ser descrita por una secuencia de aminoácidos identificada en una o más reivindicaciones de este documento.

En una realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1; una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2; una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3; una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4; una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5; y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6.

En una realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7; y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8.

En una realización, el anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab que comprende un HC con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:9, y un LC con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:10.

Las secuencias de anticuerpos pueden determinarse mediante el sistema de numeración de Kabat (Kabat *et al.* Sequences of proteins of Immunological Interest NIH, 1987). También pueden determinarse mediante el sistema de numeración de Chothia (Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948), el procedimiento de definición de contactos (MacCallum R.M., y Martin A.C.R. y Thornton J.M, (1996), Journal of Molecular Biology, 262 (5), 732-745) o cualquier otro procedimiento establecido para numerar los residuos en un anticuerpo y determinar los CDR conocidos por un experto en la materia. Otras convenciones de numeración de secuencias de anticuerpos a disposición de una persona experta incluyen los procedimientos "AbM" (Universidad de Bath) y "de contacto" (University College London). por último, las secuencias de anticuerpos pueden ser numeradas secuencialmente.

Cuando se hace referencia numérica a un aminoácido descrito en el presente documento, las secuencias pueden numerarse según el procedimiento Kabat o el procedimiento de numeración secuencial. A menos que se indique expresamente lo contrario, la referencia numérica a un número de aminoácido específico se describe aquí con el sistema de numeración secuencial. A lo largo de esta especificación, los términos "CDR", "CDRL1", "CDRL2", "CDRL3", "CDRH1", "CDRH2", "CDRH3" siguen la numeración Kabat. Los residuos de aminoácidos en las secuencias de regiones variables y secuencias de anticuerpos de longitud completa se numeran secuencialmente para denotar cualquier

posición de variante de secuencia de anticuerpos o posición de variante de modificación postraducciona, como una variante isomerizada (p o ejemplo, D103), una variante deamidada (p o ejemplo, N388) o una variante oxidada (*p o ejemplo*, M34).

- 5 La referencia a una posición en el CDR (*p o ejemplo*, M34 o D103) proporciona el número de posición en relación con toda la secuencia de anticuerpos (numeración secuencial). por lo tanto, se entenderá que M34 del CDRH1 se refiere al cuarto residuo de la SEQ ID NO: 1, es decir, como está subrayado: NYWMH (SEQ ID NO: 1). Igualmente, D103 del CDRH3 se refiere al quinto residuo de la SEQ ID NO: 3, es decir, como subrayado:
- 10 GAIYDGYDVLN (SEQ ID NO: 3).

- En un aspecto, una composición comprende una variante de anticuerpo que comprende un cambio en uno o más aminoácidos en la secuencia primaria. En un aspecto, una composición comprende un anticuerpo que es por lo menos aproximadamente 90 %
- 15 idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10 con un cambio de aminoácido de ácido aspártico (D) a asparagina (N), por ejemplo, D103N en el CDRH3 (es decir, D99N en la numeración de Kabat).

- 20 En otra realización, una composición comprende un anticuerpo compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos
- 25 establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, y comprende un cambio de aminoácidos de ácido aspártico (D) a asparagina (N), por *ej.* D103N en el CDRH3.

- En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab y comprende un
- 30 cambio de aminoácido de ácido aspártico (D) a asparagina (N), por *ejemplo*, D103N en CDRH3.

- En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a
- 35 la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente $\geq 5\%$, $\geq 10\%$

%, ≥ 15 %, ≥ 20 %, ≥ 25 %, ≥ 50 %, ≥ 75 % o ≥ 90 % del anticuerpo en la mezcla comprende D103N en CDRH3.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que
 5 comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de
 10 aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente ≥ 5 %, ≥ 10 %, ≥ 15 %, ≥ 20 %, ≥ 25 %, ≥ 50 %, ≥ 75 % o ≥ 90 % del anticuerpo en la mezcla comprende D103N en el CDRH3.

En una realización, una composición comprende el belantamab, en la que
 15 aproximadamente ≥ 5 %, ≥ 10 %, ≥ 15 %, ≥ 20 %, ≥ 25 %, ≥ 50 %, ≥ 75 % o ≥ 90 % del belantamab comprende D103N en el CDRH3.

En una realización, la composición comprende el belantamab que comprende al menos una variante de anticuerpo usando el sistema de numeración del Kabat seleccionado del
 20 grupo formado por G27Y, S30T, A93T, A24G, K73T, M48I, V67A, F71Y, D99N, M4L y K45E.

Productos de modificación post-traducción

25 Un "producto de modificación post-traducción" de un anticuerpo descrito en este documento es una composición de anticuerpos en la que toda o una parte de la composición comprende una "modificación post-traducción". Las modificaciones postraduccionales son cambios químicos del anticuerpo que pueden ser el resultado de la producción del anticuerpo en una célula huésped, de la fabricación en fases anteriores y
 30 posteriores y/o del almacenamiento (p o ejemplo, el efecto de la exposición a la luz, la temperatura, el pH, el agua o por reacción con un excipiente y/o el sistema de cierre inmediato del envase). por lo tanto, la composición de la invención puede formarse a partir de la fabricación o el almacenamiento del anticuerpo. Las modificaciones postraduccionales a modo de ejemplo comprenden cambios en la secuencia del anticuerpo
 35 ("variante del anticuerpo", como se ha descrito anteriormente), división de ciertas

secuencias de líderes, la adición de diversas variedades de azúcar en varios patrones de glicosilación, glicación no enzimática, desamidación oxidación, revoltijo del enlace de disulfuro y otras variantes de la cisteína como sulfhidrilos libres, disulfuro racemizado, tioéteres y enlaces de trisulfuro, isomerización, división de lisina en el extremo C y/o

5 ciclización de glutamina N-terminal.

En un ejemplo, un producto de modificación posterior a la traducción comprende una "impureza relacionada con el producto" que comprende un cambio químico que da lugar a una reducción de la función y/o la actividad. En otro ejemplo, un producto de modificación

10 posterior a la traducción comprende una "sustancia relacionada con el producto" que comprende un cambio químico que no da lugar a una reducción de la función y/o la actividad. Las impurezas relacionadas con el producto para los anticuerpos descritos en el presente documento incluyen variantes isomerizadas y variantes oxidadas. Las sustancias relacionadas con el producto para los anticuerpos aquí descritos incluyen variantes

15 desamortizadas, variantes de glicosilación, variantes de división en el extremo C y variantes de piroglutamato N-terminal.

En una realización, la composición comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:9, y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:10, que comprende una o más

20 modificaciones funcionales post-traducción de la misma. En otra realización, la composición comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:14, y una cadena ligera de SEQ ID NO:10, que comprende una o más modificaciones funcionales post-traducción de la misma.

25 La variante porcentual que se proporciona aquí se expresa como un porcentaje de la cantidad total de anticuerpos en la composición (*p o ejemplo*, una "población" de anticuerpos). por ejemplo, la variante oxidada en un 40 % o menos se refiere a una cantidad total de 100 % de anticuerpos en la composición de los cuales el 40 % o menos está oxidado. por ejemplo, variante isomerizada al 25 % o menos se refiere a una cantidad total

30 de 100 % de anticuerpos en cuya composición se isomeriza el 25 % o menos.

La glicación es una modificación postraducciona que comprende una reacción química no enzimática entre un azúcar reductor, como la glucosa, y un grupo de aminos libres en la proteína, y se observa normalmente en la épsilon amina de las cadenas laterales de la

lisina o en el N-Terminal de la proteína. La glicación puede ocurrir durante la producción y/o el almacenamiento en presencia de azúcares reductores.

La desamidación, que puede producirse, por ejemplo, durante la producción y/o el almacenamiento, puede ser una reacción enzimática o una reacción química. La desamidación puede producirse mediante una simple reacción química por medio de la ciclización intramolecular, en la que el nitrógeno amídico del siguiente aminoácido de la cadena nucleófila ataca a la amida (N+1 ataca a N); formando un intermedio succinimio. La desamidación puede convertir principalmente la asparagina (N) en ácido iso-aspartico (iso-aspartico) y ácido aspartico (aspartato) (D) en una proporción aproximada de 3:1. por consiguiente, esta reacción de desamidación puede estar relacionada con la isomerización del aspartato (D) en iso-aspartico. La desamidación de la asparagina y la isomerización del aspartato, ambas pueden implicar la succinimida intermedia. En mucho menor grado, la desamidación puede ocurrir con los residuos de glutamina de manera similar. La desamidación puede ocurrir en una CDR, en una Fab (región no CDR) o en una región Fc. La isomerización es la conversión del aspartato (D) en iso-aspartico que implica la succinimida intermedia.

La oxidación puede producirse durante la producción y/o el almacenamiento (es decir, en presencia de condiciones oxidantes) y da lugar a una modificación covalente de una proteína, inducida directamente por especies reactivas de oxígeno o indirectamente por reacción con subproductos secundarios del estrés oxidativo. La oxidación puede producirse principalmente con residuos de metionina, pero también puede ocurrir con residuos de triptófano y cisteína libre. La oxidación puede producirse en una región CDR, en una región Fab (no CDR) o en una región Fc.

La alteración del enlace de disulfuro puede ocurrir durante las condiciones de producción y/o de almacenamiento. En determinadas circunstancias, los enlaces de disulfuro pueden romperse o formarse incorrectamente, lo que da lugar a residuos de cisteína no apareados (-SH). Estos sulfhidrilos libres (no apareados) (-SH) pueden promover los intercambios.

La formación de un tioéter y la racemización de un enlace de disulfuro pueden producirse en condiciones básicas, en la producción o el almacenamiento, mediante una eliminación beta de los puentes de di-sulfuro de vuelta a los residuos de cisteína a través de un intermedio de dehidroalanina y persulfuro. La reticulación posterior de la dehidroalanina y

la cisteína puede dar lugar a la formación de un enlace tioéter o los residuos de cisteína libre pueden reformar un enlace de disulfuro con una mezcla de D- y L-cisteína.

5 Los trisulfuros pueden resultar de la inserción de un átomo de azufre en un enlace disulfuro (Cys-S-S-S-Cys) y pueden formarse debido a la presencia de sulfuro de hidrógeno en el cultivo de la célula de producción.

10 La glutamina N-terminal (Q) y el glutamato (ácido glutámico) (E) en la cadena pesada y/o la cadena ligera pueden formar piroglutamato (pGlu) por medio de la ciclización. La formación de pGlu puede formarse en el biorreactor o de producción, pero también puede formarse, por ejemplo, de forma no enzimática, dependiendo del pH y la temperatura de las condiciones de procesamiento y almacenamiento. La ciclización de la N-terminal Q o E se observa comúnmente en los anticuerpos humanos naturales.

15 La división de la lisina en el extremo C es una reacción enzimática catalizada por las carboxipeptidasas, y se observa comúnmente en los anticuerpos humanos recombinantes y naturales. Entre las variantes de este proceso figura la eliminación de la lisina de una o ambas cadenas pesadas debido a las enzimas celulares de la célula huésped recombinante. Es probable que la administración al sujeto humano/paciente dé lugar a la
20 eliminación de cualquier lisina en el extremo C restante.

La presente invención abarca anticuerpos que pueden haber sido sometidos a o haber sufrido, uno o más de una modificación post-traduccion descrita aquí. Las composiciones a modo de ejemplo pueden comprender una mezcla o conjunto de anticuerpos: 1) con y
25 sin modificaciones post-traduccionales (1 o más) o 2) con más de un tipo de modificaciones post-traduccionales descritas aquí.

La composición puede comprender una mezcla de variantes de anticuerpos y variantes de modificación post-traduccion. por ejemplo, la composición de los anticuerpos puede
30 comprender una o más, como dos o más variantes de oxidación, variantes de desamidación, variantes isomerizadas, variantes de piroglutamato N-terminal, y variantes de lisina en el extremo C escindida.

Por ejemplo, en una realización, una composición puede comprender una mezcla de
35 anticuerpos, en la que el 10 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10, y el 90 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10 con un corte de lisina en el extremo C.

5 En otra realización a modo de ejemplo, una composición puede comprender una mezcla de anticuerpos, en la que el 10 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10, el 90 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10 con un corte de lisina en el extremo C, y de esa mezcla de 100 % de anticuerpos totales, hasta el 100 % de la glutamina N-terminal se cicliza a piroglutamato.

10

En otra realización a modo de ejemplo, una composición puede comprender una mezcla de anticuerpos, en la que el 10 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10, el 90 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10 con un corte de lisina en el extremo C, y de esa mezcla de 100 % de anticuerpos totales, hasta el 100 % es piroglutamato N-terminal y hasta el 23 % se isomeriza en D103 en CDRH3.

15

En otra realización a modo de ejemplo, una composición comprende una mezcla de anticuerpos, en la que el 20 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10, el 80 % del anticuerpo de la mezcla comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 9 y 10 con la variante N103 en CDRH3, y de esa mezcla de 100 % de anticuerpos totales, hasta el 37 % del anticuerpo se oxida en el aminoácido M34 CDRH1.

20

25 En una realización, una modificación posterior a la traducción que se describe en el presente documento no da lugar a un cambio significativo en la afinidad de la unión al antígeno, la actividad biológica, la farmacocinética (PK)/farmacodinámica (PD), la agregación, la inmunogenicidad, y/o la unión a un receptor Fc, excepto cuando se especifica y se describe como una impureza relacionada con el producto.

30

La "función" o "actividad" tal como se describe aquí se define como una o más de las siguientes: 1) unión a la BCMA, 2) unión a FcγRIIIa, y/o 3) unión a la FcRn. En una realización, "función reducida" o "actividad reducida" significa que la unión al BCMA, la unión a FcγRIIIa o la unión a FcRn se reduce en porcentaje en comparación con un estándar de referencia, y es significativa sobre la variabilidad del ensayo. por ejemplo, la

35

función o actividad reducida puede describirse como una reducción de $\geq 5\%$, $\geq 10\%$, $\geq 15\%$, $\geq 20\%$, $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 35\%$, $\geq 40\%$, $\geq 45\%$ o $\geq 50\%$.

5 En una realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende un anticuerpo que es al menos un 90 % idéntico a las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y SEQ ID NO:10 e incluye todas las modificaciones post-traducción, si las hubiera, del anticuerpo.

10 En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab y todas las modificaciones post-traducción si las hubiera.

15 Las variantes de los anticuerpos se observan comúnmente cuando la composición de los anticuerpos se analiza mediante técnicas de separación basadas en la carga, como la electroforesis en gel de enfoque isoelectrico (IEF), la electroforesis en gel de enfoque isoelectrico capilar (cIEF), la cromatografía de intercambio catiónico (CEX) y la cromatografía de intercambio aniónico (AEX).

20 Las modificaciones posteriores a la traducción pueden dar lugar a un aumento o disminución de la carga neta del anticuerpo y causar una disminución o un aumento del valor de pI, lo que da lugar a variantes ácidas y variantes básicas (denominadas colectivamente "variantes cargadas") con respecto a la isoforma principal. La isoforma principal es la población de anticuerpos que eluye como el pico principal en los cromatogramas. Las especies ácidas son variantes con menor pI aparente y las especies básicas son variantes con mayor pI aparente, cuando se analizan los anticuerpos con procedimientos basados en el IEF. Cuando se analizan mediante procedimientos basados en la cromatografía, las especies ácidas y las especies básicas se definen en función de sus tiempos de retención en relación con el pico principal. Las especies ácidas son las variantes que eluyen antes del pico principal de CEX o más tarde que el pico principal de AEX, mientras que las especies básicas son las variantes que eluyen más tarde que el pico principal de CEX o más temprano que el pico principal de AEX. Estos procedimientos separan la isoforma principal del anticuerpo de la isoforma ácida (variante ácida) y de la isoforma básica (variante básica). La variante cargada puede detectarse por diversos procedimientos, como la cromatografía de intercambio iónico, por ejemplo, la HPLC WCX-10 (una cromatografía de intercambio catiónico débil) o el IEF (enfoque isoelectrico). La variante con carga porcentual puede determinarse mediante el enfoque isoelectrico capilar (cIEF). El enfoque isoelectrico capilar (cIEF) se usó para medir el pI del dostarlimab y las

35

variantes de carga separadas (véase la figura 1). El procedimiento puede usarse para cuantificar las especies ácidas y básicas como porcentaje del pico del área total. Los términos "especie", "isoforma", "forma" y "pico" se usan indistintamente para referirse a la isoforma principal y a la variante cargada (variante ácida y variante básica).

5

En una realización, la composición comprende una variante ácida del anticuerpo, en la que la variante ácida comprende una CDRH1 de la SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de la SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de la SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de la SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de la SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de la SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende una variante ácida del 1 al 70 %.

En un aspecto, la composición comprende la variante ácida del ≤ 70 %. En un aspecto, la composición comprende la variante ácida del ≤ 60 %, ≤ 50 %, ≤ 40 %, ≤ 30 % o el 10 %. Alternativamente, la composición comprende 10-70 %, 10-60 %, 10-50 %, 10-40 %, 10-35 % o 10-30 % de variante ácida. Alternativamente, la composición comprende 20-70 %, 20-60 %, 20-50 %, 20-40 %, 20-35 % o 20-30 % de variante ácida. Alternativamente, la composición comprende aproximadamente 60 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 25 % o aproximadamente 20 % de la variante ácida.

En un aspecto, la composición comprende una variante básica del anticuerpo, en la que la variante básica comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende una variante básica del 1 al 30 %.

En un aspecto, la composición comprende ≤ 30 % de variante básica. En una realización, la composición comprende ≤ 25 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, $\leq 7,5$ % o ≤ 5 % variante básica. En una realización, la composición comprende 1-30 %, 1-25 %, 1-20 %, 1-15 %, 1-10 % o 1-5 % variante básica. Alternativamente, la composición comprende aproximadamente 15 %, aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 % de variante básica.

En un aspecto, la composición comprende una isoforma principal del anticuerpo, donde la isoforma principal comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende un 1-90 % de la isoforma principal.

En un aspecto, la composición comprende ≥ 1 % de la isoforma principal. En un aspecto, la composición comprende ≥ 5 %, ≥ 10 %, ≥ 20 %, ≥ 30 %, ≥ 40 %, ≥ 50 %, ≥ 55 %, ≥ 60 %, ≥ 65 %, ≥ 70 %, ≥ 75 %, ≥ 80 % o ≥ 90 % de la isoforma principal. En una realización, la composición comprende 10-90 %, 20-90 %, 30-90 %, 40-90 %, 50-90 % o 60-90 % de la isoforma principal. En una realización, la composición comprende 10-80 %, 20-80 %, 30-80 %, 40-80 %, 50-80 % o 60-80 % de la isoforma principal. Alternativamente, la composición comprende aproximadamente 80 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 50 % o aproximadamente 55 % de la isoforma principal.

La variante porcentual ácida, la variante porcentual básica y la isoforma porcentual principal pueden determinarse mediante el enfoque isoeléctrico capilar (cIEF). Se entenderá que estas realizaciones de isoformas/variantes cargadas pueden combinarse con cualquiera de las variantes de anticuerpos aquí descritas o con una combinación de ellas.

En un aspecto, la composición comprende una variante cargada del anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada compuesta por una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende: ≤ 70 % de variante ácida; y/o ≤ 30 % de variante básica; y/o ≥ 1 % de isoforma principal.

En un aspecto, una composición comprende un anticuerpo que comprende una modificación de isomerización post-traduccion ("isomerización" o "isomerizado") o una "variante isomerizada". La variante puede comprender un residuo de aminoácido isomerizado en la secuencia de la cadena pesada y/o la secuencia de la cadena ligera,

- como una CDR de la secuencia de la cadena pesada y/o una CDR de la secuencia de la cadena ligera. La variante isomerizada puede estar presente en una o ambas cadenas de la cadena pesada o la cadena ligera. Una modificación de la isomerización posterior a la traducción da lugar a un iso-aspartico y/o un succinimido-aspartico. En un ejemplo, la isomerización del ácido aspártico (Asp) puede determinarse usando la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS) como se describe en el presente documento. Se entenderá que estas realizaciones de variantes isomerizadas pueden combinarse con las características de los anticuerpos aquí descritas.
- 5
- 10 En una realización, la composición comprende una variante isomerizada de un anticuerpo anti-BCMA, donde la variante isomerizada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 25 % de variante isomerizada.
- 15

En un aspecto, la composición comprende una población de anticuerpos anti-BCMA que incluye:

- 20 anticuerpos que comprenden una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 1 (CDRH1), SEQ ID NO: 2 (CDRH2), y SEQ ID NO: 3 (CDRH3) y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende SEQ ID NO: 4 (CDRL1), SEQ ID NO: 5 (CDRL2) y SEQ ID NO: 6 (CDRL3), y variantes isomerizadas de las mismas, en las que ≤ 25 % de la población de anticuerpos está compuesta por las variantes isomerizadas.
- 25

- En otra realización, la composición comprende una variante isomerizada de un anticuerpo anti-BCMA, donde la variante isomerizada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 25 % de variante isomerizada en el aminoácido D103 en el CDRH3.
- 30

En una realización, la composición comprende una variante isomerizada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante isomerizada comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9 y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10; en donde la composición comprende ≤ 25 % de variante isomerizada.

5

Alternativamente, la variante isomerizada comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 11, 12, 13 o 14.

10 En una realización, la composición comprende un anticuerpo que es al menos un 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, y comprende la isomerización en la secuencia de cadena pesada o en la secuencia de cadena ligera, por ejemplo, la isomerización en el aminoácido D103 en el CDRH3.

15 En otra realización, una composición comprende un anticuerpo compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, y la isomerización en al menos una de las seis regiones del CDR, por ej. isomerización en el aminoácido D103 en el CDRH3.

20

En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab y comprende la isomerización en la secuencia de cadena pesada o en la secuencia de cadena ligera, *por ejemplo*, la isomerización en el aminoácido D103 en el CDRH3.

25

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos aproximadamente 90 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente ≤ 25 %, ≤ 23 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, ≤ 70 %, ≤ 7 %, 0,1-25 %, 0,1-20 %, 0,1-15 %, 0,1-10 %, 0,1- ≥ 70 %, 0,1-7 %, 1-6 %, 2-6 %, 3-6 %, cerca del 4 % cerca del 5 % o cerca del 6 % del anticuerpo en la mezcla es isomerizado en el aminoácido D103 en CDRH3. En una realización, una composición que comprende ≤ 25 % o ≤ 23 % de

30

isomerización en D103 en el CDRH3 retiene un ≥ 70 % de enlace de antígenos específicos del BCMA.

5 En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente ≤ 25 %, ≤ 23 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, ≤ 70 %, ≤ 7 %, 0,1-25 %, 0,1-20 %, 0,1-15 %, 0,1-10 %, 0,1- ≥ 70 %, 0,1-7 %, 1-6 %, 2-6 %, 3-6 %, cerca del 4 % cerca del 5 % o cerca del 6 % del anticuerpo en la mezcla es isomerizado en el aminoácido D103 en el CDRH3. En una realización, una composición que comprende ≤ 25 % o ≤ 23 % de isomerización en D103 en el CDRH3
10
15 retiene un ≥ 70 % de enlace de antígenos específicos del BCMA.

En otra realización, una composición comprende el belantamab, en la que aproximadamente ≤ 25 %, ≤ 23 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, ≤ 70 %, ≤ 7 %, 0,1-25 %, 0,1-20 %, 0,1-15 %, 0,1-10 %, 0,1- ≥ 70 %, 0,1-7 %, 1-6 %, 2-6 %, 3-6 %, aproximadamente 4 %,
20 aproximadamente 5 % o aproximadamente 6 % del belantamab se isomera en el aminoácido D103 en el CDRH3. En una realización, el belantamab que comprende ≤ 25 % o ≤ 23 % de isomerización en D103 en el CDRH3 retiene un ≥ 70 % de enlace de antígenos específicos de la BCMA.

25 En una realización, la composición comprende una variante isomerizada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante isomerizada comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9 y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10; en donde la composición comprende ≤ 25 % de variante isomerizada.

30 En un ejemplo, la isomerización del ácido aspártico (Asp) puede determinarse mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS). En un ejemplo, una muestra que comprenda una composición descrita en este documento puede desnaturalizarse, *por ejemplo*, en HCl de guanidina 6 M a una concentración de, por ejemplo, 4,2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Los enlaces de disulfuro pueden entonces reducirse, por ejemplo, con
35 50 mM de DTT durante 20 minutos a temperatura ambiente. El yodoacetato, *por ejemplo*,

puede entonces añadirse a, por ejemplo, 100 mM y reaccionar con los residuos de cisteína libre, *por ejemplo*, durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. A continuación, la muestra puede intercambiarse con tampón, *por ejemplo*, usando una columna de espinazo BioRad (número de pieza 7326221), antes de la digestión, *por ejemplo*, con tripsina al 0,5 % durante 15 minutos a 37 °C. Los péptidos resultantes pueden entonces cargarse en una columna de cromatografía líquida de ultrafiltración de fase inversa (UPLC) y pueden eluirse con un gradiente de agua y acetonitrilo en, *por ejemplo*, ácido trifluoroacético al 0,1 % usando una UPLC. Los péptidos pueden entonces detectarse con un detector de UV y un espectrómetro de masas (*por ejemplo*, Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL). Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados pueden usarse para calcular los niveles de isomerización dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados.

En un aspecto, una composición comprende un anticuerpo que comprende una modificación postraducciona de la oxidación ("oxidación" u "oxidado") o una "variante oxidada". La variante puede comprender un residuo de aminoácido oxidado en la secuencia de la cadena pesada y/o la secuencia de la cadena ligera, como una CDR de la secuencia de la cadena pesada y/o una CDR de la secuencia de la cadena ligera. La variante oxidada puede estar presente en una o ambas cadenas de la cadena pesada o la cadena ligera. Se entenderá que estas realizaciones de la variante oxidada pueden combinarse con las características de los anticuerpos aquí descritas.

En una realización, la composición comprende una variante oxidada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 40 % de variante oxidada.

En un aspecto, la composición comprende una población de anticuerpos anti-BCMA que incluye:

anticuerpos que comprenden una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 1 (CDRH1), SEQ ID NO: 2 (CDRH2), y SEQ ID NO: 3

(CDRH3) y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende SEQ ID NO: 4 (CDRL1), SEQ ID NO: 5 (CDRL2) y SEQ ID NO: 6 (CDRL3), y

variantes oxidadas de las mismas, en las que ≤ 40 % de la población de anticuerpos está compuesta por las variantes oxidadas.

En una realización, la variante oxidada comprende la oxidación en uno o más de los CDR. En otra realización, la variante oxidada comprende la oxidación en un residuo de metionina y/o triptófano en cualquiera de los ID NOs del SEQ: 1-6.

10

En otra realización, la composición comprende una variante oxidada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 40 % de variante oxidada en el aminoácido M34 en el CDRH1.

15

En una realización, la composición comprende una variante oxidada del belantamab, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9 y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10; en donde la composición comprende ≤ 40 % de variante oxidada.

20

En una realización, la composición comprende un anticuerpo que es al menos un 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, y comprende la oxidación en la secuencia de cadena pesada, por ejemplo, la oxidación en el aminoácido M34 (CDRH1), M256 y/o M432.

25

En otra realización, una composición comprende un anticuerpo compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida

30

35

en la SEQ ID NO:6, y comprende la oxidación en la secuencia de la cadena pesada, por *ej. la oxidación* en el aminoácido M34 (CDRH1), M256 y/o M432.

5 En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab y comprende la oxidación en la secuencia de la cadena pesada, por *ejemplo*, la oxidación en el aminoácido M34 (CDRH1), M256 y/o M432.

10 En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos un 90 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente ≤ 40 %, ≤ 30 %, ≤ 25 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, $\leq 7,5$ %, ≤ 5 %, $\leq 2,5$ %, ≤ 2 %, 0,1-40 %, 0,1-35 %, 0,1-30 %, 0,1-25 %, 0,1-20 %, 0,1-15 %, 0,1-10 %, 0,1-7,5 %, 0,1-5 %, 0,1-2,5 %, 0,1-2 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 1 %, aproximadamente 2 % o aproximadamente 5 % del anticuerpo en la mezcla se oxida en el aminoácido M34. En una
15 realización, una composición que comprende ≤ 40 % de oxidación a nivel de la cadena pesada M34 retiene el ≥ 70 % de la unión del antígeno específico BCMA. En otro caso, una composición que comprende un ≤ 37 % de oxidación en la cadena pesada M34 retiene un ≥ 70 % de enlace de antígenos específicos de la BCMA.

20 En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia
25 de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente ≤ 40 %, ≤ 35 %, ≤ 30 %, ≤ 25 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, $\leq 7,5$ %, ≤ 5 %, $\leq 2,5$ %, ≤ 2 %, 0,1-40 %, 0,1-35 %, 0,1-30 %, 0,1-25 %, 0,1-20 %, 0,1-15 %, 0,1-10 %, 0,1-7,5 %, 0,1-5 %, 0,1-2,5 %, 0,1-2 %, cerca de 0,5 %, cerca de 1 %, cerca de 2 % o cerca de 5 % del anticuerpo en la mezcla se
30 oxida en el aminoácido M34. En una realización, una composición que comprende ≤ 40 % de oxidación a nivel de la cadena pesada M34 retiene el ≥ 70 % de la unión del antígeno específico BCMA. En otro caso, una composición que comprende un ≤ 37 % de oxidación en la cadena pesada M34 retiene un ≥ 70 % de enlace de antígenos específicos de la BCMA.

En otra realización, una composición comprende el belantamab, en el que aproximadamente $\leq 40\%$, el 30% , $\leq 25\%$, $\leq 20\%$, $\leq 15\%$, $\leq 10\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 5\%$, $\leq 2,5\%$, $\leq 2\%$, $0,1-40\%$, $0,1-35\%$, $0,1-30\%$, $0,1-25\%$, $0,1-20\%$, $0,1-15\%$, $0,1-10\%$, $0,1-7,5\%$, $0,1-5\%$, $0,1-2,5\%$, $0,1-2\%$, aproximadamente $0,5\%$, aproximadamente 1% ,
 5 aproximadamente 2% o aproximadamente 5% del belantamab se oxida en el aminoácido M34. En una realización, el belantamab, que comprende $\leq 40\%$ de oxidación a nivel de la cadena pesada M34, retiene el $\geq 70\%$ de la unión del antígeno específico BCMA. En otro caso, el belantamab, que contiene un ≤ 37 de oxidación en la cadena pesada M34, retiene un $\geq 70\%$ de aglutinante de antígenos específico de la BCMA.

10

En una realización, la composición comprende una variante oxidada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que
 15 comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende $\leq 90\%$ de variante oxidada en la región Fc.

En una realización, el anticuerpo comprende la oxidación en un residuo de metionina y/o
 20 triptófano en la región Fc de la secuencia de la cadena pesada y/o la región Fc de la secuencia de la cadena ligera. En algunas realizaciones, la variante oxidada comprende una o una combinación de oxidación a: M256 y/o M432 de la región Fc de la secuencia de la cadena pesada.

En otra realización, la composición comprende una variante oxidada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que
 25 comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de
 30 SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende $\leq 90\%$ de variante oxidada de M256 y/o M432.

En una realización, la composición comprende una variante oxidada del belantamab, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9 y

una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10; en donde la composición comprende ≤ 90 % de variante oxidada en la región Fc.

Alternativamente, la variante oxidada comprende una secuencia de cadena pesada de
5 SEQ ID NO: 11, 12, 13 o 14.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos un 90 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente ≤ 90 %, ≤ 80 %,
10 %, ≤ 70 %, ≤ 65 %, ≤ 50 %, ≤ 40 %, ≤ 30 %, ≤ 20 %, ≤ 10 %, $\leq 7,5$ %, ≤ 5 %, 0,1-90 %, 0,1-80 %, 0,1-70 %, 0,1-65 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 %, 0,1-10 %, 1-10 %, 1-5 %, 2-10 %, 2-4 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 3 % o aproximadamente 4 % del anticuerpo en la mezcla se oxida en el aminoácido M256. En una realización, una composición que comprende ≤ 90 % o un ≤ 89 % de oxidación en la cadena pesada M256
15 retiene un ≥ 70 % de enlace de FcRIIIA. En otro caso, una composición que comprende ≤ 65 % o ≤ 64 % de oxidación en la cadena pesada M256 retiene el ≥ 70 % de enlace de FcRn.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que
20 comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de
25 aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente ≤ 90 %, ≤ 80 %, ≤ 70 %, ≤ 65 %, ≤ 50 %, ≤ 40 %, ≤ 30 %, ≤ 20 %, ≤ 10 %, $\leq 7,5$ %, ≤ 5 %, 0,1-90 %, 0,1-80 %, 0,1-70 %, 0,1-65 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 %, 0,1-10 %, 1-10 %, 1-5 %, 2-10 %, 2-4 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 3 % o aproximadamente 4 % del anticuerpo en la mezcla se oxida en el aminoácido M256. En una realización, una
30 composición que comprende ≤ 90 % o un ≤ 89 % de oxidación en la cadena pesada M256 retiene un ≥ 70 % de enlace de FcRIIIA. En otro caso, una composición que comprende ≤ 65 % o ≤ 64 % de oxidación en la cadena pesada M256 retiene el ≥ 70 % de enlace de FcRn.

En otra realización, una composición comprende el belantamab, en el que aproximadamente $\leq 90\%$, $\leq 80\%$, $\leq 70\%$, $\leq 65\%$, $\leq 50\%$, $\leq 40\%$, $\leq 30\%$, $\leq 20\%$, $\leq 10\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 5\%$, $0,1-90\%$, $0,1-80\%$, $0,1-70\%$, $0,1-65\%$, $0,1-50\%$, $0,1-40\%$, $0,1-30\%$, $0,1-20\%$, $0,1-10\%$, $1-10\%$, $1-5\%$, $2-10\%$, $2-4\%$, aproximadamente 2% , aproximadamente 3% o aproximadamente 4% del belantamab se oxida en el aminoácido M256. En una realización, el belantamab, que comprende $\leq 90\%$ o el $\geq 70\%$ de oxidación en la cadena pesada M256, retiene el $\geq 70\%$ de enlace del FcRIIIA. En otro caso, el belantamab, que comprende el $\leq 65\%$ o el $\leq 64\%$ de oxidación en la cadena pesada del M256, conserva el $\geq 70\%$ de aglutinante de FcRn.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos un 90% idénticos a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente $\leq 86\%$, 70% , 60% , $\leq 50\%$, $\leq 40\%$, $\leq 30\%$, $\leq 20\%$, $\leq 10\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 5\%$, $\leq 2,5\%$, $\leq 2\%$, $0,1-86\%$, $0,1-70\%$, $0,1-60\%$, $0,1-50\%$, $0,1-40\%$, $0,1-30\%$, $0,1-20\%$, $0,1-10\%$, $0,1-5\%$, $0,1-3\%$, aproximadamente $0,5\%$, aproximadamente 1% , aproximadamente 2% o aproximadamente 3% del anticuerpo en la mezcla se oxida en el aminoácido M432. En una realización, una composición que comprende $\leq 86\%$ de oxidación a nivel de la cadena pesada M432 retiene un $\geq 70\%$ de enlace FcRIIA. En otro caso, una composición que comprende un $\leq 60\%$ de oxidación en la cadena pesada M432 retiene un $\geq 70\%$ de aglutinante de FcRn.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente $\leq 86\%$, $\leq 70\%$, $\leq 60\%$, $\leq 50\%$, $\leq 40\%$, $\leq 30\%$, $\leq 20\%$, $\leq 10\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 5\%$, $\leq 2,5\%$, $\leq 2\%$, $0,1-86\%$, $0,1-70\%$, $0,1-60\%$, $0,1-50\%$, $0,1-40\%$, $0,1-30\%$, $0,1-20\%$, $0,1-10\%$, $0,1-5\%$, $0,1-3\%$, aproximadamente $0,5\%$, aproximadamente 1% , aproximadamente 2% o aproximadamente 3% del anticuerpo en la mezcla se oxida en el aminoácido M432. La composición que comprende $\leq 86\%$ de oxidación en la cadena pesada M432 retiene un $\geq 70\%$ de enlace de FcRIIIA. En otro caso, una composición que comprende un $\leq 60\%$ de oxidación en la cadena pesada M432 retiene un $\geq 70\%$ de aglutinante de FcRn.

En otra realización, una composición comprende el belantamab, en el que aproximadamente $\leq 86\%$, $\leq 70\%$, $\leq 60\%$, $\leq 50\%$, $\leq 40\%$, $\leq 30\%$, $\leq 20\%$, $\leq 10\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 5\%$, $\leq 2,5\%$, $\leq 2\%$, $0,1-86\%$, $0,1-70\%$, $0,1-60\%$, $0,1-50\%$, $0,1-40\%$, $0,1-30\%$, $0,1-20\%$, $0,1-10\%$, $0,1-5\%$, $0,1-3\%$, aproximadamente $0,5\%$, aproximadamente 1% , aproximadamente 2% o aproximadamente 3% del belantamab se oxida en el aminoácido M432. En una realización, el belantamab que comprende $\leq 86\%$ de oxidación a nivel de la cadena pesada M432 retiene un $\geq 70\%$ de aglutinante FcRIIIa. En otro caso, el belantamab, que contiene un $\leq 60\%$ de oxidación en la cadena pesada M432, conserva un $\geq 70\%$ de aglutinante de FcRn.

10

En un ejemplo, la oxidación puede determinarse usando la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS). En un ejemplo, una muestra que comprenda una composición descrita en este documento puede desnaturalizarse, *por ejemplo*, en HCl de guanidina 6M a una concentración de, *por ejemplo*, $4,2\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Los enlaces de disulfuro pueden entonces reducirse, *por ejemplo*, con 50mM DTT durante 20 minutos a temperatura ambiente. El yodoacetato, *por ejemplo*, puede entonces añadirse a, *por ejemplo*, 100mM y reaccionar con los residuos de cisteína libre, *por ejemplo*, durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. A continuación, la muestra puede intercambiarse con tampón, *por ejemplo*, usando una columna de espinazo BioRad (número de pieza 7326221), antes de la digestión, *por ejemplo*, con tripsina al $0,5\%$ durante 15 minutos a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los péptidos resultantes pueden entonces cargarse en una columna de cromatografía líquida de ultrafiltración de fase inversa (UPLC) y pueden eluirse con un gradiente de agua y acetonitrilo en, *por ejemplo*, ácido trifluoroacético al $0,1\%$ usando una UPLC. Los péptidos pueden entonces detectarse con un detect o de UV y un espectrómetro de masas (*p o ejemplo*, Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL). Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usan para calcular los niveles de oxidación dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados.

30

En un aspecto, una composición comprende un anticuerpo que comprende una modificación postraducciona de la desamidación ("desamidación" o "deamidado") o una "variante de la desamidación". En un aspecto, el anticuerpo comprende la desamidación de un residuo de asparagina en una CDR de la secuencia de cadena pesada y/o una CDR de la secuencia de cadena ligera. En otra realización, el anticuerpo comprende la

35

desamidación de un residuo de asparagina en una CDR de la secuencia de cadena pesada. En una realización, el anticuerpo comprende la desamidación de un residuo de asparagina en la región Fc de la secuencia de cadena pesada y/o la región Fc de la secuencia de cadena ligera. La variante desamidada puede estar presente en una o ambas cadenas de la cadena pesada o la cadena ligera. Se entenderá que estas realizaciones de la variante desamidada pueden combinarse con las características de los anticuerpos que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, la variante desamidada comprende una o una combinación de desamidación en: N388 y/o N393 de la región Fc de la secuencia de la cadena pesada.

10

En una realización, la variante desamidada comprende un residuo desamidado seleccionado de: un residuo de ácido aspártico, un residuo de ácido succinimido-aspártico o un residuo de ácido iso-aspártico.

15 En una realización, la composición comprende un anticuerpo que es al menos un 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, y comprende la desamidación en la secuencia de cadena pesada, por ejemplo, la desamidación en el aminoácido N388 y/o N393.

20

En una realización, la composición comprende una variante desamarrada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante desamarrada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende hasta el 100 % de la variante deamidada.

25

En otra realización, la composición comprende una variante deamidada de un anticuerpo anti-BCMA, donde la variante oxidada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende hasta el 100 % de N388 y/o N393 variante deamidada.

30

35

En una realización, la composición comprende una variante desamarrada del belantamab, en la que la variante desamarrada comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9 y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10; en donde la composición comprende hasta el 100 % de la variante desamarrada. En otra realización, la composición
5 comprende una variante deamidada que comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:14, y una cadena ligera de SEQ ID NO:10.

En otra realización, una composición comprende un anticuerpo compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la
10 secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, y comprende la desamidación en la secuencia de la cadena pesada,
15 por *ej.* la desamidación en el aminoácido N388 y/o N393.

En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab y comprende la desamidación en la secuencia de la cadena pesada, por *ejemplo*, la desamidación en el aminoácido N388 y/o N393.

20

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos un 90 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente ≤ 100 %, ≤ 75 %, ≤ 60 %, ≤ 50 %, ≤ 40 %, ≤ 30 %, ≤ 25 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, ≤ 5 %, ≤ 2 %, 0,1-100 %,
25 0,1-75 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 % o 0,1-10 %, 0,1-5 %, 0,1-3 %, cerca de 0,5 %, cerca de 1 %, cerca de 2 %, cerca de 5 % o cerca de 10 % del anticuerpo en la mezcla es deamidado en el aminoácido N388.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que
30 comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de
35 aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente ≤ 100 %, ≤ 75 %, ≤ 60 %, ≤ 50 %, ≤ 40 %, ≤ 30 %, ≤ 25 %, ≤ 20 %, ≤ 15 %, ≤ 10 %, ≤ 5 %, ≤ 2 %, 0,1-100 %, 0,1-75 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 % o 0,1-10 %, 0,1-5 %, 0,1-3 %, cerca de 0,5 %, cerca de 1 %, cerca de 2 %, cerca de 5 % o cerca de 10 % del anticuerpo en la mezcla es deamidado en el aminoácido N388.

≤60 %, ≤50 %, ≤40 %, ≤30 %, ≤25 %, ≤20 %, ≤15 %, ≤10 %, ≤5 %, ≤2 %, 0,1-100 %, 0,1-75 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 % o 0,1-10 %, 0,1-5 %, 0,1-3 %, cerca de 0,5 %, cerca de 1 %, cerca de 2 %, cerca de 5 % o cerca de 10 % del anticuerpo en la mezcla es deamidado en el aminoácido N388.

5

En otra realización, una composición comprende el belantamab, en el que aproximadamente ≤100 %, Bienvenidos0 %, Bienvenidos2 %, ≤50 %, ≤40 %, ≤30 %, ≤25 %, ≤20 %, ≤15 %, ≤10 %, ≤5 %, ≤2 %, 0,1-100 %, 0,1-75 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 % o 0,1-10 %, 0,1-5 %, 0,1-3 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 1 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 5 % o aproximadamente 10 % del belantamab es desamidado en el aminoácido N388.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos un 90 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente ≤100 %, ≤85 %, ≤75 %, ≤60 %, ≤50 %, ≤40 %, ≤30 %, ≤20 %, ≤15 %, ≤10 %, ≤5 %, ≤2 %, 0,1-100 %, 0,1-75 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 % o 0,1-10 %, 0,1-5 %, 0,1-3 %, cerca de 0,5 %, cerca de 1 %, cerca de 2 %, cerca de 5 % o cerca de 10 % del anticuerpo en la mezcla es deamidado en el aminoácido N393.

20

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente ≤100 %, ≤85 %, ≤75 %, ≤60 %, ≤50 %, ≤40 %, ≤30 %, ≤20 %, ≤15 %, ≤10 %, ≤5 %, ≤2 %, 0,1-100 %, 0,1-75 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 % o 0,1-10 %, 0,1-5 %, 0,1-3 %, cerca de 0,5 %, cerca de 1 %, cerca de 2 %, cerca de 5 % o cerca de 10 % del anticuerpo en la mezcla es desamidado en el aminoácido N393.

En otra realización, una composición comprende el belantamab, en el que aproximadamente ≤100 %, ≤85 %, ≤75 %, ≤60 %, ≤50 %, ≤40 %, ≤30 %, ≤20 %, ≤15 %, ≤10 %, ≤5 %, ≤2 %, 0,1-100 %, 0,1-75 %, 0,1-50 %, 0,1-40 %, 0,1-30 %, 0,1-20 % o 0,1-

35

10 %, 0,1-5 %, 0,1-3 %, cerca de 0,5 %, cerca de 1 %, cerca de 2 %, cerca de 5 % o cerca de 10 % del belantamab es desamidado en el aminoácido N393.

En un ejemplo, la desamidación puede determinarse usando la espectrometría de masas en 5
tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS). En un ejemplo, una muestra que comprenda una composición descrita en este documento puede desnaturalizarse, por ejemplo, en HCl de guanidina 6M a una concentración de, por ejemplo, 4,2 µg/µL. Los enlaces de disulfuro pueden entonces reducirse, por ejemplo, con 50mM DTT durante 20 minutos a temperatura ambiente. El yodoacetato, por ejemplo, puede entonces añadirse a, 10
por ejemplo, 100mM y reaccionar con los residuos de cisteína libre, por ejemplo, durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. A continuación, la muestra puede intercambiarse con tampón, por ejemplo, usando una columna de espinazo BioRad (número de pieza 7326221), antes de la digestión, por ejemplo, con tripsina al 0,5 % durante 15 minutos a 37 °C. Los péptidos resultantes pueden entonces cargarse en una 15
columna de cromatografía líquida de ultrafiltración de fase inversa (UPLC) y pueden eluirse con un gradiente de agua y acetonitrilo en, por ejemplo, ácido trifluoroacético al 0,1 % usando una UPLC. Los péptidos pueden entonces detectarse con un detector de UV y un espectrómetro de masas (por ejemplo, Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL). Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usan 20
para calcular los niveles de desamidación dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados.

En una realización, una modificación post-traducción es una variante de la secuencia de 25
anticuerpos. Las variantes de la secuencia de anticuerpos de modificación post-traducción a modo de ejemplo comprenden un cambio de asparagina (N) a ácido aspártico (D), un piroglutamato N-terminal y/o un corte de lisina en el extremo C.

En un ejemplo, las variantes de anticuerpos, por ejemplo, N103D en CDRH3, pueden 30
determinarse mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS). En un ejemplo, una muestra que comprenda una composición descrita en este documento puede desnaturalizarse, por ejemplo, en HCl de guanidina 6M a una concentración de, por ejemplo, 4,2 µg/µL. Los enlaces de disulfuro pueden entonces reducirse, por ejemplo, con 50mM DTT durante 20 minutos a temperatura ambiente. El 35
yodoacetato, por ejemplo, puede entonces añadirse a, por ejemplo, 100mM y reaccionar

con los residuos de cisteína libre, por ejemplo, durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. A continuación, la muestra puede intercambiarse con tampón, por ejemplo, usando una columna de espinazo BioRad (número de pieza 7326221), antes de la digestión, por ejemplo, con tripsina al 0,5 % durante 15 minutos a 37 °C. Los péptidos

5 resultantes pueden entonces cargarse en una columna de cromatografía líquida de ultrafiltración de fase inversa (UPLC) y pueden eluirse con un gradiente de agua y acetonitrilo en, por ejemplo, ácido trifluoroacético al 0,1 % usando una UPLC. Los péptidos pueden entonces detectarse con un detect o de UV y un espectrómetro de masas (p o ejemplo, Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL). Los cromatogramas iónicos extraídos de los

10 péptidos modificados y no modificados se usan para calcular los niveles de la variante de anticuerpo, por ejemplo, N103D en el CDRH3, dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados.

15 En un aspecto, la composición comprende un anticuerpo que comprende un ácido piroglutámico N-terminal ("ácido piroglutámico"), modificación posterior a la transición en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada. En un aspecto, la composición comprende un anticuerpo que es al menos un 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID

20 NO:10, y comprende el ácido piroglutámico en el N-terminal de la cadena pesada.

En otra realización, una composición comprende un anticuerpo compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia

25 de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, y comprende el ácido piroglutámico en el extremo N de la cadena pesada.

30

En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab y comprende el ácido piroglutámico en el extremo N de la cadena pesada.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que son al

35 menos un 90 % idénticos a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID

NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 50\%$, $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 95\%$, 100% o menos, 95% o menos, 90% o menos, 85% o menos, 80% o menos, 75% o menos o 50% o menos del anticuerpo en la mezcla comprende ácido piroglutámico N-terminal en la secuencia de aminoácidos de

5 cadena pesada.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3

10 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 50\%$, $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$, 100% o menos, 95% o menos, 90% o menos, 85%

15 $\%$ o menos, 80% o menos, 75% o menos o 50% o menos del anticuerpo en la mezcla comprende ácido piroglutámico N-terminal en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada.

En un realización, una composición comprende el belantamab, en la que aproximadamente

20 $\geq 25\%$, el $\geq 50\%$, el $\geq 75\%$, el $\geq 80\%$, el $\geq 90\%$, el $\geq 95\%$, el 100% o menos, el 95% o menos, el 90% o menos, el 85% o menos, el 80% o menos, el 75% o menos o el 50% o menos del belantamab comprende el ácido piroglutámico N-terminal en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada.

25 En un ejemplo, el ácido piroglutámico N-terminal puede determinarse mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS). En un ejemplo, una muestra que comprenda una composición descrita en este documento puede desnaturalizarse, por ejemplo, en HCl de guanidina 6M a una concentración de, por ejemplo, $4,2\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$. Los enlaces de disulfuro pueden entonces reducirse, por ejemplo, con

30 50mM DTT durante 20 minutos a temperatura ambiente. El yodoacetato, por ejemplo, puede entonces añadirse a, por ejemplo, 100mM y reaccionar con los residuos de cisteína libre, por ejemplo, durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. A continuación, la muestra puede intercambiarse con tampón, por ejemplo, usando una columna de espinazo BioRad (número de pieza 7326221), antes de la digestión, por

35 ejemplo, con tripsina al $0,5\%$ durante 15 minutos a $37\ ^\circ\text{C}$. Los péptidos resultantes pueden

entonces cargarse en una columna de cromatografía líquida de ultrafiltración de fase inversa (UPLC) y pueden eluirse con un gradiente de agua y acetonitrilo en, por ejemplo, ácido trifluoroacético al 0,1 % usando una UPLC. Los péptidos pueden entonces detectarse con un detector de UV y un espectrómetro de masas (por ejemplo, Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL). Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usan para calcular los niveles de ácido piroglutámico dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados.

10 En un aspecto, una composición comprende un anticuerpo que comprende una división de lisina en el extremo C después de la modificación de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada. En un aspecto, la composición comprende un anticuerpo que es al menos un 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, y comprende una división en el
15 extremo C de lisina de la cadena pesada.

En otra realización, una composición comprende un anticuerpo compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia
20 de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, y comprende y comprende un corte de lisina en el extremo C de la cadena pesada.

25 En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA está compuesto por el belantamab y comprende un corte de lisina en el extremo C de la cadena pesada.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos en
30 un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:10, en la que aproximadamente ≥ 25 %, ≥ 50 %, ≥ 75 %, ≥ 80 %, ≥ 85 %, ≥ 90 %, ≥ 95 %, 100 % o menos, 95 % o menos, 90 % o menos, 85 % o menos, 80 % o menos, 75 % o menos o 50 % o menos del anticuerpo en la mezcla comprende una división de lisina en el extremo C.

35

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en el que aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 50\%$, $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$, 100% o menos, 95% o menos, 90% o menos, 85% o menos, 80% o menos, 75% o menos o 50% o menos del anticuerpo en la mezcla comprende una ruptura en el extremo C de lisina de la cadena pesada.

En una realización, una composición comprende el belantamab, en la que aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 50\%$, $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, el $\geq 90\%$, el $\geq 95\%$, el 100% o menos, el 95% o menos, el 90% o menos, el 85% o menos, el 80% o menos, el 75% o menos o el 50% o menos del belantamab comprende una escisión de lisina en el extremo C de la cadena pesada.

En un ejemplo, la división de lisina en el extremo C puede determinarse mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS).

En un ejemplo, una muestra que comprenda una composición descrita aquí puede desnaturalizarse, por ejemplo, en HCl de guanidina 6M a una concentración de, por ejemplo, $4,2\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Los enlaces de disulfuro pueden entonces reducirse, por ejemplo, con 50mM DTT durante 20 minutos a temperatura ambiente. El yodoacetato, por ejemplo, puede entonces añadirse a, por ejemplo, 100mM y reaccionar con los residuos de cisteína libre, por ejemplo, durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. A continuación, la muestra puede intercambiarse con tampón, por ejemplo, usando una columna de espinazo BioRad (número de pieza 7326221), antes de la digestión, por ejemplo, con tripsina al $0,5\%$ durante 15 minutos a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los péptidos resultantes pueden entonces cargarse en una columna de cromatografía líquida de ultrafiltración de fase inversa (UPLC) y pueden eluirse con un gradiente de agua y acetonitrilo en, por ejemplo, ácido trifluoroacético al $0,1\%$ usando una UPLC. Los péptidos pueden entonces detectarse con un detect o de UV y un espectrómetro de masas (p o ejemplo, Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL). Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usan para calcular los niveles de división de lisina en el extremo C

dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados.

5 En un aspecto, una composición comprende un anticuerpo que comprende la glicosilación posterior a la modificación de la traducción ("modificación de la glicosilación") o la variante de la glicosilación. Las modificaciones de glicosilación a modo de ejemplo incluyen cambios en la expresión de G0, G1, G0-GlcNac, G2 y siilación en el anticuerpo. En una realización, una composición comprende un anticuerpo que es al menos aproximadamente 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y/o a la
10 secuencia de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, y comprende una modificación de glicosilación.

En otra realización, una composición comprende un anticuerpo compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la
15 secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, y comprende una variante de glicosilación.

20

En otra realización, un anticuerpo anti-BCMA comprende el belantamab y una variante de glicosilación.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos al menos en
25 un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y/o a la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO:10, en donde la composición comprende G0 a un nivel de aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 35\%$, $\geq 40\%$, $\geq 45\%$, $\geq 50\%$, $\geq 60\%$, 0-100 %, 1-100 %, 30-100 %, 40-90 %, 50-80 % o 55-80 %; G1 a un nivel de aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 35\%$, $\geq 40\%$, $\geq 45\%$, $\geq 50\%$, $\geq 55\%$, $\geq 60\%$, 0-100%, 1-100%, 30-100%, 40-90%, 50-80%, o 55-80%; G0-GlcNac a un nivel de aproximadamente $\leq 5\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 10\%$, $\leq 15\%$, $\leq 20\%$, $\leq 25\%$, $\leq 30\%$, $\leq 40\%$, $\leq 50\%$, $\geq 50\%$, 0-100%, 0,5-100 %, 0-50 %, 0,5-50 %, 0,5-25 %, 0,5-10 %, 0,5-7,5 % o 0,9-5,3 %; G2 a un nivel de 0-100 %, 1-100 % o 39-92 %; y/o G0-2GlcNac a un nivel de 0-100 %, 1-100 % o 38-88 %.

30

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6, en donde la composición comprende G0 a un nivel de aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 35\%$, $\geq 40\%$, $\geq 45\%$, $\geq 50\%$, $\geq 55\%$, $\geq 60\%$, 0-100 %, 1-100 %, 30-100 %, 40-90 %, 50-80 % o 55-80 %; G1 a un nivel de aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 35\%$, $\geq 40\%$, $\geq 45\%$, $\geq 50\%$, $\geq 55\%$, $\geq 60\%$, 0-100%, 1-100%, 30-100%, 40-90%, 50-80% o 55-80%; G0-GlcNac a un nivel de aproximadamente $\leq 5\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 10\%$, $\leq 15\%$, $\leq 20\%$, $\leq 25\%$, $\leq 30\%$, $\leq 40\%$, $\leq 50\%$, $\leq 50\%$, 0-100 %, 0,5-100 %, 0-50 %, 0,5-50 %, 0,5-25 %, 0,5-10 %, 0,5-7,5 % o 0,9-5,3 %; G2 a un nivel de 0-100 %, 1-100 % o 39-92 %; y/o G0-2GlcNac a un nivel de 0-100 %, 1-100 % o 38-88 %.

En una realización, una composición comprende el belantamab, en donde la composición comprende G0 a un nivel de aproximadamente $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 35\%$, $\geq 40\%$, $\geq 45\%$, $\geq 50\%$, $\geq 55\%$, $\geq 60\%$, 0-100%, 1-100%, 30-100%, 40-90%, 50-80% o 55-80% G1 a un nivel de aproximadamente $\geq 2.5\%$, $\geq 5\%$, $\geq 10\%$, $\geq 15\%$, $\geq 20\%$, $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 50\%$, 0-100%, 1-100%, 0-50%, 1-50%, 1-40%, 1-35%, o 8-31 %; G0-GlcNac a un nivel de aproximadamente $\leq 5\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 10\%$, $\leq 15\%$, $\leq 20\%$, $\leq 25\%$, $\leq 30\%$, $\leq 40\%$, $\leq 50\%$, $\leq 75\%$, 0-100 %, 0,5-100 %, 0-50 %, 0,5-50 %, 0,5-25 %, 0,5-10 %, 0,5-7,5 % o 0,9-5,3 %; G2 a un nivel de 0-100 %, 1-100 % o 39-92 %; y/o G0-2GlcNac a un nivel de 0-100 %, 1-100 % o 38-88%.

En una realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos en la que el 100 % son afucosilados. En otra realización, una composición comprende una mezcla de anticuerpos en la que el 0 % son fucosilados.

En un ejemplo, las modificaciones de la glicosilación y el perfil resultante pueden determinarse mediante la cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC) con cromatografía líquida de interacción hidrófila (HILIC) de separación y detección de fluorescencia. En un ejemplo, una composición aquí descrita, por ejemplo, que comprende belantamab, puede diluirse hasta una concentración de 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ con agua, y los glicanos pueden entonces liberarse de la composición, por ejemplo, que comprende belantamab, mediante una digestión enzimática con PNGaseF usando un kit de PNGase F de New

England BioLabs, (Cat # P0705L). Los glicanos pueden ser liberados por PNGase F y etiquetados con antranilamida (Sigma-Aldrich, Cat # A89804). Los glicanos etiquetados pueden ser purificados para eliminar el exceso de solución de etiquetado usando un paso de columna HILIC; los glicanos pueden ser cargados y lavados con agua y eluidos con acetonitrilo. Los glicanos etiquetados pueden entonces separarse usando una columna de amida Waters Glycan BEH (cat no. 186004742) en un UPLC Waters Acquity con un gradiente de formato de amonio/ácido fórmico y acetonitrilo. Los glicanos pueden entonces ser detectados, por ejemplo, usando la detección por fluorescencia con excitación a 365 nm y emisión a 438 nm. La cuantificación de los glicanos puede lograrse, por ejemplo, dividiendo el área bajo la curva de un glicano por el área total bajo la curva de todos los glicanos detectados.

En un aspecto, la composición comprende anticuerpos que son anticuerpos agregados (especies de alto peso molecular (HMW)), también denominados aquí "variante agregada". Los anticuerpos agregados pueden comprender dímeros o estructuras de orden superior formadas por monómeros de anticuerpos y subunidades de los mismos. Las variantes agregadas pueden ser, por ejemplo, covalentes o no covalentes, reducibles o no reducibles, y agregados visibles o subvisibles de un anticuerpo aquí revelado. Las variantes agregadas o fragmentadas pueden caracterizarse y distinguirse de un anticuerpo en función de su tamaño. por ejemplo, la distribución de tamaños de una composición de anticuerpos puede detectarse mediante cromatografía de exclusión de tamaños (SEC), como la SE-HPLC.

En un aspecto, la composición comprende una variante agregada del anticuerpo, en la que la variante agregada comprende una secuencia de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 10 % de variante agregada.

La composición de los anticuerpos puede comprender una variante agregada del ≤ 10 %, como $\leq 7,5$ %, ≤ 5 %, ≤ 4 %, ≤ 3 %, ≤ 2 % o una variante agregada del 3 %. En otra incorporación, la composición puede comprender una variante agregada del 1 al 10 %, del 1 al 5 %, del 1 al 4 %, del 1 al 3 % o del 1 al 2 %. Alternativamente, la composición comprende más de un 1 % y menos de un 10 % de variante agregada. Alternativamente,

la composición puede comprender aproximadamente 7,5 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 2 % o aproximadamente 1 % de variante agregada.

- 5 Las variantes fragmentadas ("variante de fragmento") son variantes que comprenden una porción de un anticuerpo de longitud completa. por ejemplo, entre esos fragmentos se encuentran los Fab, Fab', F(ab')₂, y los fragmentos Fv, los diablitos, los anticuerpos lineales, las moléculas de anticuerpos de cadena única y los dominios de inmunoglobulina de variable única.

10

En un aspecto, la composición comprende una variante de fragmento del anticuerpo, en la que la variante de fragmento comprende una secuencia de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤10 % de variante de fragmento.

15

La composición de los anticuerpos puede comprender un ≤10 % de anticuerpos fragmentados, como ≤5 %, ≤4 %, ≤3 %, ≤2 % o bien un 3 % de anticuerpos fragmentados.

20

En otra realización, la composición puede comprender un 0,5-10 %, un 0,5-5 %, un 0,5-4 %, un 0,5-3 %, un 0,5-2 %, un 0,5-1,5 % o un 0,5-1 % de anticuerpos fragmentados. Alternativamente, la composición puede comprender aproximadamente 5 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 1 % o aproximadamente 0,5 % de anticuerpos fragmentados.

25

Una composición puede comprender una o una combinación de las variantes de división de la lisina ácida, básica, isomerización oxidación, desamidación, ácido piroglutámico N-terminal, en el extremo C, y/o cualquier porcentaje de las variantes de modificación de la glicosilación, y/o las variantes agregadas y/o fragmentadas que se describen en el presente documento.

30

En una realización, una composición tiene un ≥70 % de antígenos específicos de la BCMA, un ≥70 % de FcγRIIIa y/o ≥ un 70 % de FcRn.

En otra realización, una composición tiene aproximadamente $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, o $\geq 95\%$ de antígenos específicos de la BCMA. En otra realización, una composición tiene aproximadamente $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$, Fc γ RIIIa vinculante. En otra parte, una composición tiene aproximadamente $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$ de enlace de FcRn.

En otra realización una composición tiene una unión a antígeno específico en el intervalo de aproximadamente 70 % al 130 %, Fc γ RIIIa unión en el intervalo de aproximadamente 70 % al 130 %, y/o unión de FcRn en el intervalo de aproximadamente 70 % al 130 %.

10

En algunas realizaciones una composición tiene una unión específica de antígenos en el intervalo de aproximadamente 75 % a aproximadamente 125 %, aproximadamente 80 % a aproximadamente 120 %, aproximadamente 90 % a aproximadamente 110 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o del 100 %, aproximadamente 110 %, aproximadamente 120 % o aproximadamente 130 %. En algunas realizaciones una composición tiene un enlace Fc γ RIIIa en el intervalo de aproximadamente 75 % a aproximadamente 125 %, aproximadamente 80 % a aproximadamente 120 %, aproximadamente 90 % a aproximadamente 110 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 105 % o aproximadamente 110 %. En algunas realizaciones una composición tiene un enlace de FcRn en el intervalo de aproximadamente 75 % a aproximadamente 125 %, aproximadamente 80 % a aproximadamente 120 %, aproximadamente 90 % a aproximadamente 110 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 105 %, aproximadamente 110 %.

En otra realización la composición que comprende una variante tiene al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % de la actividad del belantamab que tiene el 100 % de actividad. En un aspecto, la composición comprende una variante que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; donde la composición tiene al menos el 70 % de la potencia de una composición que comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9, 11, 12,

35

13 o 14 y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10 y cualquiera o una combinación de ellas: i) hasta un 23 % de isomerización en D103, y/o ii) hasta un 37 % de oxidación en M34.

- 5 En otro aspecto, la composición comprende una variante que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada compuesta por una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera compuesta por una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; donde la composición tiene al menos el 70 % de la
- 10 potencia de una composición que comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9, 11, 12, 13 o 14 y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10 y cualquiera o una combinación de ellas: i) hasta un 23 % de isomerización en D103, ii) hasta un 37 % de oxidación en M34, iii) hasta un 64 % de oxidación en M256, iv) hasta un 61 % de oxidación en M432, v) hasta un 100 % de de desamidación en N388, y/o vi) hasta un 100
- 15 % de desamidación en N393. En otro aspecto, la composición comprende una variante que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada compuesta por una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera compuesta por una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; donde la composición tiene
- 20 al menos el 70 % de la potencia de una composición que comprende una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 9, 11, 12, 13 o 14 y una secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 10 y cualquiera o una combinación de ellas: i) hasta un 23 % de isomerización en D103, ii) hasta un 37 % de oxidación en M34, iii) hasta un 64 % de oxidación en M256, iv) hasta un 61 % de oxidación en M432, v) hasta un 100 % de de desamidación en N388,
- 25 vi) hasta un 100 % de de desamidación en N393, vii) hasta un 100 % de división de lisina en el extremo C HC, y/o viii) hasta un 100 % de ácido piroglutámico N-terminal HC.

En un ejemplo, la unión del BCMA y el FcR1IIa por la mafodotina del belantamab se mide mediante la resonancia plasmónica superficial (SPR). El belantamab mafodotin puede

30 diluirse hasta 10 µg/mL con PBST, inyectado y capturado por la proteína A inmovilizada en un chip sens o CM5. El BCMA puede entonces inyectarse y unirse al belantamab mafodotin capturado. A continuación, FcγR1IIa puede ser inyectada y unida a la mafodotina de belantamab capturada. Las concentraciones funcionales de la unión del mafodotín belantamab al BCMA y FcγR1IIa pueden calcularse a partir de una curva estándar de

35 referencia e informarse como la concentración de unión del BCMA o FcγR1IIa,

respectivamente. La concentración total de mafodotina de belantamab de la muestra se determina previamente por absorbencia a 280 nm. La actividad de enlace específica (%) puede calcularse dividiendo la concentración de enlace del BCMA o FcγRIIIa por la absorbancia a la concentración de 280 nm.

5

La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a una proteína de unión a antígenos anti-BCMA, por ejemplo, el belantamab, puede medirse mediante la resonancia plasmónica superficial (SPR). El belantamab puede ser capturado por el FcRn, que se inmoviliza en un chip sens o de ácido nitrilotriacético (NTA). La concentración de enlace de FcRn de la muestra puede determinarse mediante la interpolación de la respuesta de enlace en una curva de calibración. La actividad de enlace específica (%) se calcula dividiendo la concentración de enlace de FcRn por la concentración total de proteína.

Entre otros procedimientos conocidos por los expertos en la materia, la unión de la BCMA y la FcRIIIa por una proteína de unión a antígenos anti-BCMA, por ejemplo, la mafodotina belantamab, puede medirse usando la resonancia plasmónica superficial (SPR). En un ejemplo, la mafodotina belantamab se inyecta y es capturada por la proteína A inmovilizada en un chip sens o CM5. A continuación se inyecta el BCMA y se une al belantamab mafodotin capturado. A continuación, se inyecta FcγRIIIa y se une al belantamab mafodotin capturado. Las concentraciones funcionales de la unión del mafodotín belantamab al BCMA y FcγRIIIa pueden calcularse a partir de una curva estándar de referencia e informarse como la concentración de unión del BCMA o FcγRIIIa, respectivamente. La concentración total de mafodotina de belantamab de la muestra puede determinarse mediante la absorbencia a 280 nm. La actividad de enlace específica (%) puede calcularse dividiendo la concentración de enlace del BCMA o FcγRIIIa por la absorbancia a, por ejemplo, la concentración de 280 nm.

En ciertas realizaciones, el promedio de DAR o el porcentaje de DL impacta en el FcRn. En otra realización, el promedio de DAR o el porcentaje de DL no impacta la unión a FcRn. En otra realización, una composición comprende el belantamab mafodotin, y el DAR medio o el porcentaje de DL impacta al unirse a la FcRn. En otra realización más, una composición comprende el mafodotín belantamab, y el promedio de DAR o porcentaje de DL no afecta a la unión con el FcRn. En una realización, el promedio de DAR o el porcentaje de DL puede debilitar la unión a la FcRn.

35

La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a una proteína de unión a antígenos anti-BCMA, por ejemplo, la mafodotina belantamab, puede medirse mediante la resonancia plasmónica superficial (SPR). El belantamab mafodotin puede ser capturado por el FcRn, que se inmoviliza en un chip sens o de ácido nitrilotriacético (NTA). La concentración de enlace de FcRn de la muestra puede determinarse mediante la interpolación de la respuesta de enlace en una curva de calibración. La actividad de enlace específica (%) se calcula dividiendo la concentración de enlace de FcRn por la concentración total de proteína.

Cuando una proteína de unión a antígenos anti-BCMA comprende la mafodotina belantamab, los procedimientos de SPR descritos en el presente documento para la unión a antígenos específicos, FcγRIIIa y la unión FcRn pueden usar un estándar de referencia de belantamab o mafodotina belantamab. El estándar de referencia del belantamab o del belantamab mafodotin puede usarse en ensayos para obtener datos sobre la idoneidad del sistema y la comparabilidad de las muestras, a fin de garantizar que los procedimientos funcionen adecuadamente. El patrón de referencia puede permitir el establecimiento de una curva de calibración y las concentraciones de las muestras se interpolan a partir de la curva. por ejemplo, un patrón de referencia puede ser una composición que comprenda una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO:10

La composición de los anticuerpos que comprende los anticuerpos y las variantes de anticuerpos descritos anteriormente conservan la unión a antígenos específicos y/o la unión de FcRn y/o la unión FcγRIIIa y/o la potencia. por ejemplo, la composición de los anticuerpos que comprenden los anticuerpos y las variantes de los anticuerpos y las variantes de modificación post-traducción descritas anteriormente tienen >0,70 de unión al antígeno específico BCMA; y/o >70 % de unión a FcRn y/o 70 % de unión a FcγRIIIa y/o >70 % de potencia. Así pues, estos niveles (%) de variantes pueden ser tolerados en la composición de los anticuerpos sin afectar significativamente a la función (es decir, sin que se produzca una reducción de la actividad). En una realización, "función reducida" o "actividad reducida" significa que la unión al BCMA o la unión al FcRn o la unión a FcγRIIIa o la potencia se reduce en porcentaje en comparación con un estándar de referencia, y es significativa sobre la variabilidad del ensayo. por ejemplo, la función o actividad reducida o la potencia puede describirse como una reducción del ≥5%, ≥10%, ≥15%, ≥20%, ≥25%, ≥30%, ≥35%, ≥40%, ≥45%, o ≥50%.

En otra realización, el patrón de muestra de referencia es una composición que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO:10 en donde la composición comprende un 80 % o más de división de lisina en el extremo C de cadena pesada y un 100 % o menos de ácido piroglutámico N-terminal de cadena pesada. En otra realización, la muestra estándar de referencia es una composición que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO:10 en donde la composición comprende un 80 % o más de división de lisina en el extremo C de cadena pesada y 100 % o menos de ácido piroglutámico N-terminal de cadena pesada, y 7 % o menos de isomerización en el aminoácido D103 en el CDRH3. En otra realización, el estándar de muestra de referencia es una composición que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO:10, en donde la composición comprende un 80 % o más de división de lisina en el extremo C de cadena pesada y 100 % o menos de ácido piroglutámico N-terminal de cadena pesada, 7 % o menos de isomerización en el aminoácido D103 en la CDRH3, y 5 % o menos de oxidación en los aminoácidos M34, M256 y/o M432. En otra realización, el patrón de muestra de referencia es una composición que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO:10 en donde la composición comprende un 80 % o más de división de lisina en el extremo C de cadena pesada y un 100 % o menos de ácido piroglutámico N-terminal de cadena pesada, un 7 % o menos de isomerización en el aminoácido D103 en el CDRH3, un 5 % o menos de oxidación en los aminoácidos M34, M256 y/o M432, y un 2 % o menos de desamidación en los aminoácidos N388 y/o N393. En otra realización, el patrón de muestra de referencia es una composición que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO:10 en donde la composición comprende un 80 % o más de división de lisina en el extremo C de cadena pesada y 100 % de ácido piroglutámico N-terminal de cadena pesada, 7 % o menos de isomerización en el aminoácido D103 en el CDRH3, 5 % o menos de oxidación en el M256, 2 % o menos de oxidación en el M34 y M432, y 2 % o menos desamidación en los aminoácidos N388 y N393.

Conjugados de Anticuerpos y Fármacos (ADC)

Los conjugados de medicamentos anticuerpo (ADC) son una clase emergente de potentes agentes anticancerígenos, que recientemente han demostrado un notable beneficio clínico.

Los ADC están compuestos por un agente citotóxico químicamente unido a un anticuerpo a través de un enlazador. En potencia, por una serie de eventos, incluyendo la unión a antígenos en la superficie de la célula, la endocitosis, el tráfico al lisosoma, la degradación de los ADC, la liberación de la carga útil, la interrupción del procesamiento celular (p o ejemplo, la mitosis) y la apoptosis, los ADC pueden destruir células cancerosas que posean una sobreexpresión de proteínas de la superficie celular. Los ADC combinan las propiedades de orientación de los anticuerpos monoclonales, impulsadas por los antígenos, con los potentes efectos antitumorales de los agentes citotóxicos. por ejemplo, en 2011 ADCETRIS® (un anticuerpo anti-CD30-MMAE ADC) obtuvo la aprobación regulatoria para el tratamiento del linfoma de Hodgkin refractario y el linfoma anaplásico sistémico.

Los ADC se han usado para la administración local de agentes citotóxicos, es decir, medicamentos que matan o inhiben el crecimiento o la proliferación de células, en el tratamiento del cáncer (Lambert, J. (2005) *Curr. Opinion in Pharmacology* 5:543-549; Wu y otros (2005) *Nature Biotechnology* 23(9):1137-1146; Payne, G. (2003) i 3:207-212; Syrigos y Epenetos (1999) *Anticancer Research* 19:605-614; Niculescu-Duvaz y Springer (1997) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 26:151-172; U.S. Pat. No. 4,975,278). Los ADC permiten la administración selectiva de una fracción de fármaco a un tumor y la acumulación intracelular en el mismo, en los casos en que la administración sistémica de fármacos no conjugadas puede dar lugar a niveles inaceptables de toxicidad para las células normales, así como para las células tumorales que se desea eliminar (Baldwin y otros, *Lancet* (15 de marzo de 1986), págs. 603 a 5; Thorpe (1985) "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", en *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications* (A. Pinchera *et al.*, eds) pp. 475-506. Se ha informado de la utilidad tanto los anticuerpos policlonales como de los monoclonales en estas estrategias (Rowland et al., (1986) *Cancer Immunol. Immunother.* 21:183-87). Las toxinas usadas en los conjugados de anticuerpos y toxinas incluyen toxinas bacterianas como la toxina diftérica, toxinas vegetales como la ricina, toxinas de pequeñas moléculas como la geldanamicina (Mandler y otros (2000) *J. Nat. Cancer Inst.* 92(19):1573-1581; Mandler y otros (2000) *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 10:1025-1028; Mandler et al (2002) *Bioconjugate Chem.* 13:786-791), maytansinoides (EP 1391213; Liu et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:8618-8623), y calicheamicina (Lode et al (1998) *Cancer Res.* 58:2928; Hinman et al (1993) *Cancer Res.* 53:3336-3342).

En una realización, una proteína aglutinante de antígenos anti-BCMA es un conjugado anticuerpo-medicamento ("ADC anti-BCMA") que comprende un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo conjugado con uno o más agentes citotóxicos, como un agente quimioterapéutico, un fármaco, un agente inhibidor del crecimiento, una toxina (e.g. , una
 5 toxina proteínica, una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal o sus fragmentos) o un isótopo radioactivo (es decir, un radioconjugado).

En una realización, un ADC anti-BCMA tiene la siguiente estructura general:



10 En donde:

El ABP es una proteína, anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une al antígeno;

El enlazador está ausente o es un enlazador escindible o no escindible;

La Ctx es cualquier agente citotóxico descrito aquí;

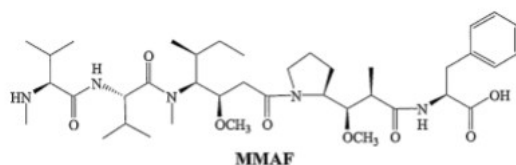
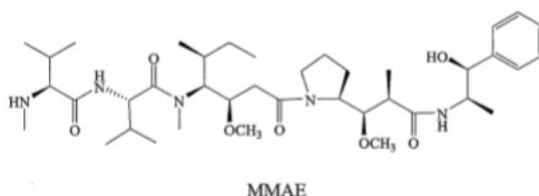
15 n es 0, 1, 2 o 3; y,

m es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

En realizaciones a modo de ejemplo, las toxinas enzimáticamente activas y sus fragmentos que podrían usarse incluyen la cadena diftérica A, fragmentos activos no aglutinantes de
 20 la toxina diftérica, la cadena de exotoxina A (de *Pseudomonas aeruginosa*), la cadena de ricina A, la cadena de abrin A, la cadena de modicina A, alfa-sarcina, proteínas de Aleurites fordii, proteínas de diantina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de momordica charantia, curcina, crotina, inhibidor de saponaria officinalis, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina o los tricotecenos. Véase, por
 25 ejemplo, el documento WO 93/21232, publicado el 28 de octubre de 1993. Se dispone de varios radionúclidos para la producción de anticuerpos radioconjugados, entre ellos, *por* ejemplo, ^{211}At , ^{212}Bi , ^{131}I , ^{131}In , ^{90}Y o ^{186}Re .

Un anticuerpo anti-BCMA o fragmentos del mismo de la presente invención también puede
 30 conjugarse con uno o más agentes citotóxicos, incluidos, entre otros, una calicheamicina, maytansinoides, dolastatinas, auristatinas, un tricoteceno y CC1065 o derivados de estas toxinas que tienen actividad tóxica. Entre los agentes citotóxicos adecuados figuran, por ejemplo, una auristatina que incluye la dovalina-valina-dolaisoleunina-dolaproina-efenilalanina (MMAF) y la monometil auristatina E (MMAE), así como formas de éster de
 35 MMAE, un agente aglutinante de surcos menores de ADN, un agente alquilante de surcos

- menores de ADN, un enediyne, una lexitropsina, una duocarmicina, un taxano, incluyendo paclitaxel y docetaxel, una puromicina, una dolastatina, un maytansinoide y un alcaloide de vinca. Los agentes citotóxicos específicos incluyen el topotecan, la morfolina-dodorubicina, la rizoxina, la cianomorfolina-dodorubicina, la dolastatina-10, la equinomicina, la combretastatina, la calicheamicina, la maytansina, la DM-1, la DM-4 y la netropsina. Otros agentes citotóxicos adecuados son los agentes antitubulínicos, como la auristatina, el alcaloide de la vinca, la podofilotoxina, el taxano, el derivado de la bacalina, la criptofisina, el maytansinoide, la combretastatina o la dolastatina. Entre los agentes de la antitubulina figuran la dimetilvalina-valinedolaisoleuina-dolaproinafenilalanina-p-fenilendiamina (AFP), el MMAF, el MMAE, la auristatina E, la vincristina, la vinblastina, la vindesina y la vinorelbina, VP-16, camptothecin, paclitaxel, docetaxel, epotilona A, epotilona B, nocodazol, colchicinas, colcimid, estramustina, cemadotina, discodermolide, maytansina, DM-1, DM-4 o eleuterobina.
- En una realización, un ADC anti-BCMA comprende un anticuerpo anti-BCMA ligado al MMAE o al MMAF.



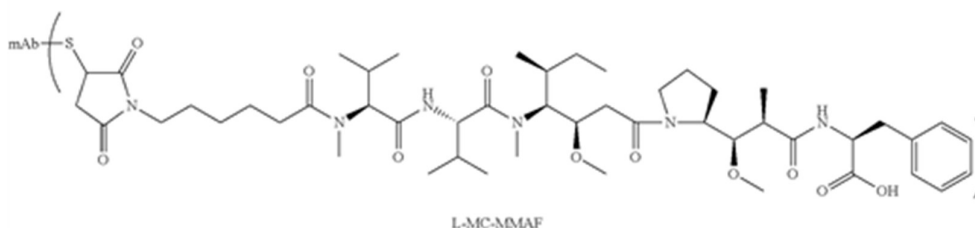
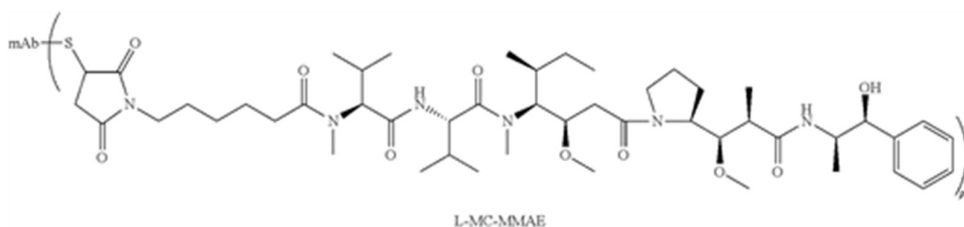
- Los enlazadores a modo de ejemplo incluyen enlazadores escindibles y no escindibles. Un enlazad o escindible puede ser susceptible de división en condiciones intracelulares. Los enlazadores escindibles adecuados incluyen, por ejemplo, un enlazad o peptídico escindible por una proteasa intracelular, como la proteasa lisosómica o una proteasa endosómica. En realizaciones a modo de ejemplo, el enlazad o puede ser un enlazad o de dipéptidos, como un enlazad o de valina-citrulina (val-cit) o un enlazad o de fenilalanina-lisina (phe-lys). Otros enlazadores adecuados son, por ejemplo, los hidrolizables a un pH inferi o a 5,5, como un enlazad o de hidracona. Otros enlazadores adecuados de separación son, por ejemplo, los enlazadores de disulfuro. Ejemplos de enlazadores son

el 6-maleimidocaproilo (MC), el maleimidopropanilo (MP), la valina-citrulina (val-cit), la alanina-fenilalanina (ala-phe), el p-aminobenziloxycarbonilo (PAB), N-succinimidilo 4(2-piridiltio)pentanoate (SPP), N-succinimidilo 4(N-maleimidometil)ciclohexano-1 carboxilato (SMCC) y N-succinimidilo (4-yodo-acetil) aminobenzoato (SIAB).

5

En una realización, un enlazante puede estar compuesto por una maleimida reactiva al tiol, un espaciador caproílico, un dipéptido de valina-5 citrulina, un p-aminobenziloxycarbonilo, un grupo de fragmentación autoinmolativo o un maleimidocaproilo resistente a la proteasa.

- 10 En otra realización, un ADC anti-BCMA comprende un anticuerpo anti-BCMA vinculado al MMAE o al MMAF por un enlazador MC como se representa en las siguientes estructuras:



- 15 Un ADC anti-BCMA descrita aquí puede contener cualquier anticuerpo anti-BCMA descrito aquí con cualquier agente citotóxico descrito aquí.

En una realización, un ADC anti-BCMA comprende un anticuerpo anti-BCMA que comprende una CDRH1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un
 20 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1; una CDRH2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2; una CDRH3 que comprende
 25 una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de

aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3; una CDRL1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4; una CDRL2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5; y/o una CDRL3 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:6; y está conjugado con MMAE o MMAF.

En otra realización más, un ADC anti-BCMA comprende un anticuerpo anti-BCMA que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1; una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2; una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3; una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4; una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5; y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y se conjuga con MMAF o MMAE.

En una realización, un ADC anti-BCMA comprende un anticuerpo anti-BCMA que comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7; y/o un VL que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:8; y está conjugado con MMAE o MMAF.

En otra realización más, un ADC anti-BCMA comprende un anticuerpo anti-BCMA que comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7; y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; y se conjuga con MMAF o MMAE.

En una realización, un ADC anti-BCMA comprende un anticuerpo anti-BCMA que comprende un HC que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, 99 % o 100 % de identidad de secuencia

a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:9; y/o una CL que comprenda una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:10; y se conjuga con MMAF o MMAE.

5

En otra realización más, un ADC anti-BCMA es el mafodotin belantamab que comprende un anticuerpo anti-BCMA que comprende un HC con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:9, y un LC con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:10; y está conjugado con el MMAF.

10

Preparación y caracterización de los ADC

En ciertas moléculas naturales de IgG1 hay 16 enlaces disulfuro (32 cisteínas o grupos sulfhidrilos). En ciertos aspectos, un anticuerpo puede reducirse de tal manera que sólo los cuatro enlaces disulfuro inter-cadena se reducen y conjugan con un agente citotóxico, permitiendo hasta ocho sitios de unión para el agente citotóxico. En otras palabras, la carga de fármaco ("DL"), es decir, el número de agentes citotóxicos por molécula de anticuerpo puede variar de 0 a 8 y se describen en este documento como DL0, DL2 (incluyendo DL2a y DL2b), DL4 (incluyendo DL4a, DL4b y DL4c), DL6 (incluyendo DL6a y DL6b) y DL8.

20

El proceso de conjugación puede dar lugar a una heterogeneidad en la unión fármaco-anticuerpo para una determinada composición de ADC, que varía tanto en 1) el número de fármacos unidas a cada molécula de anticuerpo como en 2) la ubicación del agente citotóxico. Esto puede conducir a una composición de ADC con varias especies de DL, como se ejemplifica en la FIG. 1. El término "composición del ADC", tal como se usa en este documento, se refiere a una composición que contiene una mezcla heterogénea de especies de anticuerpos que contienen varias cargas de fármacos ("DL"). (Véase, por ejemplo, la FIG. 2). La relación media fármaco-anticuerpo de toda la composición heterogénea del ADC se denomina aquí "promedio DAR" o "DAR". por ejemplo, una composición de ADC puede estar compuesta por una mezcla de especies de anticuerpos, cada una con su propia DL (algunas especies de la mezcla son DL2, algunas especies de la mezcla son DL4, algunas especies de la mezcla son DL6, y algunas especies de la mezcla son DL8) y el DAR medio de toda la composición puede ser de unos 4.

30

En otra realización, el término "porcentaje de DL" puede usarse para describir el porcentaje de una especie específica de DL dentro de la composición heterogénea del ADC (p o ejemplo, el porcentaje de DL2 es aproximadamente entre el 10 % y el 30 % de la composición total heterogénea del ADC).

5

En ciertos aspectos de la invención, los medicamentos pueden conjugarse con los anticuerpos mediante grupos sulfhidrilos en el anticuerpo. Los grupos sulfhidrilos pueden ser grupos sulfhidrilos en las cadenas laterales de la cisteína. Los residuos de cisteína pueden estar presentes de forma natural en un anticuerpo (p o ejemplo, disulfuros inter-

10 cadenas) o introducidos por otros medios, por ejemplo, la mutagénesis. Los procedimientos de conjugación de fármacos con grupos sulfhidrilos en anticuerpos son bien conocidos en el arte (véase, por ejemplo, la patente estadounidense N° 7,659,241, 7,498,298, y las publicaciones internacionales N° WO 2011/130613, WO 2014/152199, WO 2015/077605 y Bioconjugate Chem. 2005, 16, 1282-1290). Los anticuerpos suelen reducirse antes de la

15 conjugación a fin de que los grupos sulfhidrilos estén disponibles para la conjugación. Los anticuerpos pueden reducirse usando condiciones conocidas en el arte. Las condiciones de reducción son las que generalmente no causan una desnaturalización sustancial del anticuerpo y, en general, no afectan a la afinidad de unión al antígeno del anticuerpo.

20 En un aspecto de la invención, el agente reductor usado en la etapa de reducción es el TCEP (tris(2-carboxietil)fosfina) y el TCEP se añade, por ejemplo, en exceso durante 30 minutos a temperatura ambiente. por ejemplo, 250 L de una solución de 10 mM de TCEP a pH 7,4 reducirán fácilmente los disulfuros inter-cadena de 1 a 100 ug de anticuerpo en 30 minutos a temperatura ambiente. Sin embargo, pueden usarse otros agentes y

25 condiciones reductores. Entre los ejemplos de condiciones de reacción se incluyen temperaturas de 5 °C a 37 °C en un intervalo de pH de 5 a 8.

Existen varios procedimientos, conocidos por los expertos en la materia, para calcular el porcentaje de especies DL y/o el promedio de DAR en una composición de ADC. por

30 ejemplo, la heterogeneidad de los ADC unidas a las cisteínas se suele medir mediante la cromatografía de interacción hidrofóbica (CIH), que separa las especies de DL en función del número de fármacos cargados. También se han desarrollado ensayos LC-MS para evaluar la distribución de la DL. Pueden encontrarse procedimientos a modo de ejemplo para calcular la distribución de la carga de fármacos en una composición de ADC, por

35 ejemplo, en el Journal of Chromatography B 1060 (2017) 182-189.

Por ejemplo, la DL0 no tiene carga de fármaco en el anticuerpo. por ejemplo, el DL2 tiene una carga de fármaco de dos. En una realización, los sitios de conjugación de la DL2 son LC C214 y HC 224. por ejemplo, DL4 tiene una carga de fármaco de cuatro. En una realización, los sitios de conjugación de la DL4a son LC C214, HC 224, LC C214 y HC 224.

- 5 En una realización, los sitios de conjugación del DL4b son LC C230, HC 233, LC C230 y HC 233. por ejemplo, el DL6 tiene una carga de fármaco de seis. En una realización, los sitios de conjugación del DL6 son LC C214, HC 224, LC C230, HC 233, LC C230 y HC 233. por ejemplo, el DL8 tiene una carga de fármaco de ocho. En una realización, los sitios de conjugación del DL8 son LC C214, HC 224, LC C214, HC 224, LC C230, HC 233, LC
10 C230 y HC 233.

- En una realización, el porcentaje de una especie específica de DL (p o ejemplo, porcentaje de DL0, porcentaje de DL2, porcentaje de DL4a, porcentaje de DL4b, porcentaje de DL6, porcentaje de DL8) puede determinarse separando las especies individuales de DL
15 mediante cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC), calculando el área bajo la curva para cada pico de DL y dividiendo cada pico de DL por el área total bajo la curva para todas las especies de DL combinadas. En una realización, el promedio DAR puede calcularse a partir del área bajo la curva de cada especie DL usando la siguiente fórmula:

$$\%DL \text{ Componentex} = \frac{A_X}{A_0 + A_1 + A_2 + A_3 + A_{4a} + A_{4b} + A_5 + A_6 + A_8 + A_{10}} \times 100$$

$$DAR = \frac{(A_1 \times 2) + (A_2 \times 2) + (A_3 \times 2) + (A_{4a} \times 4) + (A_{4b} \times 4) + (A_5 \times 6) + (A_6 \times 6) + (A_8 \times 8) + (A_{10} \times 8)}{A_0 + A_1 + A_2 + A_3 + A_{4a} + A_{4b} + A_5 + A_6 + A_8 + A_{10}}$$

Donde:

$A_X =$

Área de pico de la carga de pico X

$X =$

$A_0, A_1, A_2, A_3, A_{4a}, A_{4b}, A_5, A_6, A_8, \text{ y } A_{10}$

$A_0, A_1, A_2, A_3, A_{4a}, A_{4b}, A_5, A_6, A_8, \text{ y } A_{10} =$ En área de pico de picos DL0, DL1, DL2, DL3, DL4a, DL4b, DL5, DL6, DL8 y DL10 (incluyendo solo picos $\geq$ DL (0.08%))

20

En una realización, el porcentaje de una subespecie DAR específica (p o ejemplo, el porcentaje de DL2a en la DL2 total) se determina por la recolección de una especie DL específica usando una combinación de técnicas analíticas que podrían incluir HIC, procedimientos de separación no reductores y técnicas de espectrometría de masas.

25

En una realización, una composición de ADC anti-BCMA tiene un promedio de DAR de unos 2 a unos 7, de unos 2 a unos 6, de unos 2,1 a unos 5,7, de unos 2,1 a unos 5,0, de

unos 2,1 a unos 4,6, aproximadamente 2,1 a aproximadamente 4,1, aproximadamente 2,1 a aproximadamente 3,5, aproximadamente 2,1 a aproximadamente 3,0, aproximadamente 3,0 a aproximadamente 5,7, aproximadamente 3,0 a aproximadamente 5,0, aproximadamente 3,0 a aproximadamente 4,6, aproximadamente 3,0 a aproximadamente 4,1, aproximadamente 3,0 a 3,5, 3,5 a 5,7, 3,5 a 5,0, 3,5 a 4,6, 3,5 a 4,1, 3,8 a 4,5, 4,1 a 5,7, 4,1 a 5,0, aproximadamente 4,1 a aproximadamente 4,6, aproximadamente 4,6 a aproximadamente 5,7, aproximadamente 4,6 a aproximadamente 5,0, aproximadamente 5,0 a aproximadamente 5,7, aproximadamente 2,1, aproximadamente 3,0, aproximadamente 3,5, aproximadamente 4,1, aproximadamente 4,6, aproximadamente 5,0 o aproximadamente 5,7

En otra realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, en la que el promedio de DAR es de unos 2,1 a unos 5,7, de unos 3,4 a unos 4,6, de unos 3,8 a unos 4,5 o unos 4.

En una realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el promedio de DAR es aproximadamente 2 a aproximadamente 6, aproximadamente 2,1 a aproximadamente 5,7, unos 3,4 a aproximadamente 4,6 o aproximadamente 3,8 a aproximadamente 4,5.

En una realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; en la que el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y en la que el promedio de DAR es de aproximadamente 2 a aproximadamente 6, de aproximadamente 2,1 a aproximadamente 5,7, de aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6 o de aproximadamente 3,8 a aproximadamente 4,5.

En una realización, la composición comprende el belantamab mafodotin, en el que el promedio de DAR es de aproximadamente 2 a aproximadamente 6, de aproximadamente 2,1 a aproximadamente 5,7, de aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6 o de aproximadamente 3,8 a aproximadamente 4,5.

5

En una realización, el porcentaje de especies de DL0 en una composición de ADC anti-BCMA es de aproximadamente 10 % o menos, de aproximadamente 5 % o menos, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 5 % o de aproximadamente 2,8 % a aproximadamente 4,7 %.

10

En una realización, el porcentaje de especies de DL2 en una composición de ADC anti-BCMA es de al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 15%, aproximadamente 15.8% a aproximadamente 26.3%, aproximadamente 15% a aproximadamente 27%, aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, o aproximadamente 10% a aproximadamente 40%.

15

En una realización, el porcentaje de especies de DL4a en una composición de ADC anti-BCMA es de al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, aproximadamente 35.5% a aproximadamente 37.9%, aproximadamente 35% a aproximadamente 38%, aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, o aproximadamente 20% a aproximadamente 50%. En otra realización, el porcentaje de especies DL4a es la especie predominante en la composición del ADC anti-BCMA y comprende aproximadamente un $\geq 30\%$, $\geq 40\%$, $\geq 50\%$, $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 80\%$ o $\geq 90\%$ de todas las especies combinadas.

20

25

En una realización, el porcentaje de especies de DL4b en una composición de ADC anti-BCMA es de al menos aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 7%, aproximadamente 7.1% a aproximadamente 8.5%, aproximadamente 7% a aproximadamente 9%, aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, o aproximadamente 1% a aproximadamente 15%.

30

En una realización, el porcentaje de especies de DL6 en una composición de ADC anti-BCMA es de al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 14%, aproximadamente 14.0% a aproximadamente 19.1%, aproximadamente 14% a

aproximadamente 20%, aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, o aproximadamente 5% a aproximadamente 30%.

5 En una realización, el porcentaje de especies DL8 en una composición de ADC anti-BCMA es de al menos 1%, al menos aproximadamente 6%, aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0%, aproximadamente 4% a aproximadamente 15%, o aproximadamente 1% a aproximadamente 20%.

10 En una realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, en el que el porcentaje de DL2 es aproximadamente del 15 % al aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de
15 DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

20 En una realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la
25 secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a
30 aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En una realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, donde el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En una realización, una composición comprende el belantamab mafodotin, en el que el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

El término "especies DAR no deseadas", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier especie DAR que no sea deseada en la composición final y que pueda tener un impacto negativo en ciertas propiedades (p o ejemplo, la unión con el objetivo, la eficacia, la seguridad, etc.) del producto terapéutico final. En una realización, una especie DAR no deseada es DL0, es decir, un anticuerpo que no se une al agente citotóxico después del proceso de conjugación. En una realización, el porcentaje de DL0 en la composición del ADC es menor o igual a aproximadamente 15 %, aproximadamente 14 %, aproximadamente 13 %, aproximadamente 12 %, aproximadamente 11 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 9 %, aproximadamente ≥ 70 , aproximadamente 7 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 1 % o aproximadamente 0,5 %. En otra realización, el porcentaje de DL0 en la composición del ADC es de un 1 % a un 10 %, de un 2 % a un 5 % o de un 2,0 % a un 4,8 %.

En una realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a cerca del 10 % o cerca del 5 %.

10

En una realización, una composición comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; en la que el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y en la que el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %.

15

En una realización, una composición comprende el belantamab mafodotin, y en la que el porcentaje de DL0 es menor o igual a un 10 % o un 5 % aproximadamente.

En una realización, una composición comprende el belantamab mafodotin, en la que el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10% o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

30

En ciertas realizaciones, el promedio de DAR o el porcentaje de DL impacta la inhibición del crecimiento celular y/o el volumen del tumor. En ciertas realizaciones, el DAR promedio no impacta la inhibición del crecimiento celular y/o el volumen del tumor. En otra realización, a medida que el promedio de DAR o el porcentaje de DL aumenta, la inhibición del crecimiento celular aumenta y/o el volumen del tumor disminuye. En otra realización,

35

una composición comprende el belantamab mafodotin, y a medida que aumenta el promedio de DAR o el porcentaje de DL de la composición, aumenta la inhibición del crecimiento de las células cancerosas y/o disminuye el volumen del tumor.

- 5 La potencia relativa de la inhibición del crecimiento celular puede determinarse midiendo la viabilidad celular de una línea celular (p o ejemplo, la línea celular del mieloma múltiple) después de la incubación con una composición descrita en el presente documento (p o ejemplo, el belantamab mafodotin). La viabilidad celular puede medirse usando un ensayo de viabilidad celular conocido por los expertos en la materia. La respuesta a la dosis (la
- 10 mitad de la concentración máxima efectiva o EC50) puede generarse usando un modelo logístico de regresión no lineal. Se puede calcular la relación entre el EC50 de un patrón de referencia y el EC50 de la muestra que contiene la composición para determinar la potencia relativa
- 15 En una realización una composición tiene una potencia relativa de inhibición del crecimiento celular de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,3 o aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1,1. En otra, una composición comprende un promedio de DAR de aproximadamente 2.1 a aproximadamente 5.7, y tiene una potencia relativa de inhibición del crecimiento celular de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1.3. En otra
- 20 realización, una composición comprende un promedio de DAR de aproximadamente 3.0 a aproximadamente 5.0 o aproximadamente 3.5 a aproximadamente 4.6, y tiene una potencia relativa de inhibición del crecimiento celular de 0,8 a 1,1. En otra realización, una composición comprende el belantamab mafodotina con un DAR medio de 3.0 a aproximadamente 5.0 o aproximadamente 3.5 a aproximadamente 4.6, y tiene una
- 25 potencia relativa de inhibición del crecimiento celular de unos 0,8 a unos 1,1.

En ciertas realizaciones, el promedio de DAR o el porcentaje de DL impacta la actividad de ADCC. En otra realización, el promedio del DAR o el porcentaje de la DL no afecta a la actividad del ADCC. En otra realización, una composición comprende el belantamab

30 mafodotin, y el promedio del DAR o el porcentaje de la DL impacta en la actividad del ADCC. En otra realización más, la composición comprende el belantamab mafodotin, y el promedio del DAR o el porcentaje de DL no afecta a la actividad del ADCC.

La potencia relativa de la actividad del ADCC puede medirse, por ejemplo, incubando el

35 mafodotín belantamab, las células (p o ejemplo, las células de mieloma múltiple) y las

células NK (células efectoras). Sin estar ligado a la teoría, el belantamab mafodotin se une al BCMA expresado en la superficie de la célula, y la región Fc del anticuerpo se une a FcγRIIIa en las células efectoras a través de su receptor FcγRIIIa. La unión de estos receptores en la superficie de las células efectoras da lugar a la síntesis y secreción de citoquinas (IFNγ), y a la liberación de gránulos (perforina y granzimas) que entran en el citoplasma de las células diana. Las granzimas inician un evento de señalización dentro de las células objetivo que causa la muerte de estas células por apoptosis. La fuente de las células NK pueden ser las células mononucleares de sangre periférica (PBMC), que pueden ser aisladas de la sangre entera humana. El BATDA (bis-(acetoximetil) 2,2':6',2"-terpiridina-6,6"-dicarboxilato) puede ser añadido para penetrar en la membrana de la célula objetivo para etiquetar la célula. Después de la citólisis, este ligando puede combinarse con una solución de europio DELFIA para formar un quelato altamente fluorescente y estable (EuTDA). La señal medida se correlaciona directamente con la cantidad de células lisadas. Se puede considerar que la actividad del ADCC es una proporción del valor o del EC50 de la muestra frente a la de un estándar de referencia.

En una realización una composición tiene una potencia relativa de actividad ADCC de aproximadamente 0,70 a aproximadamente 1,30 o aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1,1. En otra, una composición comprende un promedio de DAR de aproximadamente 2,1 a 5,7, y tiene una potencia relativa de actividad de ADCC de aproximadamente 0,5 a 1,3. En otra realización, una composición comprende un promedio de DAR de aproximadamente 3,0 a 5,0 o de 3,5 a 4,6, y tiene una potencia relativa de la actividad de ADCC de 0,8 a 1,1. En otra realización, una composición comprende el belantamab mafodotin con un promedio de DAR de aproximadamente 3,0 a 5,0 o de 3,5 a aproximadamente 4,6, y tiene una potencia relativa de la actividad de ADCC de aproximadamente 0,8 a 1,1.

En ciertas realizaciones, el promedio de DAR o el porcentaje de DL impacta en el BCMA. En otra realización, el promedio de DAR o el porcentaje de DL no impacta la unión al BCMA. En otra realización, una composición comprende el belantamab mafodotin, y el promedio de DAR o el porcentaje de DL impacta la unión al BCMA. En otra realización más, una composición comprende el belantamab mafodotin, y el promedio de DAR o el porcentaje de DL no afecta a la unión al BCMA. En una realización, el promedio de DAR o el porcentaje de DL puede debilitar la unión con la ACBM.

En una realización, una composición tiene un $\geq 70\%$, $\geq 75\%$, un 80% , un $\geq 90\%$, $\geq 95\%$ relativo a la unión a antígenos específicos de la BCMA. En otra incorporación, una composición comprende el belantamab mafodotin y tiene una unión relativa al antígeno específico de la BCMA superior al 85% o superior al 90% . En otra realización, una

5 composición comprende el belantamab mafodotin, tiene un promedio de DAR de aproximadamente 2,1 a aproximadamente 5,7 o aproximadamente 3,0 a aproximadamente 5,0 o aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,6, y tiene una relativa unión al antígeno específico BCMA de más del 85% o más del 90% .

10 En ciertas realizaciones, el promedio de DAR o el porcentaje de DL impacta en la FcR111a. En otra realización, el promedio del DAR o el porcentaje de DL no afecta a la unión con FcR111a. En otra realización, una composición comprende el belantamab mafodotin, y el DAR medio o el porcentaje de DL impacta vinculándose a FcR111a. En otra realización más, una composición comprende el mafodotín belantamab, y el promedio de DAR o porcentaje

15 de DL no afecta a la unión con FcR111a. En una realización, el promedio de DAR o el porcentaje de DL puede debilitar la unión a la FcR111a.

En una realización, una composición tiene un $\geq 70\%$, $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$ de unión relativa de FcR111a. En otra realización, una composición comprende el belantamab

20 mafodotin y tiene una unión relativa de FcR111a superior al 85% o superior al 90% . En otra realización, una composición comprende el mafodotín belantamab, tiene un promedio DAR de aproximadamente 2,1 a aproximadamente 5,7 o aproximadamente 3,0 a aproximadamente 5,0 o aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,6, y tiene una unión relativa FcR111a de más del 85% o más del 90% .

25 Entre otros procedimientos conocidos por los expertos en la materia, la unión de la BCMA y la FcR111a por una proteína de unión a antígenos anti-BCMA, por ejemplo, la mafodotina belantamab, puede medirse usando la resonancia plasmónica superficial (SPR). En un ejemplo, la mafodotina belantamab se inyecta y es capturada por la proteína A inmovilizada

30 en un chip sens o CM5. A continuación se inyecta el BCMA y se une al belantamab mafodotin capturado. A continuación, se inyecta FcγR111a y se une al belantamab mafodotin capturado. Las concentraciones funcionales de la unión del mafodotín belantamab al BCMA y FcγR111a pueden calcularse a partir de una curva estándar de referencia e informarse como la concentración de unión del BCMA o FcγR111a, respectivamente. La

35 concentración total de mafodotina de belantamab de la muestra puede predeterminarse

mediante la absorbencia a 280 nm. La actividad de enlace específica (%) puede calcularse dividiendo la concentración de enlace del BCMA o FcγRIIIa por la absorbencia a, por ejemplo, *la concentración de 280 nm*.

- 5 En ciertas realizaciones, el promedio de DAR o el porcentaje de DL impacta en el FcRn. En otra realización, el promedio de DAR o el porcentaje de DL no impacta la unión a FcRn. En otra realización, una composición comprende el belantamab mafodotin, y el DAR medio o el porcentaje de DL impacta al unirse a la FcRn. En otra realización más, una composición comprende el mafodotín belantamab, y el promedio de DAR o porcentaje de DL no afecta
- 10 a la unión con el FcRn. En una realización, el promedio de DAR o el porcentaje de DL puede debilitar la unión a la FcRn.

La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a una proteína de unión a antígenos anti-BCMA, por ejemplo, *la mafodotina belantamab*, puede medirse mediante la resonancia plasmónica

15 superficial (SPR). El belantamab mafodotin puede ser capturado por el FcRn, que se inmoviliza en un chip sens o de ácido nitrilotriacético (NTA). La concentración de enlace de FcRn de la muestra puede determinarse mediante la interpolación de la respuesta de enlace en una curva de calibración. La actividad de enlace específica (%) se calcula dividiendo la concentración de enlace de FcRn por la concentración total de proteína.

20

Cuando una proteína de unión a antígenos anti-BCMA comprende la mafodotina belantamab, los procedimientos de SPR descritos en el presente documento para la unión a antígenos específicos, FcγRIIIa y la unión FcRn pueden usar un estándar de referencia de belantamab o mafodotina belantamab. El estándar de referencia del belantamab o del

25 belantamab mafodotin puede usarse en ensayos para obtener datos sobre la idoneidad del sistema y la comparabilidad de las muestras, a fin de garantizar que los procedimientos funcionen adecuadamente. El patrón de referencia puede permitir el establecimiento de una curva de calibración y las concentraciones de las muestras se interpolan a partir de la curva. por ejemplo, un patrón de referencia puede ser una composición que comprenda

30 una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO:10 y que comprenda un contenido conocido de DL y/o DAR promedio.

Entre las normas de referencia a modo de ejemplo pueden figurar muestras de belantamab

35 mafodotin con componentes/cantidades conocidas de especies DL y/o DAR promedio.

Composiciones farmacéuticas

Una composición descrita aquí puede ser en forma de una composición farmacéutica. Una "composición farmacéutica" puede comprender una composición descrita aquí (*es decir*, ingrediente activo), y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El o los excipientes deben ser aceptables en el sentido de que sean compatibles con los demás ingredientes de la formulación, que sean capaces de formularse farmacéuticamente, que no sean perjudiciales para el receptor de los mismos y/o que no interfieran con la eficacia del ingrediente activo.

10

Tal como se usa en el presente documento, el "excipiente farmacéutico aceptable" puede incluir todos y cada uno de los disolventes, diluyentes, portadores, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antimicóticos, agentes isotónicos y/o retardadores de la absorción. Entre los ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables figuran uno o más de los agentes amortiguadores, agua, solución salina, solución salina amortiguadora de fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, poliol, azúcares, polialcoholes como manitol, sorbitol o cloruro de sodio. conservantes; co-solventes; antioxidantes como el ácido ascórbico y la metionina; agentes quelantes como el EDTA; complejos metálicos (p o ejemplo, complejos de proteínas Zn^{2+}); polímeros biodegradables; y/o contraiones formadores de sal como el sodio o el potasio.

20

La naturaleza precisa del excipiente u otro material puede depender de la vía de administración, que puede ser, por ejemplo oral, rectal, nasal, tópica (incluida la bucal y sublingual), vaginal, parenteral (incluida la subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural) e intratumoral. Se apreciará que el excipiente preferido puede variar, por ejemplo, según el estado del receptor y la enfermedad a tratar.

25

Una mezcla de excipientes y concentraciones de cada uno de ellos juntos forman una "formulación farmacéutica" (o "fórmula"). La formulación puede estar en forma líquida o liofilizada. La composición de una formulación líquida puede llenarse en recipientes y congelarse. En ciertas realizaciones, las alícuotas de la formulación congelada que componen la composición pueden ser liofilizadas. El liofilizado puede reconstituirse

30

mediante la adición de agua u otra solución acuosa para producir una formulación reconstituida que comprenda la composición.

5 En algunas realizaciones, una proteína de unión a antígenos anti-BMCA está presente en una formulación a una concentración de al menos unos 10 mg/mL o al menos unos 20 mg/mL. En algunas representaciones, una proteína de unión a antígenos anti-BMCA está presente en una formulación a una concentración de entre unos 20 mg/mL y unos 100 mg/mL o de unos 20 mg/mL a unos 60 mg/mL. En algunas realizaciones, la concentración de una proteína de unión a antígenos anti-BCMA en la formulación es de unos 20 mg/mL, 10 unos 25 mg/mL, unos 50 mg/mL, unos 60 mg/mL o unos 100 mg/mL. En una realización, una proteína de unión a antígenos anti-BMCA está presente en una formulación líquida a una concentración de unos 20 mg/mL o unos 25 mg/mL. En otro caso, una proteína de unión a antígenos anti-BMCA está presente en una formulación liofilizada a una concentración de unos 50 mg/mL o unos 60 mg/mL. En otra realización más, la proteína 15 de unión a antígenos anti-BMCA está presente en una formulación reconstituida a una concentración de unos 50 mg/mL.

En ciertas realizaciones, un agente amortiguado es un amortiguado de citrato. La amortiguación de citrato puede lograrse, por ejemplo, mediante el uso de un sistema de 20 ácido conjugado/base conjugada (citrato de sodio/ácido cítrico) o mediante la valoración de HCl de una solución de citrato de sodio. En ciertas realizaciones, la concentración de una solución tampón de citrato es de unos 10 mM a unos 30 mM. En las realizaciones preferidas, la concentración de una solución tampón de citrato es de 25 mM. En algunas realizaciones, un agente amortiguado es un amortiguado de histidina en una 25 concentración de unos 5 mM a unos 35 mM.

Se puede usar un agente amortiguado para ayudar a mantener los intervalos de pH preferidos. En ciertas representaciones, el pH de una formulación es de 5,5 a 7 o de 5,9 a 6,5, preferiblemente de 6,2.

30

En algunas realizaciones, una formulación comprende un poliol. En algunas realizaciones, un poliol es un azúcar, y preferiblemente un azúcar no reductor. En algunas representaciones, un azúcar no reductor es la trehalosa. En algunas realizaciones, la formulación comprende trehalosa en el intervalo de unos 120 mM a unos 240 mM. En otra 35 realización, la formulación comprende la trehalosa a unos 200 mM.

En una realización, una formulación comprende un agente quelante. En otro, un agente quelante es el EDTA. En ciertas realizaciones, la formulación comprende EDTA en una concentración de 0,01 mM a cerca de 0,1 mM. En otra realización, la formulación comprende EDTA a una concentración de 0,05 mM.

5

En algunas realizaciones, una formulación comprende un surfactante. Los "surfactantes" son agentes activos de superficie que pueden ejercer su efecto en las superficies de las interfaces sólido-sólido, sólido-líquido, líquido-líquido y líquido-aire debido a su composición química, que contiene grupos hidrófilos e hidrófobos. Los surfactantes pueden reducir la concentración de proteínas en soluciones diluidas en las interfaces aire-agua y/o agua-sólido donde las proteínas pueden ser adsorbidas y potencialmente agregadas. Los surfactantes pueden unirse a interfaces hidrofóbicas en las formulaciones de proteínas. Algunos surfactantes no iónicos aceptables por vía parenteral comprenden grupos de polisorbato o poliéter. El polisorbato 20 y 80 son estabilizadores adecuados de los surfactantes en las formulaciones de la invención. En algunos casos, una formulación comprende el polisorbato 20 o el polisorbato 80 en un intervalo de 0,01 % a 0,05 %. En otra realización, una formulación comprende el polisorbato 20 o el polisorbato 80 a un 0,02 %. En una realización preferida, una formulación comprende el polisorbato 80 a un 0,02 % aproximadamente.

20

Uno de los aspectos de la invención se basa en una formulación que comprende desde unos 20 mg/mL hasta unos 100 mg/mL de una proteína de unión al antígeno anti-BCMA, desde unos 10 mM hasta unos 25 mM de un agente amortiguador, desde unos 120 mM hasta unos 240 mM de un poliol, y un pH en el intervalo de 5,5 a 6,5.

25

En una de las versiones, la formulación comprende una proteína de unión al antígeno anti-BCMA de unos 20 mg/mL a unos 60 mg/mL, un tampón de citrato de unos 10 mM a unos 30 mM, trehalosa de unos 120 mM a unos 240 mM, EDTA de unos 0,01 mM a unos 0,1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 de unos 0,01 % a unos 0,05 %, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

30

En una de las realizaciones, una composición comprende un anticuerpo en una formulación, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida

35

en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y en el que la formulación comprende el anticuerpo a unos 20 mg/mL hasta unos 60 mg/mL, tampón de citrato a unos 10 mM hasta unos 30 mM, trehalosa a unos 120 mM hasta unos 240 mM, EDTA a unos 0,01 mM a unos 0,1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 a unos 0,01 % a unos 0,05 %, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

En una realización, una composición comprende un anticuerpo en una formulación, en la que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; y en la que la formulación comprende el anticuerpo a unos 20 mg/mL a unos 60 mg/mL, tampón de citrato a unos 10 mM a unos 30 mM, trehalosa a unos 120 mM a unos 240 mM, EDTA a unos 0,01 mM a unos 0,1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 a unos 0,01 % a unos 0,05 %, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

En una de ellas, la composición comprende un anticuerpo en una formulación, en la que el anticuerpo es el belantamab; y en la que la formulación comprende el belantamab a unos 20 mg/mL a unos 60 mg/mL, tampón de citrato a unos 10 mM a unos 30 mM, trehalosa a unos 120 mM a unos 240 mM, EDTA a unos 0,01 mM a unos 0,1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 a unos 0,01 % a unos 0,05 %, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

En una de ellas, una composición comprende un ADC en una formulación, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; donde la citotoxina es MMAE o MMAF; y donde la formulación comprende ADCen aproximadamente 20 mg/mL a aproximadamente 60 mg/mL, tampón de citrato en aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, trehalosa en aproximadamente 120 mM a aproximadamente 240 mM, EDTA en aproximadamente 0,01 mM a unos 0,1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 a unos 0,01 % a unos 0,05 %, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

En una de ellas, la composición comprende un ADC en una formulación, en la que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; en la que la citotoxina es MMAF o MMAE; y en la que la formulación comprende un ADC de unos 20 mg/mL a unos 60 mg/mL, tampón de citrato de unos 10 mM a unos 30 mM, trehalosa de unos 120 mM a unos 240 mM, EDTA de unos 0,01 mM a unos 0,1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 a unos 0,01 % a unos 0,05 %, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

En una de ellas, la composición comprende un ADC en una formulación, en la que el ADC es el belantamab mafodotin; y en la que la formulación comprende el belantamab mafodotin a unos 20 mg/mL a unos 60 mg/mL, tampón de citrato a unos 10 mM a unos 30 mM, trehalosa a unos 120 mM a unos 240 mM, EDTA a unos 0,01 mM a unos 0,1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 a unos 0,01 % a unos 0,05 %, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

En una de ellas, la composición comprende el belantamab mafodotin en una formulación que comprende unos 20 mg/mL, unos 25 mg/mL, unos 50 mg/mL o 60 mg/mL de belantamab mafodotin, 25 mM de tampón de citrato, 200 mM de trehalosa, 0,05 mM de EDTA disódico, 0,02 % de polisorbato u 80 de polisorbato 80 a un pH de entre 5,9 y 6,5 aproximadamente.

Una formulación "estable" es aquella en la que la proteína que contiene conserva esencialmente su estabilidad física y/o química durante la fabricación, el transporte, el almacenamiento y la administración. La estabilidad puede medirse a una temperatura seleccionada durante un período de tiempo determinado. por ejemplo, para un producto almacenado a una temperatura recomendada de 2 °C a 8 °C, la formulación es estable a temperatura ambiente, aproximadamente 30 °C o a 40 °C, durante al menos 1 mes y/o estable a unos 2 a 8 °C durante al menos 1 año y preferiblemente durante al menos 2 años. por ejemplo, el grado de agregación durante el almacenamiento puede usarse como indicad o de la estabilidad de las proteínas. Así, una formulación "estable" puede ser aquella en la que, por ejemplo, menos del 10 % y preferiblemente menos del 5 % de la proteína está presente como agregado en la formulación. Existen diversas técnicas analíticas para medir la estabilidad de las proteínas que están disponibles en el arte y que se revisan, por ejemplo, en Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) y Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993).

En ciertos aspectos de la invención, una formulación permite que la composición permanezca estable a la congelación, descongelación y/o mezcla.

5 Dentro todavía otro aspecto, la invención presente está dirigida a un artículo de fabricación, p. ej., un kit, comprendiendo un contenedor que sostiene una composición en una formulación descrita aquí. En uno de los aspectos se proporciona un dispositivo de inyección que comprende la formulación. El dispositivo de inyección puede comprender un dispositivo inyector o de pluma o un dispositivo autoinyector. En uno de los aspectos, la formulación está contenida en una jeringa precargada.

10

Procedimientos de tratamiento y composiciones para su uso

El objetivo de la presente invención es proporcionar un enfoque terapéutico para el tratamiento de trastornos o enfermedades relacionados con las células B, tales como enfermedades mediadas por anticuerpos o por células plasmáticas o malignidades de las células plasmáticas (p o ejemplo, cánceres tales como el mieloma múltiple), u otras enfermedades que puedan ser tratadas por una proteína de unión al antígeno anti-BCMA. En particular, es objetivo de la presente invención proporcionar composiciones que comprendan una proteína de unión a antígenos anti-AGAC, por ejemplo, anticuerpos anti-AGAC, que se unan específicamente a la AGAC (*p o ejemplo*, la AGAC humana) y modulen (es decir, inhiban o bloqueen) la interacción entre la AGAC y sus ligandos, como el BAFF y/o el APRIL, en el tratamiento de enfermedades y trastornos que respondan a la modulación de esa interacción.

25 En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para tratar un sujeto (p o ejemplo, un paciente humano) que padece trastornos o enfermedades relacionados con las células B, como enfermedades mediadas por anticuerpos o por células plasmáticas o malignidades de las células plasmáticas (p o ejemplo, cánceres como el mieloma múltiple); dicho procedimiento comprende el paso de administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de proteína de unión a antígenos anti-BCMA descrita en el presente documento.

30

En otra realización, la invención presente proporciona para un procedimiento de tratar un paciente de cáncer, procedimiento que comprende el paso de administrar a dicho paciente

una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de proteína de unión a antígeno anti-BCMA descrito aquí.

En el presente documento, los términos "cáncer" y "tumor" se usan indistintamente y, en forma singular o plural, se refieren a las células que han sufrido una transformación, tal como la transformación maligna, que las hace patológicas para el organismo anfitrión. Las células cancerosas primarias pueden distinguirse fácilmente de las no cancerosas mediante técnicas bien establecidas, en particular el examen histológico. La definición de célula cancerosa, tal como se usa en el presente documento, incluye no sólo una célula cancerosa primaria, sino cualquier célula derivada de un ancestro de célula cancerosa. Esto incluye las células cancerosas metastatizadas, y los cultivos in vitro y las líneas celulares derivadas de las células cancerosas. Cuando se hace referencia a un tipo de cáncer que normalmente se manifiesta como un tumor sólido, un tumor "clínicamente detectable" es aquel que se puede detectar sobre la base de la masa tumoral; por ejemplo, mediante procedimientos como la tomografía computarizada (TC), la resonancia magnética (RMN), los rayos X, el ultrasonido o la palpación en el examen físico, y/o que se puede detectar debido a la expresión de uno o más antígenos específicos del cáncer en una muestra que se puede obtener de un paciente. Los tumores pueden ser un cáncer hematopoyético (o hematológico o hematológico o relacionado con la sangre), por ejemplo, los cánceres derivados de células sanguíneas o células inmunitarias, que pueden denominarse "tumores líquidos". Entre los ejemplos específicos de afecciones clínicas basadas en tumores hematológicos se incluyen leucemias como la leucemia mielocítica crónica, la leucemia mielocítica aguda, la leucemia linfocítica crónica y la leucemia linfocítica aguda; malignidades de las células plasmáticas como el mieloma múltiple, el MGUS y la macroglobulinemia de Waldenstrom; linfomas como el linfoma no Hodgkin, el linfoma de Hodgkin y otros similares.

El cáncer puede ser cualquiera en el que esté presente un número anormal de células blásticas o una proliferación celular no deseada o que se diagnostique como un cáncer hematológico, incluyendo malignidades tanto linfoides como mieloides. Las neoplasias mieloides malignas incluyen, entre otras, la leucemia mieloide (o mielocítica o mielógena o mieloblástica) aguda (indiferenciada o diferenciada), la leucemia promieloide (o promielocítica o promielógena o promieloblástica) aguda, la leucemia mielomonocítica (o mielomonoblástica) aguda, la leucemia monocítica (o monoblástica) aguda, la eritroleucemia y la leucemia megacariocítica (o megacarioblástica). Estas leucemias

pueden denominarse conjuntamente como leucemia mieloide (o mielocítica o mielógena) aguda (LMA). Las neoplasias mieloides también incluyen trastornos mieloproliferativos (MPD) que incluyen, entre otros, la leucemia mielógena (o mieloide) crónica (LMC), la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), la trombocitemia esencial (o trombocitosis) y la policitemia vera (PCV). Las neoplasias mieloides también incluyen la mielodisplasia (o síndrome mielodisplásico o SMD), que puede denominarse anemia refractaria (AR), anemia refractaria con exceso de blastos (RAEB) y anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (RAEBT); así como mielofibrosis (MFS) con o sin metaplasia mieloide agnógena, entre otras.

10

Los cánceres hematopoyéticos también incluyen neoplasias linfoides, que pueden afectar a los ganglios linfáticos, bazo, médula ósea, sangre periférica y/o sitios extraganglionares. Los cánceres linfoides incluyen neoplasias malignas de células B, que incluyen, pero no se limitan a, linfomas no Hodgkin de células B (B-NHL). Los B-NHL pueden ser indolentes (o de bajo grado), de grado intermedio (o agresivos) o de alto grado (muy agresivos). Los linfomas indolentes de células B incluyen el linfoma folicular (FL); el linfoma linfocítico pequeño (SLL); el linfoma de zona marginal (MZL) que incluye el MZL ganglionar, el MZL extraganglionar, el MZL esplénico y el MZL esplénico con linfocitos vellosos; el linfoma linfoplasmocitario (LPL); y el linfoma de tejido linfático asociado a la mucosa (MALT o zona marginal extraganglionar). Los B-NHL de grado intermedio incluyen el linfoma de células del manto (MCL) con o sin implicación leucémica, el linfoma difuso de células grandes (DLBCL), el linfoma folicular de células grandes (o de grado 3 o grado 3B) y el linfoma mediastínico primario (PML). Los B-NHL de alto grado incluyen el linfoma de Burkitt (BL), el linfoma similar a Burkitt, el linfoma de células pequeñas sin hendiduras (SNCCCL) y el linfoma linfoblástico. Otros B-NHLs incluyen el linfoma inmunoblástico (o inmunocitoma), el linfoma de efusión primaria, los linfomas asociados al VIH (o relacionados con el SIDA), y el trastorno linfoproliferativo post-trasplante (PTLD) o linfoma. Las enfermedades malignas de las células B también incluyen, entre otras, la leucemia linfocítica crónica (CLL), la leucemia prolinfocítica (PLL), la macroglobulinemia de Waldenstrom (WM), la leucemia de células vellosas (HCL), la leucemia de grandes linfocitos granulares (LGL), la leucemia linfática aguda (o linfocítica o linfoblástica) y la enfermedad de Castleman. El LNHL también puede incluir el linfoma no Hodgkin de células T (LNHT), que incluye, entre otros, el linfoma no Hodgkin de células T no especificado de otra manera (NOS), el linfoma periférico de células T (PTCL), el linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), linfoma angioinmunoblástico (AILD), linfoma nasal de células T asesinas naturales (NK), linfoma

35

gamma/delta, linfoma cutáneo de células T, micosis fungoide y síndrome de Sezary, entre otros.

Los cánceres hematopoyéticos también incluyen el linfoma (o enfermedad) de Hodgkin, incluyendo el linfoma de Hodgkin clásico, el linfoma de Hodgkin esclerosante nodular, el linfoma de Hodgkin de celularidad mixta, el linfoma de Hodgkin con predominio de linfocitos (LP), el linfoma de Hodgkin LP nodular y el linfoma de Hodgkin con agotamiento de linfocitos. Los cánceres hematopoyéticos también incluyen enfermedades de las células plasmáticas o cánceres como el mieloma múltiple (MM), incluido el MM ardiente, la gammapatía monoclonal de importancia indeterminada (o desconocida o poco clara) (MGUS), el plasmacitoma (óseo, extramedular), el linfoma linfoplasmocitario (LPL), la macroglobulinemia de Waldenstroem, la leucemia de células plasmáticas y la amiloidosis primaria (AL). Los cánceres hematopoyéticos también pueden incluir otros cánceres de células hematopoyéticas adicionales, como los leucocitos polimorfonucleares (o neutrófilos), basófilos, eosinófilos, células dendríticas, plaquetas, eritrocitos y células asesinas naturales. Los tejidos que incluyen células hematopoyéticas, denominados en el presente documento "tejidos de células hematopoyéticas", incluyen la médula ósea, la sangre periférica, el timo y los tejidos linfáticos periféricos, como el bazo, los ganglios linfáticos, los tejidos linfáticos asociados con la mucosa (como los tejidos linfáticos asociados con el intestino), las amígdalas, las manchas de Peyer y el apéndice, y los tejidos linfáticos asociados con otras mucosas, por ejemplo, los revestimientos bronquiales.

En una realización, el cáncer es seleccionado del grupo que consiste en cáncer colorrectal (CRC), gástrico, esofágico, cervical, de vejiga, de mama, de cabeza y cuello, de ovario, de melanoma, de carcinoma de células renales (RCC), de células escamosas EC, de carcinoma de pulmón de células no pequeñas, de mesotelioma, de páncreas y de próstata.

El término "tratamiento" y sus derivados, tal como se usa en este documento, se refiere a la terapia terapéutica. En referencia a una afección particular, tratar significa: 1) Mejorar la afección o una o más de las manifestaciones biológicas de la misma; 2) interferir en a) uno o más puntos de la cascada biológica que conduce a la afección o es responsable de ella o b) una o más de las manifestaciones biológicas de la misma; 3) aliviar uno o más de los síntomas, efectos o efectos secundarios asociados a la afección o uno o más de los síntomas, efectos o efectos secundarios asociados a la afección o a su tratamiento; (4) para retardar la progresión de la afección o una o más de las manifestaciones biológicas

de la afección y/o (5) para curar dicha afección o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección eliminando o reduciendo a niveles indetectables una o más de las manifestaciones biológicas de la afección durante un período de tiempo considerado como un estado de remisión para esa manifestación sin tratamiento adicional durante el período de remisión. Un experto en la materia comprenderá la duración del tiempo considerado como remisión para una enfermedad o afección particular.

Los trastornos de las células B pueden dividirse en defectos de desarrollo de las células B/producción de inmunoglobulinas (p o ejemplo, inmunodeficiencias) y proliferación excesiva/incontrolada (p o ejemplo, *linfomas*, leucemias). Tal como se usa en este documento, el trastorno de células B se refiere a ambos tipos de enfermedades, y se proporcionan procedimientos para tratar los trastornos de las células B con las composiciones descritas en este documento.

En un aspecto particular, la enfermedad o el trastorno es el Mieloma Múltiple (MM), la Leucemia Linfocítica Crónica (CLL), el Plasmacitoma Solitario (Hueso, Extramedular), la amiloidosis (AL), el Mieloma Múltiple Ardiente (SMM), el Plasmacitoma Solitario (Hueso, Extramedular) o la Macroglobulinemia de Waldenström.

También se contempla la terapia profiláctica. El experto apreciará que "prevención" no es un término absoluto. En medicina, por "prevención" se entiende la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la probabilidad o gravedad de una afección o manifestación biológica de la misma o para retrasar la aparición de dicha afección o manifestación biológica de la misma. La terapia profiláctica es apropiada, por ejemplo, cuando se considera que un sujeto tiene un alto riesgo de desarrollar cáncer, como cuando un sujeto tiene un fuerte historial familiar de cáncer o cuando un sujeto ha estado expuesto a un carcinógeno.

En el presente documento se usan indistintamente los términos "sujeto" o "paciente" y se definen en sentido amplio para incluir a toda persona que necesite tratamiento, por ejemplo, una persona que necesite tratamiento contra el cáncer. Un sujeto puede incluir a un mamífero. En una realización, el sujeto es un paciente humano. El sujeto que necesita tratamiento contra el cáncer puede incluir pacientes de diversas etapas, entre ellas, recién diagnosticados, en recaída, refractarios, enfermedad progresiva, remisión y otros. El sujeto que necesita tratamiento contra el cáncer también puede incluir pacientes que han sido

sometidos a un trasplante de células madre o que se consideran inelegibles para el trasplante.

5 Los sujetos pueden ser preseleccionados para ser seleccionados para el tratamiento con las composiciones aquí descritas. En una realización, una muestra del sujeto se prueba para la expresión de BCMA antes del tratamiento con las composiciones descritas aquí.

10 Los sujetos pueden haber tenido al menos una terapia de cáncer previa antes de ser tratados con las composiciones de la presente invención. En una realización, el sujeto ha sido tratado con al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6 o al menos 7 terapias de cáncer previas antes de ser tratado con las composiciones de la presente invención.

15 En otra realización, el sujeto tiene un cáncer recién diagnosticado y ha tenido 0 terapias previas antes de ser tratado con las composiciones de la presente invención.

Las composiciones de la invención pueden ser administradas por cualquier vía apropiada. En el caso de algunas composiciones, las vías adecuadas son la oral, rectal, nasal, tópica (incluida la bucal y sublingual), vaginal, parenteral (incluida la subcutánea, intramuscular, 20 intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural) e intratumoral. Se apreciará que la ruta preferida puede variar según, por ejemplo, el estado del receptor y el cáncer que se vaya a tratar.

25 En ciertas realizaciones, se administra una composición de la invención como una composición farmacéutica.

El término "administrar", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la entrega de las composiciones aquí descritas para lograr un objetivo terapéutico. Las composiciones pueden administrarse en un intervalo de administración durante un período suficiente para 30 lograr un beneficio clínico. La composición puede ser administrada al sujeto de tal manera que la terapia se dirija a un sitio en particular.

En algunas realizaciones, la composición se administra por inyección. por lo tanto, en un aspecto se proporciona un dispositivo de inyección que comprende la composición, la

composición farmacéutica o la formulación de la invención. El dispositivo de inyección puede comprender un dispositivo inyector o de bolígrafo o un dispositivo autoinyector.

5 La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" o "dosis terapéutica efectiva" de una composición, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad efectiva en la prevención o el tratamiento o el alivio de un síntoma de un trastorno o alteración mediada por las células B. Las cantidades terapéuticamente eficaces y los regímenes de tratamiento se determinan generalmente de manera empírica y pueden depender de factores como la edad, el peso y el estado de salud del paciente y la enfermedad o el
10 trastorno que se vaya a tratar. Esos factores son competencia del médico tratante.

La dosis terapéutica apropiada de la composición que comprende una proteína de unión al antígeno anti-BCMA será determinada fácilmente por los expertos en la materia. Las dosis adecuadas de las composiciones aquí descritas pueden calcularse para los pacientes en
15 función de su peso, por ejemplo, las dosis adecuadas pueden ser del orden de 0,1 mg/kg a unos 20 mg/kg, por ejemplo, de 1 mg/kg a unos 20 mg/kg, por ejemplo, de 10 mg/kg a unos 20 mg/kg o por ejemplo, de 1 mg/kg a unos 15 mg/kg, por ejemplo, de 10 mg/kg a unos 15 mg/kg.

20 En una realización, una dosis terapéutica efectiva de la composición que comprende una proteína de unión a antígenos anti-BCMA está en el intervalo de unos 0,03 mg/kg a unos 4,6 mg/kg. En otra realización, una dosis terapéuticamente efectiva de la composición que comprende una proteína de unión a antígenos anti-Alcalárea Binacional es de 0,03 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,12 mg/kg, 0,24 mg/kg, 0,48 mg/kg, 0,96 mg/kg, 1,92 mg/kg, 3,4 mg/kg o 4,6
25 mg/kg. En otra realización más, una dosis terapéutica efectiva de la composición que comprende una proteína de unión a antígenos anti-BCMA es de 1,9 mg/kg, 2,5 mg/kg o 3,4 mg/kg.

En ciertas realizaciones, una composición puede ser coadministrada a un sujeto con uno
30 o más agentes terapéuticos adicionales. En otra realización, una composición puede ser co-administrada a un sujeto con uno o más agentes terapéuticos adicionales para el cáncer. El agente terapéutico adicional para el cáncer puede incluir, entre otros otros medicamentos inmunomoduladores, anticuerpos terapéuticos (p o ejemplo, un anticuerpo anti-CD38 como el daratumumab), terapias CAR-T, BiTEs, inhibidores de la HDAC,

inhibidores de la proteasa (p o ejemplo, bortezomib), compuestos antiinflamatorios y medicamentos imiD inmunomoduladores (p o ejemplo, talidomida y sus análogos).

5 P o "coadministrado" se entiende la administración de dos o más composiciones farmacéuticas o tratamientos diferentes (p o ejemplo, *el* tratamiento de radiación) que se administran a un sujeto por combinación en la misma composición farmacéutica o en composiciones farmacéuticas separadas. Así pues, la coadministración implica la administración al mismo tiempo de una única composición farmacéutica que comprende dos o más agentes farmacéuticos o la administración de dos o más composiciones
10 diferentes a un mismo sujeto en el mismo momento o en momentos diferentes.

En uno de los aspectos de la invención, esta proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad o trastorno de las células B en un sujeto que lo necesite mediante la administración de una dosis terapéuticamente efectiva de cualquiera de las composiciones
15 que comprenden una proteína de unión al antígeno anti-BCMA como se describe en el presente documento.

En una realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéutica efectiva de una
20 composición que comprende un ADC anti-BCMA, en la que el promedio de DAR es de aproximadamente 3,4 a 4,6.

En otra realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente efectiva de
25 una composición que comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de
30 aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en el que el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y en el que el promedio de DAR es aproximadamente 3,4 a cerca de 4,6.

En otra realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un
35 sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente efectiva de

una composición que comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:8; en la que el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y en la que el promedio de DAR es de aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6.

En otra realización más, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto que necesita de ello, que comprende la administración de una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende el belantamab mafodotin, en la que el promedio de DAR es de 3,4 a aproximadamente 4,6.

En otra realización más, la invención proporciona un procedimiento para tratar el mieloma múltiple en un sujeto que lo necesita y que comprende la administración de una dosis terapéutica efectiva de una composición que comprende el belantamab mafodotin, en la que el promedio de DAR es de 3,4 a aproximadamente 4,6.

En una realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende un ADC anti-BCMA; en el que el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10% o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En otra realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia

de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35 % a aproximadamente 38 % o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 % o aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 % o aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 %, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6,0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

En otra realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende un ADC anti-BCMA, en la que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:8; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35 % a aproximadamente 38 % o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 % o aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 % o aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 %, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6,0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

En otra realización más, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende el belantamab mafodotin, en la que el porcentaje de DL0 es inferior a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a

aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

- 5 En otra realización más, la invención proporciona un procedimiento para tratar el mieloma múltiple en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende el belantamab mafodotin, en la que el porcentaje de DL0 es inferior a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o
- 10 aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a
- 15 aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En un aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto necesitado de ello que comprende la administración de una dosis terapéuticamente

20 efectiva de una composición que comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida

25 en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en el CDRH3.

En un aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar el mieloma múltiple en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéutica

30 efectiva de una composición que comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida

35 en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ

ID NO:6; en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en el CDRH3.

5 En una realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar el mieloma múltiple en un sujeto que lo necesita, que comprende la administración de una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende el belantamab; en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en CDRH3.

10 En un aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar el cáncer en un sujeto necesitado de ello que comprende la administración de una dosis terapéuticamente efectiva de una composición que comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena pesada M34 (CDRH1).

20 La invención proporciona un procedimiento para tratar el mieloma múltiple en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéutica efectiva de una composición que comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena pesada M34 (CDRH1).

30 La invención proporciona un procedimiento para tratar el mieloma múltiple en un sujeto que lo necesita, que consiste en administrar una dosis terapéuticamente eficaz de una composición que comprende el belantamab; en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación en la cadena pesada M34 (CDRH1).

En uno de los aspectos de la invención, ésta proporciona una composición que comprende una proteína de unión al antígeno anti-BCMA, tal como se describe en el presente documento, para su uso en el tratamiento de la enfermedad o el trastorno de las células B.

- 5 En una realización, la invención proporciona una composición que comprende un ADC anti-BCMA, cuando describió herein, para el uso en el tratamiento de cáncer, wherein el promedio DAR es aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6.

En otra realización, la invención proporciona una composición que comprende un ADC anti-BCMA, como se describe aquí, para el uso en el tratamiento del cáncer, donde el
10 anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de
15 aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en el que el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y en el que el promedio de DAR es aproximadamente 3,4 a cerca de 4,6.

En otra realización, la invención proporciona una composición que comprende un ADC anti-BCMA, como se describe aquí, para el uso en el tratamiento del cáncer, donde el
20 anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el DAR medio es aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6.

- 25 En otra realización, la invención proporciona una composición que comprende el belantamab mafodotin para su uso en el tratamiento del cáncer, en el que el promedio de DAR es de 3,4 a aproximadamente 4,6.

En otra realización más, la invención proporciona una composición que comprende el
30 belantamab mafodotin para su uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en el que el promedio de DAR es de 3,4 a aproximadamente 4,6.

En una realización, la invención proporciona una composición que comprende un ADC anti-BCMA, tal como se describe en este documento, para el uso en el tratamiento del cáncer;
35 donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10% o aproximadamente

5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a
 5 aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

10 En otra incorporación, la invención proporciona una composición que comprende un ADC anti-BCMA, como se describe aquí, para el uso en el tratamiento del cáncer, donde el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1
 15 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15 % a
 20 aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35 % a aproximadamente 38% o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 % o aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 % o aproximadamente 10 % a
 25 aproximadamente 20 %, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6,0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

En otra realización, la invención proporciona una composición que comprende un ADC anti-BCMA, como se describe aquí, para el uso en el tratamiento del cáncer, donde el
 30 anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %, el porcentaje de DL2 es
 aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a
 35 aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35 % a

aproximadamente 38 % o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 % o aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 % o aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 %, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6,0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

En otra realización, la invención proporciona una composición que comprende el belantamab mafodotin para el uso en el tratamiento del cáncer, en la que el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10% o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 26%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38%, DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20%, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6% a aproximadamente 12%.

En otra realización más, la invención proporciona una composición que comprende el belantamab mafodotin para su uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en la que el porcentaje de DL0 es inferior a aproximadamente 10% o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo para el uso en el tratamiento del cáncer, donde el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ

ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en el CDRH3.

5 En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo para el uso en el tratamiento del mieloma múltiple, donde el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en el CDRH3.

15 En otra realización más, la invención proporciona una composición que comprende el belantamab mafodotin para su uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en CDRH3.

20 En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo para el uso en el tratamiento del cáncer, donde el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena pesada M34 (CDRH1).

30 En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo para el uso en el tratamiento del mieloma múltiple, donde el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida

en la SEQ ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena pesada M34 (CDRH1).

5 En otra realización más, la invención proporciona una composición que comprende el belantamab mafodotin para su uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena pesada M34 (CDRH1).

10 En uno de los aspectos de la invención, se prevé el uso de una composición en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos de las células B.

15 En una realización se prevé el uso de una composición que comprende un ADC anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en el que el promedio de DAR es de unos 3,4 a unos 4,6.

20 En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprende un ADC anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en el que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en el que el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y en el que el promedio de DAR es aproximadamente 3,4 a cerca de 4,6.

25 En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprende un ADC anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en el que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; en el que el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y en el que el DAR medio es de unos 3,4 a unos 4,6.

En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprende el belantamab mafodotin en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en la que el promedio de DAR es de 3,4 a 4,6 aproximadamente.

- 5 En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprende el belantamab mafodotin en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del mieloma múltiple, en el que el promedio de DAR es de 3,4 a 4,6 aproximadamente.

En una realización, se prevé el uso de una composición que comprende un ADC anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer; donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35 % a aproximadamente 38% o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 % o aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 % o aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 %, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6,0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

20

En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprende un ADC anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en el que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35 % a aproximadamente 38% o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 % o aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 % o aproximadamente 10 % a

30

35

aproximadamente 20 %, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6,0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprende un ADC anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en el que el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8; donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF; y donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente 10 % o aproximadamente 5 %, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 % o aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35 % a aproximadamente 38% o aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 % o aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 % o aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 %, y/o el porcentaje de DL8 es aproximadamente 6,0 % a cerca de 12,0 % o cerca de 4 % a cerca de 15 %.

En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprenda un ADC anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en la que el porcentaje de DL0 sea menor o igual a aproximadamente 10% o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En otra realización, se prevé el uso de una composición que comprende el belantamab mafodotin en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en la que el porcentaje de DL0 es inferior a aproximadamente 10% o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje

de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En otra realización más, se prevé la utilización uso de una composición que comprende el belantamab mafodotin en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del mieloma múltiple, en el que el porcentaje de DL0 es inferior a aproximadamente 10% o aproximadamente 5%, el porcentaje de DL2 es aproximadamente 15% a aproximadamente 27% o aproximadamente 15% a aproximadamente 32%, el porcentaje de DL4a es aproximadamente 35% a aproximadamente 38% o aproximadamente 30% a aproximadamente 40%, el porcentaje de DL4b es aproximadamente 7% a aproximadamente 9% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, el porcentaje de DL6 es aproximadamente 14% a aproximadamente 20% o aproximadamente 10% a aproximadamente 20%, y/o DL8 es aproximadamente 6.0% a aproximadamente 12.0% o aproximadamente 4% a aproximadamente 15%.

En un aspecto, se prevé el uso de una composición que comprende una proteína de unión al antígeno anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer, en donde la composición que comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en el CDRH3.

En una realización, se prevé el uso de una composición que comprende una proteína de unión a antígenos anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el mieloma múltiple, en donde la composición comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de

aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en el CDRH3.

5

En otra realización más, se prevé el uso de una composición que compone el belantamab en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del mieloma múltiple, en donde la composición comprende ≤ 25 % de isomerización en la cadena pesada D103 en el CDRH3.

- 10 En un aspecto, se prevé el uso de una composición que comprende una proteína de unión a antígenos anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer, en donde la composición que comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia
- 15 de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena pesada M34 (CDRH1).

20

En una realización, se prevé el uso de una composición que comprende una proteína de unión a antígenos anti-BCMA en la fabricación de un medicamento para el mieloma múltiple, en donde la composición comprende un anticuerpo que comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la

25 secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; y en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena

30 pesada M34 (CDRH1).

En otra realización más, se prevé el uso de una composición que compone el belantamab en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del mieloma múltiple, en donde la composición comprende ≤ 40 % de oxidación a cadena pesada M34 (CDRH1).

Todas las patentes y referencias bibliográficas divulgadas en el presente documento están expresa y enteramente incorporadas en el presente documento por referencia.

La invención descrita aquí comprende:

5

1. Una composición que comprende una variante isomerizada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante isomerizada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera
10 que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 25 % de variante isomerizada.

2. Una composición que comprende una variante oxidada de un anticuerpo anti-BCMA, en la que la variante oxidada comprende una secuencia de aminoácidos de cadena
15 pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 40 % de variante oxidada.

3. Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos
25 establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6; en donde la composición es 0,1-25 %, isomerización en D103 en el CDRH3.

4. Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA compuesto por una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida
35 en la SEQ ID NO:6; en donde la composición es 0,1-40 % de oxidación a M34 en el CDRH1.

5. Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA que es por lo menos aproximadamente 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y a la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en donde la composición comprende 0,1-25 %, isomerización en D103 en CDRH3.
- 5
6. Una composición que comprende un anticuerpo anti-BCMA que es al menos aproximadamente 90 % idéntico a la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO:9 y a la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de la SEQ ID NO:10, en donde la composición comprende una oxidación de 0,1-40 % en M34 CDRH1.
- 10
7. La composición según cualquier reivindicación anterior en donde la composición comprende ≤ 65 % de oxidación en la cadena pesada M256 y/o ≤ 60 % de oxidación en la cadena pesada M432.
- 15
8. La composición según cualquier reivindicación anterior en donde la composición comprende una variante de anticuerpo que comprende al menos una seleccionada del grupo que consiste en la desamidación en cadena pesada en N388 y/o N393, D103 a N103 en CDRH3, división de lisina en el extremo C y conversión en el extremo N de glutamina en ácido piroglutámico.
- 20
9. La composición de acuerdo con cualquier reivindicación anterior en donde la composición comprende al menos una seleccionada del grupo que consiste en hasta un 100 % de desamidación en N388 y/o N393, hasta un 100 % de N103 en CDRH3, hasta un 100 % de división de lisina en el extremo C y hasta un 100 % de conversión en el extremo
- 25
- N de glutamina en ácido piroglutámico.
10. La composición según cualquier reivindicación anterior en donde la composición comprende cualquier porcentaje de glicoformas G0, G1, G2, G0-GlcNac o G0-2GlcNac.
- 30
11. La composición según cualquier reivindicación anterior en la que el anticuerpo anti-BCMA sea belantamab.
12. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que el anticuerpo anti-BCMA se conjuga con un agente citotóxico para formar un conjugado
- 35
- anticuerpo-fármaco.

13. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en las que el anticuerpo anti-BCMA es el belantamab mafodotin.

5 14. La composición de las reivindicaciones 12-13, en las que el porcentaje de DL2 es al menos aproximadamente 30%, aproximadamente el 15% a aproximadamente el 27%, o aproximadamente el 15% a aproximadamente el 32%; el porcentaje de DL4a es al menos aproximadamente el 30%, aproximadamente el 35% a aproximadamente el 38%, o aproximadamente el 30% a aproximadamente el 40%; el porcentaje de DL4b es al menos aproximadamente el 5%, aproximadamente el 7% a aproximadamente el 9%, o
10 aproximadamente el 5% a aproximadamente el 10%; el porcentaje de DL6 es al menos aproximadamente el 10%, aproximadamente el 14% a aproximadamente el 20%, o aproximadamente el 10% a aproximadamente el 20%; and/ o DL8 es al menos aproximadamente el 1%, aproximadamente el 6.0% a aproximadamente el 12.0%, o aproximadamente el 4% a aproximadamente el 15%.

15

15. La composición de las reivindicaciones 12-14, en las que el promedio de DAR es de aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6.

16. La composición de las reivindicaciones 12-15, donde el porcentaje de DL0 es menor
20 o igual a aproximadamente el 10 % o aproximadamente el 5 %.

17. Una composición farmacéutica que comprende la composición de cualquier reivindicación anterior y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25 18. Una formulación que comprende la composición farmacéutica de la reivindicación 17 que comprende una proteína de unión al antígeno anti-BCMA de unos 20 mg/mL a unos 60 mg/mL, un tampón de citrato de unos 10 mM a unos 30 mM, trehalosa de unos 120 mM a unos 240 mM, EDTA de aproximadamente 20 mg/mL a aproximadamente 60 mg/mL, tampón de citrato a aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, trehalosa de
30 aproximadamente 120 mM a aproximadamente 240 mM, EDTA de aproximadamente 0.01 mM a aproximadamente 0.1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 de aproximadamente el 0.01% a aproximadamente el 0.05%, a un pH de aproximadamente 5.9 a aproximadamente 6.5.

19. La formulación de la reivindicación 18, que comprende aproximadamente 20 mg/mL, aproximadamente 25 mg/mL, aproximadamente 50 mg/mL o aproximadamente 60 mg/mL de mafodotina belantamab, 25 mM de tampón de citrato, 200 mM de trehalosa, 0,05 mM de EDTA disódico, el 0,02 % de polisorbato 20 o polisorbato 80, a un pH de
5 aproximadamente 5,9 a aproximadamente 6,5.

20. Procedimiento de tratamiento del cáncer que consiste en administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéutica efectiva una composición de las reivindicaciones 1-16.

10

21. Una composición de las reivindicaciones 1-14 para su uso en el tratamiento del cáncer.

22. Uso de una composición de las reivindicaciones 1-16 en la fabricación de un
15 medicamento para el tratamiento del cáncer.

23. Una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) anti-BCMA, en la que el porcentaje de DL2 es por lo menos aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 27 % o aproximadamente el 15 % a
20 aproximadamente el 32 %; el porcentaje de DL4a es al menos aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 35 % a aproximadamente el 38 % o aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 40 %; el porcentaje de DL4b es al menos aproximadamente el 5 %, aproximadamente el 7 % a aproximadamente el 9 % o aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 10 %; el porcentaje de DL6 es al menos aproximadamente el 10 %,
25 aproximadamente el 14 % a aproximadamente el 20 % o aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 20 %; y/o el porcentaje de DL8 es al menos aproximadamente el 1 %, aproximadamente el 6 % a aproximadamente el 12,0 % o aproximadamente el 4 % a aproximadamente el 15 %.

30 24. La composición de la reivindicación 23, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos

establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6.

25. La composición de la reivindicación 23 o 24, en la que el porcentaje de DL2 es de aproximadamente 15 % a aproximadamente 32 %, el porcentaje de DL4a es de aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 %, el porcentaje de DL4b es de aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, el porcentaje de DL6 es de aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 % y el de DL8 es de aproximadamente 4 % a aproximadamente 15 %.

10

26. La composición de la reivindicación 23 o 24, en la que el porcentaje de DL2 es de aproximadamente 15 % a aproximadamente 27 %, el porcentaje de DL4a es de aproximadamente 35 % a aproximadamente 38 %, el porcentaje de DL4b es de aproximadamente 7 % a aproximadamente 9 %, el porcentaje de DL6 es de aproximadamente 14 % a aproximadamente 20 %, y el de DL8 es de aproximadamente 6,0 % a aproximadamente 12,0 %.

15

27. La composición de las reivindicaciones 23-26, en las que la relación media fármaco-anticuerpo (DAR) es de aproximadamente 2,1 a aproximadamente 5,7.

20

28. La composición de las reivindicaciones 23-26, en las que el promedio de DAR es de aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6.

29. La composición de las reivindicaciones 23-26, en las que el promedio de DAR es de aproximadamente 3,8 a aproximadamente 4,5.

25

30. Una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármacoanti-BCMA (ADC), donde el porcentaje de DL0 es menor o igual a aproximadamente el 10 % o aproximadamente el 5 %.

30

31. La composición de la reivindicación 30, en la que el anticuerpo comprende una CDRH1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:1, una CDRH2 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:2, una CDRH3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:3, una CDRL1 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:4, una CDRL2 con la secuencia de aminoácidos

35

establecida en la SEQ ID NO:5, y una CDRL3 con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:6.

5 32. La composición de las reivindicaciones 30 o 31, donde el porcentaje de DL0 es menor o igual al 5 % aproximadamente.

10 33. La composición de las reivindicaciones 30-32, donde el porcentaje de DL2 es de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 32 %, el porcentaje de DL4a es de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 40 %, el porcentaje de DL4b es de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 10 %, el porcentaje de DL6 es de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 20 %, y el de DL8 es de aproximadamente el 4 % a aproximadamente el 15 %.

15 34. La composición de las reivindicaciones 30-32, donde el porcentaje de DL2 es de aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 27 %, el porcentaje de DL4a es de aproximadamente el 35 % a aproximadamente 38 %, el porcentaje de DL4b es de aproximadamente el 7 % a aproximadamente el 9 %, el porcentaje de DL6 es de aproximadamente el 14 % a aproximadamente el 20 %, y el DL8 es de aproximadamente el 6,0 % a aproximadamente el 12,0 %.

20

35. La composición de las reivindicaciones 30-34, en las que el promedio de la relación fármaco-anticuerpo (DAR) es de aproximadamente 2,1 a aproximadamente 5,7.

25 36. La composición de las reivindicaciones 30-34, en las que el promedio de DAR es de aproximadamente 3,4 a aproximadamente 4,6.

37. La composición de la reivindicación 30-34, en la que el promedio de DAR es de aproximadamente 3,8 a aproximadamente 4,5.

30 38. La composición de las reivindicaciones 23-37, donde el anticuerpo comprende un VH con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:7, y un VL con la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:8.

35 39. La composición de las reivindicaciones 23-38, en las que el anticuerpo es el belantamab.

40. La composición de las reivindicaciones 23-37, en las que el agente citotóxico es MMAE o MMAF.

5 41. La composición de las reivindicaciones 21-40, en las que el ADC anti-BCMA es belantamab mafodotin.

42. La composición de las reivindicaciones 23-41, en las que el porcentaje de DL se determina separando las especies individuales de DL mediante cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC), calculando el área bajo la curva para cada pico de DL y
10 dividiendo cada pico de DL por el área total bajo la curva para todas las especies de DL combinadas.

43. La composición de las reivindicaciones 42, en la que el promedio DAR se calcula a partir del área bajo la curva de cada especie DL usando la siguiente fórmula:

15

$$\%DL \text{ Component } X = \frac{A_X}{A_0 + A_1 + A_2 + A_3 + A_{4a} + A_{4b} + A_5 + A_6 + A_8 + A_{10}} \times 100$$

$$DAR = \frac{(A_1 \times 2) + (A_2 \times 2) + (A_3 \times 2) + (A_{4a} \times 4) + (A_{4b} \times 4) + (A_5 \times 6) + (A_6 \times 6) + (A_8 \times 8) + (A_{10} \times 8)}{A_0 + A_1 + A_2 + A_3 + A_{4a} + A_{4b} + A_5 + A_6 + A_8 + A_{10}}$$

Donde:

$A_X =$

Área de pico de la carga de pico X

$X =$

$A_0, A_1, A_2, A_3, A_{4a}, A_{4b}, A_5, A_6, A_8, \text{ y } A_{10}$

$A_0, A_1, A_2, A_3, A_{4a}, A_{4b}, A_5, A_6, A_8, \text{ and } A_{10} =$

is the peak area of DL0, DL1, DL2, DL3, DL4a, DL4b, DL5, DL6, DL8 y DL10 (incluyendo solo picos $\geq$ DL (0.08%))

44. Una composición farmacéutica que comprende la composición de las reivindicaciones 23-43 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

45. Una formulación que comprende la composición farmacéutica de la reivindicación 44, que comprende una proteína de unión al antígeno anti-BCMA de aproximadamente 20 mg/mL a aproximadamente 60 mg/mL, tampón citrato a aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, trehalosa a aproximadamente 120 mM a aproximadamente 240
25 mM, EDTA a aproximadamente 0.01 mM a aproximadamente 0.1 mM, polisorbato 20 o polisorbato 80 a aproximadamente 0.01% a aproximadamente 0.05%, a un pH de aproximadamente 5.9 a aproximadamente 6.5.

46. La formulación de la reivindicación 45, que comprende unos 20 mg/mL, unos 25 mg/mL, unos 50 mg/mL o unos 60 mg/mL de mafodotina belantamab, 25 mM de tampón de citrato, 200 mM de trehalosa, 0,05 mM de EDTA disódico, 0,02 % de polisorbato 20 o polisorbato 80, a un pH de unos 5,9 a unos 6,5.

5

47. Procedimiento de tratamiento del cáncer que consiste en administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéutica efectiva una composición de las reivindicaciones 23-43.

10

48. Una composición de las reivindicaciones 23-43 para su uso en el tratamiento del cáncer.

49. Uso de una composición de las reivindicaciones 23 a 43 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

15

50. Una composición que comprende una variante ácida de un anticuerpo, en la que la variante ácida comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende una variante ácida del 1 al 70 %.

20

51. Una composición que comprende una variante ácida de un anticuerpo, en la que la variante ácida comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende un 3 % de variante ácida.

25

52. Una composición que comprende una variante básica de un anticuerpo, en la que la variante básica comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende un 1-30 % de variante básica.

30

53. Una composición que comprende una variante básica de un anticuerpo, en la que la variante básica comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada compuesta por una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera compuesta por una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≤ 30 % de variante básica.

54. Una composición que comprende una isoforma principal de un anticuerpo, en la que la isoforma principal comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende un 1-90 % de isoforma principal.

55. Una composición que comprende una isoforma principal de un anticuerpo, en la que la isoforma principal comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende ≥ 1 % de isoforma principal.

56. Una composición que comprende una variante cargada del anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende una CDRH1 de SEQ ID NO: 1, una CDRH2 de SEQ ID NO: 2, y una CDRH3 de SEQ ID NO: 3, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una CDRL1 de SEQ ID NO: 4, una CDRL2 de SEQ ID NO: 5, y una CDRL3 de SEQ ID NO: 6; en donde la composición comprende: Bastante 3 % de variante ácida; y/o ≤ 30 % de variante básica; y/o ≥ 1 % de isoforma principal.

Ejemplos

30

Ejemplo 1: Determinación del porcentaje de especies de DL y el promedio de DAR en una composición de ADC.

Para los Ejemplos 2-9, el porcentaje de DL y el promedio de DAR se calcularon de la siguiente manera:

35

El porcentaje de una especie específica de DL (p o ejemplo, porcentaje de DL0, porcentaje de DL2, porcentaje de DL4a, porcentaje de DL4b, porcentaje de DL6 y porcentaje de DL8) se determinó separando las especies individuales de DL mediante cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) (como se ejemplifica en la FIG. 2), calculando el área bajo la curva para cada pico de DL y dividiendo cada pico de DL por el área total bajo la curva para todas las especies de DL combinadas.

El promedio DAR de cada muestra se calculó a partir del área bajo la curva de cada especie DL mediante la siguiente fórmula:

$$\%DL\ Componente_x = \frac{A_x}{A_0 + A_1 + A_2 + A_3 + A_{4a} + A_{4b} + A_5 + A_6 + A_8 + A_{10}} \times 100$$

$$DAR = \frac{(A_1 \times 2) + (A_2 \times 2) + (A_3 \times 2) + (A_{4a} \times 4) + (A_{4b} \times 4) + (A_5 \times 6) + (A_6 \times 6) + (A_8 \times 8) + (A_{10} \times 8)}{A_0 + A_1 + A_2 + A_3 + A_{4a} + A_{4b} + A_5 + A_6 + A_8 + A_{10}}$$

Donde:

$A_x =$

$X =$

$A_0, A_1, A_2, A_3, A_{4a}, A_{4b}, A_5, A_6, A_8,$ and $A_{10} =$

Área de pico de la carga de pico X

$A_0, A_1, A_2, A_3, A_{4a}, A_{4b}, A_5, A_6, A_8,$ y A_{10}

is the peak area of DL0, DL1, DL2, DL3, DL4a, DL4b, DL5, DL6, DL8 y DL10 (incluyendo solo picos $\geq$ DL (0.08%))

Las normas de referencia usadas en los Ejemplos 2 a 8, y que podrían usarse también para otros experimentos, incluyen las muestras del Cuadro 1.

Tabla 1:

Lote	132371424	162397940	182407660	108M4203
Variantes de carga de fármacos	% DL0: 2,9 %	% DL0: 2,≥70	% DL0: 4,7 %	DL0: 3,8
	% DL1: 0,7 %	% DL1: 0,7 %	% DL1: 0,4 %	DL1: 0,4
	DL2: 19,6	DL2: 19,1	DL2: 26,0	DL2: 23,2
	% DL3: 1,7 %	% DL3: 2,4 %	% DL3: 1,7 %	DL3: 1,3

Lote	132371424	162397940	182407660	108M4203
	DL4a: 38,0 DL4b: 9,4 %.	DL4: 37,7 DL4b: 8,7 %.	DL4a: 36,3 DL4b: 7,5 %.	DL4a: 37,9 DL4b: 7,5 %.
	% DL5: 3,0 %	% DL5: 2,6 %	% DL5: 2,9 %	DL5: 3,6
	DL6: 16,6	DL6: 17,9	DL6: 14,2	DL6: 15,2
	% DL8: 7,9 %	% DL8: 8,0 %	% DL8: 6,2 %	DL8: 6,9
DAR	4,1	4,2	3,8	4,0

Ejemplo 2: Impacto del promedio de DAR en la inhibición del crecimiento celular.

La inhibición del crecimiento celular del belantamab mafodotin se determinó midiendo la viabilidad celular de las células del NCI-H929, una línea celular de mieloma múltiple humano, después de 48 horas de incubación con el belantamab mafodotin. La viabilidad celular se midió usando la tecnología CellTiter Glo de Promega. El aumento de la concentración de belantamab mafodotin correspondió proporcionalmente a una disminución de la señal de luminiscencia de CellTiter Glo. La respuesta a la dosis (EC50) fue generada por SoftMax Pro usando un modelo logístico de regresión no lineal de 4 parámetros. Se calculó la proporción del estándar de referencia #132371424 EC50 con respecto a la muestra EC50 para determinar la potencia relativa. Los resultados se resumen en la Tabla 2.

15

Tabla 2:

Valor medio de DAR	Potencia relativa
2,1	0,5
3,0	0,7
3,5	0,8
4,1	1,0
4,6	1,1

5,0	1,1
5,7	1,3

Ejemplo 3: Impacto del promedio del DAR en la actividad del ADCC.

Se incubaron el mafodotin de belantamab, las células de mieloma múltiple y las células NK (células efectoras). Sin estar ligado por la teoría, el belantamab mafodotina ligado al BCMA expresado en la superficie de las células de mieloma múltiple, y la región Fc del anticuerpo ligado a FcγRIIIa en las células efectoras a través de su receptor FcγRIIIa. La unión de estos receptores en la superficie de las células efectoras dio lugar a la síntesis y secreción de citoquinas (IFNγ), y a la liberación de gránulos (perforina y granzimas) que entran en el citoplasma de las células diana. Las granzimas iniciaron un evento de señalización dentro de las células diana que causó la muerte de estas células por apoptosis. La fuente de las células NK fueron las células mononucleares de sangre periférica (PBMC), que están aisladas de la sangre entera humana. Entonces, 1 mL de células NCI-H929, línea celular del mieloma múltiple humano, se cargan con 10 µL de un éster de acetoximetilo de un ligando potenciado de la fluorescencia, BATDA (bis-(acetoximetilo) 2,2':6',2''-terpiridina-6,6''-dicarboxilato) (gato Perkin-Elmer nº C136-100), que penetró en la membrana celular. Los enlaces de éster en el BATDA se hidrolizan para formar un ligando hidrófilo (TDA), que ya no puede pasar a través de la membrana celular. Las células etiquetadas se añadieron a cantidades variables de mafodotina belantamab y células efectoras (PBMC). Las células se lisan y liberan TDA. Después de la citólisis, este ligando se combinó con 200µL de solución de europio DELFIA (gato Perkin-Elmer no. C135-100) para formar un quelato altamente fluorescente y estable (EuTDA). La fluorescencia medida se correlacionó directamente con la cantidad de células lisadas cuando se midió con un lector de placas de fluorescencia. Se ha informado que la actividad ADCC del belantamab mafodotin es una proporción del valor EC50 de la muestra frente a la del estándar de referencia #132371424. Los resultados se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3:

Val o medio de DAR	Potencia relativa
2,1	1,1
3,0	0,8
3,5	1,0
4,6	0,8
5,0	1,1
5,7	0,8

Ejemplo 4: Impacto del promedio de DAR en la fijación de la BCMA y la fijación de la FcRIIIa.

5

La unión del BCMA y el FcRIIIa por el belantamab mafodotin se midió mediante la resonancia plasmónica superficial (SPR). El belantamab mafodotin fue diluido a 10 µg/mL con PBST, inyectado y capturado por la proteína A inmovilizada en un chip sens o CM5. Luego se inyectó BCMA y se unió a la mafodotina de belantamab capturada. A continuación, se inyectó FcγRIIIa y se unió a la mafodotina de belantamab capturada. Las concentraciones funcionales de la unión del mafodotín de belantamab al BCMA y FcγRIIIa se calcularon a partir de una curva estándar de referencia (estándar de referencia #132371424) y se informó que la concentración de unión del BCMA o FcγRIIIa, respectivamente. La concentración total de mafodotina de belantamab de la muestra se predeterminó por absorbancia a 280 nm. La actividad de enlace específica (%) se calculó dividiendo la concentración de enlace del BCMA o FcγRIIIa por la absorbancia a la concentración de 280 nm. Los resultados se resumen en el cuadro 4.

10

15

Tabla 4:

Val o medio de DAR	Unión de la BCMA (%)	FcRIIIa (%)
2,1	101	106
3,0	95	98
3,5	100	103
4,6	89	89
5,0	94	94

5,7	94	92
-----	----	----

Ejemplo 5: Impacto del promedio de DAR en el volumen del tumor.

Se implantó subcutáneamente una línea celular de mieloma múltiple en el flanco de ratones con inmunodeficiencia combinada grave (SCID). A partir del día 15 en adelante, todos los tumores se midieron tres veces por semana usando un sistema de calibre, y se registró la longitud y el ancho de cada tumor de ratón para calcular el volumen del tumor (volumen = longitud x (ancho²) x 0,5). Cuando el volumen medio del tumor alcanzó ~200 mm³, los ratones fueron asignados al azar en grupos y dosificados con belantamab mafodotin con una de las muestras promedio de DAR dos veces por semana durante 2 semanas. Todos los tumores fueron medidos de esta manera, y los ratones individuales fueron eutanasiados una vez que su tumor alcanzó una medida media de tumor de 2,0 mm³ o en el día 60, lo que ocurriera primero. El resumen del diseño del estudio se resume en la Tabla 5 y los resultados se muestran en la FIG. 3

Tabla 5:

Val o medio de DAR	Dosis
2,1	2 mg/kg
3,0	2 mg/kg
3,5	2 mg/kg
4,1	2 mg/kg
4,6	2 mg/kg
4,9	2 mg/kg
5,7	2 mg/kg
3,5	4 mg/kg
4,1	4 mg/kg
4,6	4 mg/kg

Ejemplo 6: Impacto de las especies de DL en la unión del BCMA, la unión de FcRIIIa y la unión de FcRn.

Se prepararon muestras de mafodotina de belantamab que comprenden especies específicas de DL mediante picos individuales recolectados de un cromatograma HIC. La

unión de BCMA y FcRIIIa del belantamab mafodotin se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR) como se describe en el ejemplo 4.

La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) al mafodotín belantamab se midió mediante resonancia plasmónica superficial (SPR). Las muestras se diluyeron y el belantamab mafodotin fue capturado por el FcRn, que fue inmovilizado en un chip sens o de ácido nitrilotriacético (NTA). La concentración de enlace de FcRn de la muestra se determinó mediante la interpolación de la respuesta de enlace en una curva de calibración. La actividad de enlace específica (%) se calculó dividiendo la concentración de enlace de FcRn por la concentración total de proteína. Los resultados se resumen en la Tabla 6.

Se usó la norma de referencia #162397940.

Tabla 6:

Especies DAR	BCMA (%)	FcRIIIa Fc□RIIIa (%)	FcRn (%)
Control	96	97	101
DL0	103	110	108
DL2	99	104	109
DL4a	95	103	102
DL4b	90	91	99
DL6	89	84	97
DL8	86	82	93

Ejemplo 7: Impacto de las especies de DL en la inhibición del crecimiento celular.

Se prepararon muestras específicas de la especie DL de belantamab mafodotin como en el ejemplo 7. La inhibición del crecimiento celular se determinó como en el ejemplo 2. Se usó la norma de referencia #162397940. Los resultados se resumen en la Tabla 7.

Tabla 7:

Especies DAR	Potencia relativa
DL0	0,0
DL2	0,5
DL4a	0,9
DL4b	1,0
DL6	1,6
DL8	1,8

Ejemplo 8: Impacto de las especies de DL en la actividad de ADCC.

- 5 El mafodotin de belantamab unido a la BCMA expresado en una superficie celular de mieloma múltiple. La región Fc del mafodotín de belantamab unido a FcγRIIIa (CD16a) en células efectoras Jurkat T (Promega, Cat #G7102, BioCat #140011) que han sido diseñadas para expresar de manera estable 1) los receptores humanos FcγRIIIa V158 variante de alta afinidad y 2) un gen informador de la luciferasa fusionado al promotor aguas
- 10 abajo de las secuencias de activación de NFAT. Cuando el anticuerpo se une simultáneamente al H929 y a las células efectoras, la activación de la vía del NFAT da lugar a la transcripción del gen informador de la luciferasa y a la expresión de la luciferasa de luciérnaga dentro de las células efectoras. Después de la adición de un sustrato
- 15 luminiscente (Sistema de Ensayo de Luciferasa Bio-Glo™, Promega, Cat #G7940) y se produce la lisis celular, la luciferasa producida debido a la activación de NFAT se mide como Unidades Relativas Luminiscentes (RLUs) usando un lector de placas. En este ensayo, el belantamab mafodotin se añadió de forma dosis dependiente; por lo tanto, la respuesta a la dosis (la mitad de la concentración máxima efectiva o EC50) se generó usando un modelo logístico de regresión no lineal. Se calculó la relación entre el estándar
- 20 de referencia EC50 y la muestra EC50 para determinar la potencia relativa. Se usó el estándar de referencia #162397940. Los resultados se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8:

DL Especies	Potencia relativa del ADCC
DL0	1,1
DL2	1,3
DL4a	1,3
DL4b	1,0
DL6	0,9
DL8	0,7

Ejemplo 9: Promedio DAR y porcentaje de especies DL para varios lotes de belantamab mafodotin

- 5 Se prepararon varios (19) lotes de belantamab mafodotin. Se calculó el promedio DAR y el porcentaje de especies DL de cada lote, como se describe en el ejemplo 1. Los resultados se resumen en los cuadros 9 a 12.

Tabla 9:

	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5
DL0	2,0	3,5	4,0	3,9	3,9
DL2	15,8	21,2	24,5	24,7	24,6
DL4a	37,1	36,1	36,4	35,8	35,7
DL4b	7,1	8,2	7,4	8,3	8,5
DL6	19,1	16,3	15,1	15,2	15,2
DL8	12,0	8,1	7,1	7,1	7,0
Ave DAR	4,5	4,1	3,9	3,9	3,9

10

Tabla 10:

	Lote 6	Lote 7	Lote 8	Lote 9	Lote 10
DL0	4,0	4,3	3,8	3,7	3,9
DL2	24,7	25,4	24,4	24,1	23,9
DL4a	35,7	36,5	36,9	37,9	36,4
DL4b	8,4	7,6	7,7	7,1	7,6
DL6	15,1	14,2	15,5	15,6	15,1

DL8	7,0	6,1	6,9	6,9	7,5
Ave DAR	3,9	3,9	4,0	4,0	4,0

Tabla 11:

	Lote 11	Lote 12	Lote 13	Lote 14	Lote 15
DL0	4,8	4,0	4,2	4,2	4,5
DL2	26,3	24,1	24,8	24,8	25,8
DL4a	35,9	36,2	36,2	35,9	36,6
DL4b	7,6	7,8	7,7	8,0	7,5
DL6	14,0	15,0	14,6	14,6	14,3
DL8	6,1	7,3	6,8	6,9	6,0
Ave DAR	3,8	4,0	3,9	3,9	3,8

5 Tabla 12:

	Lote 16	Lote 17	Lote 18	Lote 19
DL0	4,1	4,1	4,2	4,0
DL2	24,6	24,5	24,7	24,2
DL4a	36,3	35,5	35,6	35,8
DL4b	7,5	8,1	8,0	8,1
DL6	14,7	14,5	14,3	15,0
DL8	7,1	7,2	7,1	7,3
Ave DAR	3,9	3,9	3,9	4,0

Ejemplo 10: Diseño del estudio de degradación forzada del mafodotín Belantamab.

- 10 En el cuadro 13 se presenta un resumen del diseño del estudio para los Ejemplos 11-18.

Tabla 13: Diseño del estudio de la degradación forzada del mafodotín de Belantamab

Estresante	Predominante Atributo de calidad	Condición	Puntos temporales
1. 1. Condiciones oxidativas	Oxidación	Incubación de 500:1 molar (H ₂ O ₂ :ADC) a 25°C/50 % HR1	1, 3, 16 y 24 horas
2. Químico: pH alto (tratado con base)	Desamidación	pH 9,0 a 25°C/50 % HR	3, 7, 14 y 21 días
3. Químico: Bajo pH (tratado con ácido)	Isomerización	pH 5,0 a 25°C/50 % HR	7, 14 y 21 días
4. Térmica: Temperatura elevada	Isomerización	40°C/75 % HR	7, 14, 21 y 28 días
5. 5. Fotoexposición	Oxidación	Cámara de Fotoestabilidad Caron Temperatura: 25 5±°C	300 kLux-horas, 50 vatios/m ² ; (0,25x ICH) 600 kLux-horas, 100 vatios/m ² ; (0,5x ICH) 1200 kLux-horas, 200 vatios/m ² ; (1x ICH) 1800 kLux-horas, 300 vatios/m ² ; (1,5x ICH)

1. RH: humedad relativa

Ejemplo 11: Condiciones oxidativas

- Para crear muestras de estrés oxidativo, las muestras de mafodotina de belantamab se diluyeron a 10 mg/mL y se añadió peróxido de hidrógeno para que la proporción molar de peróxido de hidrógeno con respecto a la mafodotina de belantamab fuera de 500:1. Las muestras se apagaron con metionina y se intercambiaron con tampón usando un filtro de corte de peso molecular (MWCO) de 3kDa.

- La desamidación y la oxidación se determinaron mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS). La muestra se desnaturalizó en HCl de guanidina 6M hasta una concentración de 4,2 µg/µL. Los enlaces de disulfuro se redujeron con 50mM DTT durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se añadió yodoacetato a 100mM y reaccionó con los residuos de cisteína libre durante 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz. La muestra se intercambiò con tampón usando columnas de centrifugado BioRad (parte no. 7326221)
- antes de la digestión con tripsina de Worthington (parte nº TRTPCK) al 0,5 % de tripsina durante 15 minutos a 37 °C. Los péptidos resultantes se cargaron en una columna de cromatografía líquida de ultra rendimiento de fase inversa (UPLC) Waters (Nº de pieza 186003687) y se eluyeron con un gradiente de agua y acetonitrilo en ácido trifluoroacético al 0,1 % usando una UPLC Waters Acquity. Los péptidos se detectaron con un detector de UV y un espectrómetro de masas, como el Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL. Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usaron para calcular los niveles de desamidación u oxidación dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por el total de áreas bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados.
- La unión del BCMA y FcγRIIIa por el belantamab mafodotin se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR), como se describe en el ejemplo 4. La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a la mafodotina belantamab se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR) como se describe en el Ejemplo 6.
- Se usó la norma de referencia #182407660^a. Un resumen de los resultados se muestra en la Tabla 14 y la Tabla 15.

30

35

Tabla 14: Abundancia de PTM en el mafodotin de belantamab tratado con H₂O₂

Modificación posterior a la traducción	Lote	Horario	
		0	24
HC N388 % Desamidación	SLBZ4036	0,8	3,5
	SLBW3623	0,9	3,5
	SLBZ7108	0,7	3,0
HC M34 (CDRH1) % Oxidación	SLBZ4036	0,2	45,1
	SLBW3623	0,4	45,4
	SLBZ7108	0,2	45,5
HC M256 % Oxidación	SLBZ4036	2,9	98,6
	SLBW3623	2,9	98,7
	SLBZ7108	3,5	98,3
HC M432 % Oxidación	SLBZ4036	0,4	94,8
	SLBW3623	0,6	95,2
	SLBZ7108	0,6	94,9

Tabla 15: Actividad de fijación del mafodotín del belantamab tratado con H₂O₂

Propiedad	Lote	Horario				
		0	1	3	16	24
% de unión específica al antígeno	SLBZ4036	92	99	94	67	62
	SLBW3623	88	99	97	74	68
	SLBZ7108	99	99	98	68	64
% FcγRIIIa Unión específica	SLBZ4036	91	93	87	70	66
	SLBW3623	89	96	92	74	70
	SLBZ7108	99	95	92	70	67
% FcRn Unión Específica	SLBZ4036	93	85	73	55	52
	SLBW3623	97	86	79	58	57
	SLBZ7108	95	85	76	57	56

- 5 Extrapolando los datos de la oxidación en HC Met 34, hasta un 37 % de oxidación puede dar lugar a una actividad de unión específica de antígenos de al menos un 70 %. Esto se calcula usando una pendiente lineal para las muestras de oxidación de Tiempo 0 (0,2-0,4 %) y de 24 horas (45,1-45,5 %) de M34, que tienen una actividad de unión específica al antígeno del 88-99 % y del 62-68%, respectivamente.

Extrapolando los datos de la oxidación a HC Met 256, hasta un 89 % de oxidación puede dar lugar a una actividad de unión específica de al menos 70 % Fc γ R11a. Esto se calcula usando una pendiente lineal para las muestras de oxidación de Tiempo 0 (2,9-3,5 %) y 24 horas (98,3-98,7 %) M256, que tienen una actividad de unión específica de 89-99 % y 66-70 % Fc γ R11a, respectivamente. Extrapolando los datos de la oxidación a HC Met 256, hasta un 64 % de oxidación puede resultar en al menos un 70 % de actividad de enlace específico FcRn. Esto se calcula usando una pendiente lineal para las muestras de oxidación de Tiempo 0 (2,9-3,5 %) y 24 horas (98,3-98,7 %) M256, que tienen una actividad de unión específica de 93-97 % y 52-57 % de FcRn, respectivamente.

10

Extrapolando los datos de la oxidación en HC Met 432, hasta un 86 % de oxidación puede resultar en al menos un 70 % de actividad vinculante específica Fc γ R11a. Esto se calcula usando una pendiente lineal para las muestras de oxidación de M432 en el tiempo 0 (0,4-0,6 %) y en 24 horas (94,8-95,2 %), que tienen una actividad de unión específica de 88-99 % y 66-70 % Fc γ R11a, respectivamente. Extrapolando a partir de los datos de oxidación en HC Met 432, hasta un 61 % de oxidación puede resultar en al menos un 70 % de actividad de enlace específico FcRn. Esto se calcula usando una pendiente lineal para las muestras de oxidación de M432 en el tiempo 0 (0,4-0,6 %) y en 24 horas (94,8-95,2 %), que tienen una actividad de unión específica de 93-97 % y 52-57 % de FcRn, respectivamente.

20

Ejemplo 12: Químico: Alto pH (base tratada)

Para crear muestras de alto pH, las muestras de mafodotina belantamab se diluyeron con un tampón Tris de 4mM para ajustar el pH a 9. Las muestras se diluyeron a 10 mg/mL y se incubaron a 25 °C/50 % HR hasta 21 días.

25

La desamidación, la isomerización y la oxidación se determinaron usando la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS) como se describe en el Ejemplo 11. Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usaron para calcular los niveles de desamidación, isomerización u oxidación dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados

30

La unión del BCMA y FcγRIIIa por el belantamab mafodotin se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR), como se describe en el ejemplo 4. La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a la mafodotina belantamab se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR) como en el Ejemplo 6.

5

Se usó la norma de referencia #182407660^a. Los resultados se resumen en la Tabla 16 y la Tabla 17.

Tabla 16: Abundancia de PTM en el mafodotin de belantamab tratado con base

Modificación posterior a la traducción	Lote	Días	
		0	21
HC N31 % Desamidación	SLBZ4036	0,1	0,9
	SLBW3623	0,1	1,0
	SLBZ7108	0,0	1,0
HC N388 % Desamidación	SLBZ4036	0,8	10,3
	SLBW3623	0,9	10,2
	SLBZ7108	0,7	10,0
HC N393 % Desamidación	SLBZ4036	0,9	13,9
	SLBW3623	1,2	14,5
	SLBZ7108	0,9	14,5
HC D103 % Isomerización de ácido aspártico	SLBZ4036	4,4	5,5
	SLBW3623	4,5	5,6
	SLBZ7108	4,1	5,4
HC M256 % Oxidación	SLBZ4036	2,9	4,6
	SLBW3623	2,9	5,1
	SLBZ7108	3,5	5,3
HC M432 % Oxidación	SLBZ4036	0,4	1,2
	SLBW3623	0,6	2,0
	SLBZ7108	0,6	2,1

10

Tabla 17: Actividad de fijación del mafodotin de belantamab tratado con base

Propiedad	Lote	Días				
		0	3	7	14	21
% de unión específica al antígeno	SLBZ4036	92	94	91	89	87
	SLBW3623	88	93	90	87	85
	SLBZ7108	99	96	94	92	89
% Fc γ RIIIa Unión específica	SLBZ4036	91	91	90	88	87
	SLBW3623	89	93	89	87	86
	SLBZ7108	99	94	92	90	89
% FcRn Unión Específica	SLBZ4036	93	-	-	-	91
	SLBW3623	97	-	-	-	90

Se espera que la desamidación en HC Asn 388 y HC Asn 393 pueda superar los niveles notificados de 10,3 % y 14,5 % respectivamente, sin que ello afecte a la unión específica con el antígeno, la unión específica con Fc γ RIIIa y la unión específica con FcRn.

5

Ejemplo 13: Química: Bajo pH (tratado con ácido)

Para crear muestras de bajo pH, las muestras de mafodotina belantamab se diluyeron con un tampón de citrato para ajustar el pH a 5. Las muestras se diluyeron a 10 mg/mL y se incubaron a 25 °C/50 % HR hasta 21 días.

10

La isomerización, la desamidación y la oxidación se determinaron mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS), como se describe en el Ejemplo 11. Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usaron para calcular los niveles de isomerización, desamidación u oxidación dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados

15

La unión del BCMA y Fc γ RIIIa por el belantamab mafodotin se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR), como se describe en el ejemplo 4. La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a la mafodotina belantamab se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR) como en el Ejemplo 6.

20

Se usó la norma de referencia #182407660^a. Los resultados se resumen en la Tabla 18 y la Tabla 19.

Tabla 18: Abundancia de PTM en el mafodotin de belantamab tratado con ácido

Modificación posterior a la traducción	Lote	Días	
		0	21
HC N388 % Desamidación	SLBZ4036	0,8	2,0
	SLBW3623	0,9	2,1
	SLBZ7108	0,7	1,7
HC N393 % Desamidación	SLBZ4036	0,9	1,7
	SLBW3623	1,2	1,9
	SLBZ7108	0,9	1,6
HC D103 Succinimida	SLBZ4036	0,3	7,8
	SLBW3623	0,4	7,5
	SLBZ7108	0,3	7,5
HC M256 % Oxidación	SLBZ4036	2,9	9,7
	SLBW3623	2,9	9,3
	SLBZ7108	3,5	9,2
HC M432 % Oxidación	SLBZ4036	0,4	2,2
	SLBW3623	0,6	2,4
	SLBZ7108	0,6	2,2

5

Tabla 19: Actividad aglutinante del belantamab mafodotina tratada con ácido

Propiedad	Lote	Días			
		0	7	14	21
% de unión específica al antígeno	SLBZ4036	92	86	86	81
	SLBW3623	88	86	84	79
	SLBZ7108	99	91	86	83
% FcγRIIIa Unión específica	SLBZ4036	91	93	95	94
	SLBW3623	89	90	93	91
	SLBZ7108	99	96	95	96
% FcRn Unión Específica	SLBZ4036	93	-	-	95
	SLBW3623	97	-	-	94
	SLBZ7108	95	-	-	97

Ejemplo 14. Térmica: temperatura elevada

Para crear muestras de estrés térmico, las muestras de mafodotina de belantamab se diluyeron en el tampón de la formulación hasta 10 mg/mL y se incubaron a 40 °C/75 % HR durante un máximo de 28 días.

La isomerización, la desamidación y la oxidación se determinaron mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS) como se describe en el Ejemplo 11. Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usaron para calcular los niveles de isomerización, desamidación u oxidación dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados

La unión del BCMA y FcγRIIIa por el belantamab mafodotin se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR), como se describe en el ejemplo 4. La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a la mafodotina belantamab se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR) como en el Ejemplo 6.

Se usó la norma de referencia #182407660^a. Los resultados se resumen en la Tabla 20 y la Tabla 21.

25

30

35

Tabla 20: Abundancia de PTM en el mafodotin de belantamab tratado térmicamente

Modificación posterior a la traducción	Lote	Días	
		0	28
HC N329 % Desamidación	SLBZ4036	0,1	5,7
	SLBW3623	0,0	5,7
	SLBZ7108	0,1	5,2
HC N388 % Desamidación	SLBZ4036	0,8	3,7
	SLBW3623	0,9	3,9
	SLBZ7108	0,7	3,6
HC N393 % Desamidación	SLBZ4036	0,9	3,5
	SLBW3623	1,2	3,4
	SLBZ7108	0,9	3,2
HC D103 Succinimida	SLBZ4036	0,3	3,0
	SLBW3623	0,4	2,9
	SLBZ7108	0,3	3,0
HC D103 % Isomerización de ácido aspártico	SLBZ4036	4,4	29,0
	SLBW3623	4,5	29,3
	SLBZ7108	4,1	28,7
HC M256 % Oxidación	SLBZ4036	2,9	5,5
	SLBW3623	2,9	5,6
	SLBZ7108	3,5	6,0

Tabla 21: Actividad de fijación del mafodotín de belantamab tratado térmicamente

Propiedad	Lote	Días				
		0	7	14	21	28
% de unión específica al antígeno	SLBZ4036	92	78	71	61	55
	SLBW3623	88	86	77	67	62
	SLBZ7108	99	85	76	67	61
% Fc γ RIIIa Unión específica	SLBZ4036	91	87	87	83	83
	SLBW3623	89	97	96	93	94
	SLBZ7108	99	94	93	91	91
% FcRn Unión Específica	SLBZ4036	93	-	-	-	89
	SLBW3623	97	-	-	-	91
	SLBZ7108	95	-	-	-	93

Extrapolando los datos de isomerización en HC Asp 130, hasta un 23 % de isomerización puede resultar en una actividad de unión específica de antígenos de al menos un 70 %. Esto se calcula usando una pendiente lineal para las muestras de isomerización de Tiempo 0 (4,1-4,4 %) y 28 días (28,7-29,3 %) D103, que tienen una actividad de unión específica con el antígeno del 88-99 % y del 55-62 %, respectivamente.

Ejemplo 15 Fotoexposición

Para crear una muestra fotoexpuesta, las muestras de mafodotina belantamab se diluyeron a 10 mg/mL y se llenaron en frascos de vidrio y se transfirieron a una cámara de fotoestabilidad Caron a 25 °C para diversos grados de fotoexposición que se muestran en la Tabla 10.

La oxidación, la desamidación y la isomerización se determinaron mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS) como se describe en el Ejemplo 11. Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usaron para calcular los niveles de oxidación, desamidación o isomerización dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las áreas totales bajo la curva tanto para los péptidos modificados como para los no modificados

La unión del BCMA y FcγRIIIa por el belantamab mafodotin se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR), como se describe en el ejemplo 4. La unión del Receptor Fc Neonatal (FcRn) a la mafodotina belantamab se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR) como en el Ejemplo 6.

Se usó la norma de referencia #182407660^a. Los resultados se resumen en la Tabla 22 y la Tabla 23.

Tabla 22: Abundancia de PTM en el mafodotin de belantamab fototratado

Modificación posterior a la traducción	Lote	Control	1,5X ICH
HC N388 % Desamidación	SLBZ4036	0,8	3,4
	SLBW3623	0,9	3,6
	SLBZ7108	0,7	3,0
HC N393 % Desamidación	SLBZ4036	0,9	2,4
	SLBW3623	1,2	2,4
	SLBZ7108	0,9	2,0
HC D103 Succinimida	SLBZ4036	0,3	1,3
	SLBW3623	0,4	1,3
	SLBZ7108	0,3	1,2
HC M34 (CDRH1) % Oxidación	SLBZ4036	0,2	3,1
	SLBW3623	0,4	3,5
	SLBZ7108	0,2	3,7
HC M256 % Oxidación	SLBZ4036	2,9	27,7
	SLBW3623	2,9	29,1
	SLBZ7108	3,5	30,9
HC M432 % Oxidación	SLBZ4036	0,4	18,4
	SLBW3623	0,6	20,6
	SLBZ7108	0,6	22,7

Tabla 23: Actividad de encuadernación del mafodotín belantamab fototratado

Propiedad	Lote	Contr ol	0,25X ICH	0,5X ICH	1X ICH	1,5X ICH
% de unión específica al antígeno	SLBZ403 6	92	89	80	69	60
	SLBW36 23	88	88	81	68	63
	SLBZ710 8	99	90	83	72	62
% FcγRIIIa Unión específica	SLBZ403 6	91	93	85	79	73
	SLBW36 23	89	91	87	81	77
	SLBZ710 8	99	93	90	84	78
% FcRn Unión Específica	SLBZ403 6	93	-	-	-	78
	SLBW36 23	97	-	-	-	81
	SLBZ710 8	95	-	-	-	77

Ejemplo 16 Separación en el extremo C y ácido piroglutámico N-terminal

- 5 Se analizaron varios lotes de belantamab para determinar los niveles de ácido piroglutámico N-terminal y de división en el extremo C mediante la espectrometría de masas en tándem de mapeo peptídico (mapeo peptídico LC-MS/MS), como se describe en el Ejemplo 11. Los cromatogramas iónicos extraídos de los péptidos modificados y no modificados se usaron para calcular los niveles de división en el extremo C y de ácido piroglutámico N-terminal dividiendo el área bajo la curva del péptido modificado por las
- 10 áreas totales bajo la curva de los péptidos modificados y no modificados.

La unión del BCMA y FcγRIIIa por el belantamab se midió mediante la resonancia plasmónica superficial (SPR), como se describe en el ejemplo 4. La unión del Receptor Fc

Neonatal (FcRn) al belantamab se midió usando la resonancia plasmónica superficial (SPR) como en el Ejemplo 6.

Los estándares de referencia usados fueron el #122368059 y el #172405900. Los resultados se resumen en la Tabla 24-25.

Tabla 24: Abundancia de piroglutamato y lisina en el belantamab y actividad correspondiente

Lote	17240577 3	18240767 0	18240859 9	18240831 4	18240890 2	18240995 8
HC Q1 – Ácido piroglutámico	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
HC K451 – Escote de Lisina	88,1	90,2	90,3	88,5	89,2	89,3
Actividad vinculante específica del antígeno (%):	100	104	104	106	106	105
FcyRIIIa Actividad vinculante específica (%)	101	104	103	105	105	104

Tabla 25: Abundancia de piroglutamato y lisina en el belantamab y actividad correspondiente

Lote	122368059	122370432	152390946	162399241	172405900
HC Q1 – Ácido piroglutámico	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9
HC K451 – Escote de Lisina	93,0	96,7	94,9	95,9	90,4
Actividad vinculante específica del antígeno (%):	92	91	91	90	96
FcyRIIIa Actividad vinculante específica (%)	93	93	94	94	100

Ejemplo 17: Glicosilación

- Se analizaron varios lotes de belantamab en busca de patrones de glicosilación. Los
- 5 perfiles se determinaron mediante cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC) con cromatografía líquida de interacción hidrofílica (HILIC) de separación y detección de fluorescencia. Las muestras se diluyeron a una concentración de 10 µg/µL con agua, y los glicanos se liberaron del belantamab mediante una digestión enzimática con PNGaseF usando un kit de PNGase F de New England BioLabs, (Cat # P0705L). Los glicanos
- 10 liberados por PNGase F fueron etiquetados con antranilamida (Sigma-Aldrich, Cat # A89804). Los glicanos etiquetados fueron luego purificados para eliminar el exceso de solución de etiquetado usando un paso de columna HILIC; los glicanos se cargaron y lavaron con agua y se eludieron con acetonitrilo. Los glicanos etiquetados se separaban luego usando una columna de amida Waters Glycan BEH (cat. N° 186004742) en un UPLC
- 15 Waters Acquity con un gradiente de formación de amonio/ácido fórmico y acetonitrilo. Los glicanos se detectaron mediante detección por fluorescencia con excitación a 365 nm y emisión a 438 nm. La cuantificación de los glicanos se logró dividiendo el área bajo la curva de un glicano por el área total bajo la curva de todos los glicanos detectados.

El estándar de referencia usado fue el #122368059. Los resultados se resumen en la Tabla 26-27.

Tabla 26: Patrones de glicosilación del belantamab

Lote	17240577	18240767	18240859	18240831	18240890	18240995
	3	0	9	4	2	8
% G0	62,3	63,6	62,7	55,5	57,8	56,5
% G1	26,0	25,2	25,5	30,8	29,3	29,8
G0-GlcNAc	1,1	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0

5

Tabla 27: Patrones de glicosilación del belantamab

Lote	122368059	122370432	152390946	162399241	172405900
% G0	69,3	77,5	76,0	78,0	60,2
% G1	13,7	8,9	11,7	11,2	26,2
G0-GlcNAc	4,1	5,3	3,2	3,2	1,1

Ejemplo 18: Glicoingeniería

10

Se determinó el impacto de las muestras de belantamab enriquecidas con glicol en la actividad y la unión del ADCC. La actividad del ADCC se midió como en el Ejemplo 3. La unión de BCMA y FcR11a se determinó como en el Ejemplo 4.

15 Para los experimentos de galactosilación, se midió la glicosilación con LC-MS reducida. La muestra se diluyó a 1 mg/mL, y se añadieron 50 µL de 1M de DTT y se reaccionó a 25 °C o 37 °C durante 30 minutos antes de ser analizada en un espectrómetro de masas que podía incluir un Q-tof de Micromasa. Las cadenas pesadas y ligeras se separaron usando cromatografía de exclusión de tamaño con flujo isocrático de agua, acetonitrilo y ácido trifluoroacético. Los espectros de cada cadena pesada y ligera fueron sumados y deconvolucionados usando el software MaxEnt de Waters. Se detectaron las principales glicoformas y se estimaron las cantidades relativas a partir de los recuentos de señales o del área bajo la curva. Los resultados se resumen en el cuadro 28-29.

20

Tabla 28: Muestras de belantamab enriquecido con glicol y actividad correspondiente

	Actividad biológica por ADCC Reporter	Actividad específica de unión de la BCMA	Actividad vinculante específica FcγRIIIa
Control	0,9	94	96
G0 enriquecido	1,0	98	100
β-N-Acetilglucosaminidasa			
G0-GlcNAc enriquecida	1,6	96	97
Desglosado con PNGaseF	0,1	95	8
Control	1,1	100	103
G0 enriquecido	0,9	97	98
G0-GlcNAc enriquecido	0,9	100	99
G0-2GlcNAc enriquecido	0,8	101	97
Control	1,0	98	102
Galactosilación G1 enriquecida	1,0	97	97
Galactosilación G1,G2 enriquecida	1,1	95	94
Galactosilación 1 hora		98	99
Galactosilación 2hr		94	95
Galactosilación 4 horas		93	94

Tabla 29: Abundancia (%) de muestras de belantamab enriquecidas con glicol

	G0	G1	G2	G0-GlcNAc	G0-2GlcNAc
Control	79,7	11,5	ND	ND	ND
G0 enriquecido	92,0	0,9	ND	ND	ND
β-N-Acetilglucosaminidasa					
G0-GlcNAc enriquecida	42,0	6,9	ND	29,1	ND
Desglosado con PNGaseF	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Control	76,0	23,2	ND	0	ND
G0 enriquecido	99,2	0	ND	0,8	ND
G0-GlcNAc enriquecido	8,9	3,2	ND	43	38,5

G0-2GlcNAc enriquecido	0	0	ND	3,2	88,1
Control	63	26,1	3	ND	ND
Galactosilación G1 enriquecida	16	58	24	ND	ND
Galactosilación G1,G2 enriquecida	5	54	39	ND	ND
Galactosilación 1 hora	0	31	67	ND	ND
Galactosilación 2hr	0	14	83	ND	ND
Galactosilación 4 horas	0	5	92	ND	ND

Ejemplo 19: Intervalos tolerables

Los intervalos tolerables (actividad del 70 al 130 %) se determinaron usando los datos de los Cuadros 11 a 18 para el primer y el último punto temporal (ya sea el día 21 o el día 28, según sea pertinente para la condición). Los datos vinculantes se trazaron en relación con los porcentajes relativos de la modificación postraducciona1 pertinente para determinar la pendiente de la relación. Usando esta información, se calculó el nivel previsto de cada modificación postraducciona1 para una medición de la unión de al menos el 70 %. Los resultados de esta extrapolación se resumen en el cuadro 30. Las tendencias comunicadas reflejan ampliamente las observaciones observadas con el belantamab o el mafodotín belantamab.

Tabla 30: Extrapolación de los datos relativos a las variantes funcionales del belantamab y el belantamab mafodotin

Modificación post-traducción	Sustancias relacionadas con el producto		Impurezas relacionadas con el producto			
	Estándar de referencia % (degradación forzada máxima % probada)	Intervalo tolerable que resulta en una actividad del 70-130 %	Estándar de referencia % (degradación forzada máxima % probada)	Intervalo tolerable que resulta en una actividad del 70-130 % (unión	Intervalo tolerable que resulta en una actividad del 70-130 %	Intervalo tolerable que resulta en una actividad del 70-130 %

		(antígeno / FcγRIIIa / unión FcRn)		a antígenos)	(FcγRIIIa binding)	(unión FcRn)
Isomerización			HC D103 ≤7 % (29,3 %)	≤23 %		
Oxidación			HC M34 ≤2 % (45,5 %)	≤37 %		
			HC M256 ≤5 % (98,7 %)		≤89 %	≤64 %
			HC M432 ≤2 % (95,2 %)		≤86 %	≤61 %
Desamidación	HC N388 ≤2 % (10,3 %)	0-100 %				
	HC N393 ≤2 % (14,5 %)	0-100 %				
Recorte	HC en el extremo C lisina 88,1-96,7 % escindida	0-100 %				
Ciclización	HC N-terminal piro-glutamato 100 %	0-100 %				
Glicosilación	G0 55,5-80,0 % (99,2 %)	0-100 %				
	G1 8,9-30,8 % (58 %)	0-100 %				
	G2 Difícil de detectar/resolver (39-92 %)	0-100 %				

	G0-GlcNac 0,9-5,5 % (43 %)	0-100 %				
	G0-2GlcNac Difícil de detectar/resolver (38,5-88,1 %)	0-100 %				

Ejemplo 20: Resumen del producto de la degradación

5 A continuación, se resume la prevalencia de los productos de degradación observados en diferentes condiciones de degradación forzada que no repercuten en la actividad del belantamab mafodotín (Cuadro 31).

Tabla 31: Productos de degradación que no afectan a la potencia del belantamab mafodotin

Condición	Nivel de degradantes observados que no tienen impacto en la unión del antígeno			
	Isomerización	Desamidación	Oxidación	La unión específica del antígeno
Sin estrés	HC Asp-iso 103 4,1-4,4 % HC Asp-suc 103 0,3-0,4 %	HC Asn 388 = 0,7-0,9 % HC Asn 393 = 0,9-1,2 %	HC Met 34 = 0,2- 0,4 % HC Met 256 = 2,9- 3,5 % HC Met 432 = 0,4- 0,6 %	88-99 %
Oxidante (Oxidación de peróxido)		HC Asn 388 = 0,7-0,9 % HC Asn 393 = 0,9-1,2 %	HC Met 34 = 0,2- 0,4 % HC Met 256 = 2,9- 3,5 % HC Met 432 = 0,4- 0,6 %	88-99 % (T0)
Químico: pH alto (Base tratada)	HC Asp-iso 103 5,4-5,6 %	HC Asn 388 = 10,0-10,3 % HC Asn 393 = 13,9-14,5 % HC Asn 31 = 1 %	HC Met 256 = 4,6- 5,3 % HC Met 432 = 1,2- 2,1 %	85-89 % (pH 9,0, 21 días)
Químico: pH bajo (tratado con ácido)	HC Asp-suc 103 7,5-7,≥70	HC Asn 388 = 1,7-2,1 % HC Asn 393 < 1,6-1,9 %	HC Met 256 = 9,2- 9,7 % HC Met 432 = 2,2- 2,4 %	79-83 % (pH 5,0, 21 días)

Condición	Nivel de degradantes observados que no tienen impacto en la unión del antígeno			
	Isomerización	Desamidación	Oxidación	La unión específica del antígeno
Térmica: temperatura elevada	HC Asp-iso 103 4,1-4,4 % HC Asp-suc 103 0,3-0,4 %	HC Asn 388 = 0,7-0,9 % HC Asn 393 = 0,9-1,2 % HC Asn 329 = 0,1 %	HC Met 256 = 2,9- 3,5 %	88-99 % (T0)
Fotoexposición	HC Asp-suc 103 0,3-0,4 %	HC Asn 388 = 0,7-0,9 % HC Asn 393 = 0,9-1,2 %	HC Met 34 = 0,2- 0,4 % HC Met 256 = 2,9- 3,5 % HC Met 432 = 0,4- 0,6 %	88-99 % (T0)

Ejemplo 21

En el cuadro 32 se presenta un resumen del diseño del estudio de la degradación forzada del belantamab en los ejemplos 21 a 26. Los procedimientos fueron en general similares a los descritos en los Ejemplos 11 a 18 anteriores para el belantamab mafodotin (excepto cuando se indica).

Tabla 32: Diseño del estudio de la degradación forzada del Belantamab

Estresante	Predominante Atributo de calidad	Condición	Puntos temporales
1. 1. Condiciones oxidativas	Oxidación	Incubación de 500:1 molar (H ₂ O ₂ :mAb) a 25°C/60 % HR1	1, 3, 16 y 24 horas

Estresante	Predominante Atributo de calidad	Condición	Puntos temporales
2. Químico: pH alto (tratado con base)	Desamidación	pH 9,0 a 25°C/50 % HR	3, 7, 14, 21 y 28 días
3. Químico: Bajo pH (tratado con ácido)	Fragmentación e isomerización	pH 3,5 a 25°C/50 % HR	3, 7, 14, 21 y 28 días
4. Térmica: Temperatura elevada	Fragmentación, agregación e isomerización	40°C/75 % HR	3, 7, 14, 21 y 28 días
5. 5. Fotoexposición	Agregación y oxidación	Cámara de luz Suntest XLS con luz de xenón. Temperatura: 25 5±°C	300 kLux-horas, 50 vatios/m2; (0,25x ICH) 600 kLux-horas, 100 vatios/m2; (0,5x ICH) 1200 kLux-horas, 200 vatios/m2; (1x ICH) 1800 kLux-horas, 300 vatios/m2; (1,5x ICH)

1. RH: humedad relativa

Ejemplo 22: Condiciones oxidativas del belantamab

- 5 La oxidación del HC M256 aumentó de aproximadamente un 2 % a aproximadamente un 98 %, y la del M432 aumentó de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 96 % después de 24 horas. Hubo una disminución del 21-25 % en la unión específica para el Fc γ RIIIa y una disminución del 10- 18 % la unión del FcRn por SPR. La oxidación en el Fc probablemente altera la actividad de unión del belantamab para el Fc γ RIIIa y el FcRn. La
- 10 oxidación de HC M34 en la CDR1 aumentó de aproximadamente 0,3 % a 47,7-48,5 % después de 24 horas, lo que resulta en ningún cambio en la unión del antígeno, dentro de la variabilidad del ensayo. Los niveles de oxidación de cisteína y triptófano fueron bajos a lo largo de este estudio, y no se detectaron otras modificaciones significativas posteriores a la traducción.

Ejemplo 23: Belantamab tratado con una base

Se observó un aumento de aproximadamente 3,5 % a aproximadamente 6,5 % en la isomerización de HC D103 después de 28 días. Un aumento de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 2,5 % en HC N31; un aumento de aproximadamente 2,0 % a aproximadamente 10 % en HC N388, y un aumento de aproximadamente 1,7 % a aproximadamente 18,5 % en la desamidación de HC N393 después de 28 días. Además, también se observó un aumento de aproximadamente 2,2 % a aproximadamente 3,7 % en la oxidación de HC M256 en el belantamab de 28 días con pH 9. El análisis del cIEF mostró un aumento de aproximadamente 25 % a aproximadamente 62 % en la variante ácida; y una disminución de aproximadamente 9 % a aproximadamente 4,5 % en la variante básica (véase el cuadro 33 abajo). Todos los cambios observados estaban dentro de la variabilidad del ensayo para el antígeno, Fc γ RIIIa, y la unión específica de FcRn; por lo tanto, la unión por SPR es comparable para el belantamab con pH 9,0 estresado en el día 28.

Tabla 33: Resultados del cIEF para el belantamab tratado con una base

Variante	Lote	Días					
		0	3	7	14	21	28
% de ácido total	172402762	24,8	30,1	37,5	46,9	55,4	61,4
	182411532	25,2	31,1	37,1	45,8	56,2	63,9
	182411322	25,9	26,6	37,7	45,9	55,2	63,4
% principal	172402762	67,4	62,5	56,1	48,3	39,9	33,9
	182411532	65,1	60,9	55,1	46,7	38,7	31,2
	182411322	64,7	62,9	54,7	47,1	39,4	32,5
% total básico	172402762	7,9	7,4	6,4	4,8	4,7	4,7
	182411532	9,6	8,0	7,8	7,5	5,0	4,9
	182411322	9,4	10,5	7,5	6,9	5,3	4,1

Ejemplo 24: Belantamab tratado con ácido

El fragmento aumentó de 0,2 a 2,3-2,7 % después de 28 días. Se observó un aumento del 0,2 % al 4,0 % en la formación de succinimida en el HC D103, y un aumento de aproximadamente 3,5 % a aproximadamente 5,8 % en la isomerización del HC D103

- después de 28 días. Además de la isomerización del ácido aspártico, también se observó un aumento de aproximadamente 2,2 % a aproximadamente 3,7 % en la oxidación de HC M256 en el belantamab de 28 días con pH de 3,5. El análisis del cIEF mostró un aumento de aproximadamente 25 % a aproximadamente 2≥70 en la variante ácida; y un aumento de aproximadamente 9 % a aproximadamente 13 % en la variante básica (véase el cuadro 34 abajo). Todos los cambios observados en el antígeno, FcγRIIIa, y la unión específica de FcRn estaban dentro de la variabilidad del ensayo; por lo tanto, la unión por SPR es comparable para el belantamab con un pH de 3,5 estresado después de 28 días.

10 Tabla 34: Resultados del cIEF para el belantamab tratado con ácido

Variante	Lote	Días					
		0	3	7	14	21	28
% de ácido total	172402762	24,8	26,3	26,8	27,5	27,5	27,5
	182411532	25,2	26,3	27,4	27,7	28,8	30,0
	182411322	25,9	31,2	25,7	26,6	27,5	27,9
% principal	172402762	67,4	64,8	63,4	61,5	61,5	58,5
	182411532	65,1	63,8	60,5	58,8	59,3	57,5
	182411322	64,7	60,4	62,2	60,8	59,8	59,2
% total básico	172402762	7,9	8,9	9,8	11,0	11,1	14,0
	182411532	9,6	9,9	12,2	13,5	11,9	12,5
	182411322	9,4	8,4	12,1	12,6	12,7	13,0

Ejemplo 25: Belantamab tratado térmicamente

- 15 El fragmento aumentó del 0,≥70 al 2,2-2,3 % después de 28 días. El porcentaje agregado no cambió. Se observó un aumento del 0,2 % al 2,2 % en la formación de succinimida en el HC D103, y un aumento de aproximadamente 3,5 % a aproximadamente 29 % en la isomerización del HC D103 después de 28 días. Además de la isomerización del ácido aspártico, también se observó un aumento de aproximadamente 2,2 % a aproximadamente 5,3 % en HC M256, y un aumento de aproximadamente 1 % al 2 % en la oxidación de HC M432 en el belantamab sometido a estrés térmico a los 28 días. Un aumento de aproximadamente 0 % a aproximadamente 7 % en HC N329, un aumento de aproximadamente 2,0 % a aproximadamente 2,5 % en HC N388, y un aumento de aproximadamente 1,7 % a aproximadamente 2,6 % en la desamidación de HC N393

después de 28 días. La unión específica al antígeno se redujo a 63-67 % a los 28 días, lo que es coherente con el aumento de la isomerización de HC D103, que se ha demostrado que tiene un impacto en la unión al antígeno. Los cambios observados en la unión específica de FcγRIIIa y FcRn estaban dentro de la variabilidad del ensayo.

5

Ejemplo 26: Belantamab fototratado

El fragmento aumentó del 0,8 % al 1,5 % a 1,5X ICH, y el agregado aumentó aproximadamente del 1 % al 6,5-7,5 %. Un aumento de aproximadamente 0,3 % a 1,6-2,1 % en HC M34, un aumento de aproximadamente 2,2 % a 18,4-25,1 % en HC M256, y un aumento de aproximadamente 1 % a 13,7-19,5 % en la oxidación de HC M432 a 1,5X ICH. El análisis del cIEF mostró un aumento de aproximadamente 25 % a aproximadamente 34 % de variante ácida; y ningún cambio en la variante básica (véase el cuadro 35 abajo). Todos los cambios observados en el antígeno, FcγRIIIa, y la unión específica de FcRn estaban dentro de la variabilidad del ensayo; por lo tanto, la unión por SPR es comparable para el belantamab con un pH de 3,5 después de 28 días.

15

Tabla 35: Resultados del cIEF para el belantamab fototratado

Variante	Lote	Tratamiento				
		Control	0,25X ICH	0,5X ICH	1X ICH	1,5X ICH
% de ácido total	172402762	24,8	24,9	25,0	30,9	33,9
	182411532	25,2	28,2	30,0	31,2	34,9
	182411322	25,9	27,8	29,2	32,2	34,4
% principal	172402762	67,4	66,9	66,6	60,8	58,9
	182411532	65,1	61,8	60,9	59,2	56,6
	182411322	64,7	62,2	61,1	57,8	56,3
% total básico	172402762	7,9	8,2	8,4	8,3	7,2
	182411532	9,6	10,0	9,1	9,6	8,6
	182411322	9,4	10,0	9,7	10,0	9,3

20

El estudio sobre la degradación forzada del belantamab muestra resultados coherentes con el estudio sobre la degradación forzada del mafodotín belantamab presentado

anteriormente, con la única excepción de que hasta un 48,5 % de oxidación en HC M34 no produjo ningún cambio en la unión al antígeno, dentro de la variabilidad del ensayo.

- 5 Cabe señalar que no se presentan datos del cIEF para el mafodotín belantamab porque la carga del fármaco contribuye al perfil de carga, mientras que para el belantamab, el cIEF separa eficazmente las variantes ácidas y básicas de la especie principal (véase la figura 4).

LISTA DE SECUENCIAS

- SEQ. ID. NO. 1 – CDRH1
NYWMH
5
- SEQ. ID. NO. 2: CDRH2
ATYRGHSDTYYNQKFKG
- SEQ. ID. NO. 3: CDRH3
10 GAIYDGYDVLDN
- SEQ. ID. NO. 4: CDRL1
SASQDISNYLN
- 15 SEQ. ID. NO. 5: CDRL2
YTSNLHS
- SEQ. ID. NO. 6: CDRL3
QQYRKLPWT
20
- SEQ. ID. NO. 7: región variable de la cadena pesada (CDRs están subrayados)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGH
SDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAIYDGYDVLDN WGQG
TLVSS
25
- SED. ID. NO. 8: región variable de la cadena ligera (CDRs están subrayados)
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSNLHSGVPS
RFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYRKLPWTFGQGTKLEIKR
- 30 SEQ. ID. NO. 9: región de la cadena pesada (CDRs están subrayados)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGH
SDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAIYDGYDVLDN WGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
35 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK

TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

- 5 SEQ. ID. NO. 10: región de la cadena ligera (CDRs están subrayados)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSNLHSGVPS
 RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYRKLPWTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTL
 TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

- SEQ. ID. NO. 11: región de la cadena pesada con D103N (los CDR están subrayados)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGH
SDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAIYNGYDVLDNWGQG
 TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

20

- SEQ. ID. NO. 12: región de la cadena pesada con N388D (los CDR están subrayados)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGH
SDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAIYDGYDVLDNWGQG
 TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

- SEQ. ID. NO. 13: región de la cadena pesada con N393D (los CDR están subrayados)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGH
SDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAIYDGYDVLDNWGQG
 TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEDNYKTPPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

35

SEQ. ID. NO. 14: región de la cadena pesada con N388D y N393D (los CDR están subrayados)

VQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGHSD
TYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAIYDGYDVLNWDWGQGT
5 VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDGGQPEDNYKTTTPVLDSGDSFFLY
10 SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK