

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 15-312910-00004-0000

Fecha: 2016-03-22 16:21:57 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folic: 44

A.S

Señor
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
E. _____ S. _____ D. _____

Trámite: 11
Evento: 378
Actuación: 444

Re: PI.-AMGEN INC.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "FORMULACIÓN LÍQUIDA ESTABLE DE ETELCALCETIDE (AMG 416)".-Clase A61K 9/08.-Expediente número 15-312.910.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho mediante notificación por fijación en lista de Enero 26, 2016.
2. Con el fin de dar respuesta al Oficio **285** emitido por la Dirección de Nuevas Creaciones, a continuación me permito presentar los siguientes comentarios en relación con los requerimientos y objeciones formulados por ese Despacho:
3. **PETITORIO: TÍTULO DE LA SOLICITUD.**

En primer lugar, me permito manifestar que es deseo del solicitante modificar el título de la solicitud. De esta forma, el nuevo título se lee como sigue:

"FORMULACIÓN LÍQUIDA ESTABLE DE ETELCALCETIDE (AMG 416)"

Con respecto a lo anterior, me permito señalar que el solicitante desea modificar el título para reflejar el nombre (genérico) recientemente aprobado para el compuesto AMG 416 por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU (FDA, por sus siglas en inglés) y por la OMS de Denominaciones Comunes Internacionales (DCI).

Esta modificación es debido a que al solicitante no le fue permitido por las agencias regulatorias mantener el nombre "Velcalcetide" por lo que me permito manifestar que el cambio de la palabra "Velcalcetide" a "Etelcalcetide" es meramente para ajustarse al sistema de aprobación de la reglamentación farmacéutica.

Ahora bien, en conexión con el título de la solicitud, el Señor Examinador menciona que el título contiene una referencia a un resultado a alcanzar, por lo tanto el señor Examinador sugiere modificarlo.

Sobre este particular, me permito resaltar que este título de ninguna manera refleja un resultado a alcanzar sino que incluye características esenciales que contribuyen a definir la invención permitiendo definir de manera concreta las características técnicas de las formulaciones líquidas de Etelcalcetide (AMG 416).

Por consiguiente me permito manifestar que el nuevo título refleja de manera clara el objeto de la invención, resaltando las características técnicas esenciales las formulaciones líquidas reclamadas por la presente solicitud. Por consiguiente, dicho título supera completamente la objeción presentada por el Señor Examinador a este respecto.

4. **PAGO DE TASAS.**

El señor Examinador señala la necesidad de que se pague la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada.

En respuesta a lo anterior atentamente me permito señalar que en mi memorial del 07 de Enero de 2016, el solicitante allegó el pago por la tasa adicional correspondiente a las reivindicaciones 11 a 15 con recibo número 16-000779.

5. **PODER.**

De conformidad con esta solicitud, me permito presentar a este Despacho copia del documento de poder que acreditan a la SUSCRITA (ALICIA LLOREDADA) y/o a la doctora ANA MARIA CASTRO WEY y/o a la doctora TATIANA CARRILLO en los términos del parágrafo 1º del Artículo 543 del Decreto-Ley 410 de 1971, como Representantes Legales en Bogotá para todos los asuntos relacionados con la sociedad **AMGEN INC**, domiciliada Thousand Oaks, Estado de California, Estados Unidos de América.

En consecuencia, atentamente solicito a ese Despacho reconocerme personería, en este asunto, de conformidad con el documento de Representación Legal para todos los asuntos de la Propiedad Industrial en Bogotá de la sociedad **AMGEN INC**, otorgado a favor de la SUSCRITA (ALICIA LLOREDADA) y/o a la doctora ANA MARIA CASTRO WEY y/o a la doctora TATIANA CARRILLO de acuerdo con la copia que adjunto al presente expediente (Artículos 26 y 39 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina de Naciones).

6. **RESUMEN.**

El Señor Examinador menciona que se debe presentar un resumen que contenga las características esenciales de la composición reclamada.

En base a la anterior objeción, me permito presentar adjunto a este memorial un nuevo resumen, que así como lo sugiere el Señor Examinador, contiene todas las características esenciales de la composición reclamada, cumpliendo así con lo dispuesto en el Artículo 31 de la Decisión Andina 486 de 2000. Por lo anterior, solicito amablemente sea retirada dicha objeción.

7. **DESCRIPCIÓN.**

El Señor Examinador señala que la descripción no se encuentra completamente traducida al idioma español, por lo que sugiere hacer las aclaraciones correspondientes.

Frente al anterior señalamiento, me permito manifestar que adjunto al presente memorial se presenta el capítulo descriptivo con las correcciones necesarias sugeridas por el Señor Examinador, el cual se encuentra completamente traducido al español.

De esta manera cordialmente pido que la anterior objeción sea retirada.

8. **REINVINDICACIONES:**

8.1. **Modificaciones al Capítulo Reivindicatorio.**

En primer lugar, me permito manifestar que es deseo del solicitante presentar un **capítulo reivindicatorio modificado**, que reemplaza al actualmente presentado, con el propósito de superar las objeciones presentadas por ese Despacho.

En conexión con el mencionado **capítulo reivindicatorio modificado**, me permito resaltar que éste no constituye de ninguna manera una ampliación al alcance de la solicitud tal como fue originalmente presentada, toda vez que define claramente el objeto de la presente invención de acuerdo con las enseñanzas del capítulo descriptivo. Dichas modificaciones se exponen a continuación:

Nueva Reivindicación	Sustento
1	Corresponde a la reivindicación 1 actualmente presentada que ha sido modificada de manera que ahora contiene la estructura química de AMG 416 y demás componentes de la formulación (tampón, tonificador).

2 a 15	Corresponden a las reivindicaciones 2 a 15 actualmente presentadas.
--------	---

De esta forma, **el capítulo reivindicatorio modificado queda constituido por 15 reivindicaciones**, las cuales se refieren de manera más clara y concisa a las características técnicas esenciales del objeto de la presente solicitud, y que cuenta con pleno sustento en las enseñanzas de la descripción.

8.2. Claridad y concisión del Capítulo Reivindicatorio.

Frente a las objeciones de claridad y concisión planteadas por ese Despacho, el Señor Examinador aduce lo siguiente:

- ✓ *"La reivindicación 1 no es clara puesto que no define el AMG 416 a partir de una estructura cierta que permita determinar el alcance de la reivindicación, por tanto, se sugiere a la solicitante definir las características esenciales del compuesto activo."*

Frente al anterior señalamiento, me permito indicar que, tal y como se manifiesta en el numeral 8.1 del presente memorial, la reivindicación 1 han sido modificada para incluir la estructura de AMG 416, y las características esenciales que definen la invención.

Por lo tanto, solicito amablemente que dicha objeción sea retirada.

- ✓ *"Las reivindicaciones 2 a 5 no son claras puesto que se refieren al resultado a alcanzar correspondiente al pH de la composición, se sugiere a la solicitante proporcionar las características de la composición que permiten alcanzar dicho resultado, en este caso el tipo y concentración del agente tampón."*

Con respecto a la anterior objeción, me permito señalar que las reivindicaciones citadas por el Señor Examinador de ninguna manera hacen referencia al resultado a alcanzar correspondiente al pH. Este parámetro fundamental ayuda a definir de una manera más adecuada las características esenciales que permiten la identificación y limitan la formulación líquida estable que es objeto de la presente invención.

En este sentido, me gustaría mencionar que dentro del ámbito de las patentes, es aceptado que cierto tipo de invenciones puedan ser caracterizadas a partir de la complementación de sus características estructurales con sus características funcionales, ya que la Guía para el examen de solicitudes de patentes de invención y modelo de utilidad de la Superintendencia de Industria y Comercio, adicionalmente, señala que:

"(...) las reivindicaciones deben incluir características estructurales y funcionales cuando para la persona del oficio normalmente versada en la materia no sea obvio el funcionamiento de los elementos característicos y la relación entre estos (...) Por otro lado, las reivindicaciones pueden incluir características estructurales y funcionales cuando para la persona del oficio normalmente versada en la materia sea obvio el funcionamiento de los elementos característicos y la relación entre estos".

De acuerdo a lo discutido anteriormente, me permito reiterar que la introducción del rango de pH constituye una forma relevante para dar claridad al objeto de la invención, toda vez que la protección reclamada se limita únicamente a la materia que cumpla con todas las características mencionadas.

Por lo tanto, solicito amablemente que las objeciones a este respecto sean retiradas.

- ✓ "La reivindicación 10 y 15 no es clara puesto que no se define estructuralmente el modificador de tonicidad. Tampoco se encuentra sustentada porque existen un gran número de agentes modificadores de la isotonicidad que no se encuentran descritos en la solicitud, de manera que no es posible determinar el alcance de la reivindicación, se sugiere a la solicitante definir las características esenciales del agente modificador de tonicidad."

Con respecto al anterior señalamiento, me permito manifestar, que contrario a lo que el Señor Examinador observa, el modificador de tonicidad encuentra pleno sustento tanto en el capítulo descriptivo como en las reivindicaciones (por ejemplo, pág. 3, línea 24 y reivindicación 12) de esta manera la presente solicitud permite identificar el alcance y significado de "modificador de tonicidad" y que además la estructura de dicho modificador de tonicidad es más que conocida por la persona versada en la materia.

Por lo anterior, respetuosamente me permito solicitar a ese Despacho que la anterior objeción sea retirada.

- ✓ "Las reivindicaciones 13 y 14 no son claras puesto que se refieren a resultados a alcanzar entendido como los valores de estabilidad en el tiempo, se sugiere a la solicitante incluir los componentes que permiten alcanzar dichos resultados."

Con base en la anterior objeción, me permito manifestar que contrario a lo establecido por el Señor examinador, las reivindicaciones 13 y 14 incluyen características esenciales que contribuyen a definir la invención y por lo tanto no corresponden de ninguna manera a resultados a alcanzar ya que hacen referencia a parámetros que complementan de mejor manera las características esenciales que permiten definir de

manera concreta las características técnicas de formulación líquida estable de AMG 416 de la presente invención.

De la misma manera, me permito resaltar que de acuerdo a lo señalado por el Señor Examinador, me gustaría mencionar que la Guía para el examen de solicitudes de patentes de invención y modelo de utilidad de la Superintendencia de Industria y Comercio indica:

"Las características técnicas esenciales son las que definen la invención, las que la hacen (o deberían hacerla) diferente del estado de la técnica y, por tanto constituyen la solución al problema técnico que intenta resolver la invención."

Por lo tanto, me permito mencionar que las reivindicaciones 13 y 14 contienen características técnicas esenciales de la invención, y además definen características funcionales que permiten el entendimiento y reproducción de la invención en sí.

Acorde a lo anterior, de manera atenta me permito manifestar que las objeciones a este respecto sean retiradas.

En vista de los argumentos dados, resulta evidente que la materia reclamada es clara y concisa y que además las reivindicaciones ahora presentadas en el nuevo capítulo reivindicatorio incorporan elementos esenciales que deben ser tomados en consideración al realizar la evaluación de la solicitud. Por todo lo anterior, amablemente me permito solicitar a ese Despacho que las objeciones a este respecto sean retiradas.

9. Anexo al presente memorial, me permito presentar:

- i) Resumen-objeto y finalidad de la invención modificado;
- ii) Copia de las páginas **1 a 36** que corresponden al **capítulo descriptivo**, las cuales reemplazan a las actualmente presentadas;
- iii) Copia de las páginas **37 y 38** que corresponden al **capítulo reivindicatorio modificado**, tal como se discutió en el presente memorial, constituido por **15 reivindicaciones**; y
- iv) Copia de documento de Poder.

10. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las modificaciones y los argumentos presentados y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,



ALICIA LLORED A RICAURTE

T. P. 53.215

FORMULACIÓN LÍQUIDA ESTABLE DE ETELCALCETIDE (AMG 416)

RESUMEN – OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Se proporciona un método de preparación y el uso de una formulación líquida que comprende un agonista péptido del receptor sensible al calcio (AMG 416), un tampón y un modificador de la tonicidad y el método de preparación y uso de la formulación.

SECTOR: Química farmacéutica.

FORMULACIÓN LÍQUIDA ESTABLE DE ETELCALCETIDE (AMG 416)

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional U.S. No. 61 / 840.618, presentada el 28 de junio 2013, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente descripción se refiere a una formulación líquida que comprende un agonista péptido del receptor sensible al calcio, en particular a una formulación de tal manera que se mantiene estable después de su almacenamiento durante un período prolongado. La descripción también se refiere a métodos de preparación y uso de la formulación.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Una variedad de compuestos que tienen actividad para disminuir los niveles de hormona paratiroidea se han descrito. Vea la Publicación Internacional No. WO 2011/014707. En una realización, el compuesto puede representarse como sigue:



La cadena principal tiene 7 aminoácidos, todos en configuración D y el residuo cisteína de la cadena lateral está en la configuración L. El terminal amino está acetilado y el terminal carboxilo está amidado. Este compuesto ("AMG-416") tiene utilidad para el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario (HPTS, por sus siglas en inglés) en pacientes en hemodiálisis. Una formulación líquida que comprende AMG-416 se puede administrar a un sujeto por vía intravenosa. La sal de clorhidrato de AMG 416 se puede representar como sigue:



Los péptidos terapéuticos plantean una serie de retos en cuanto a su formulación. Los péptidos en general, y en particular aquellos que contienen un enlace disulfuro, por lo general sólo tienen una estabilidad moderada o pobre en solución acuosa. Los péptidos son propensos a la hidrólisis de enlace amida en alto y bajo pH. Los enlaces disulfuro pueden ser inestables, incluso en condiciones muy suaves (cerca de pH neutro). Además, los disulfuros que contienen péptidos que no son cíclicos son particularmente propensos a la formación de dímeros. En consecuencia, los péptidos terapéuticos se proporcionan a menudo en forma liofilizada, como un polvo seco o torta, para la reconstitución posterior. Una formulación liofilizada de un péptido terapéutico tiene la ventaja de proporcionar estabilidad durante largos períodos de tiempo, pero es menos conveniente para su uso, ya que requiere la adición de uno o más diluyentes y existe el riesgo potencial de errores debido a la utilización de un inadecuado tipo o cantidad de diluyente, así como el riesgo de contaminación. Además, el proceso de liofilización consume tiempo y es costoso.

Por consiguiente, existe la necesidad de una formulación líquida acuosa que contenga un agonista péptido del receptor sensible al calcio, tal como AMG 416. Sería deseable para la formulación líquida que se mantenga estable durante un período de tiempo relevante bajo condiciones de almacenamiento adecuadas y que sea adecuada para la administración intravenosa u otras vías parenterales.

RESUMEN DE LA INVENCION

Es proporcionada una formulación líquida que contenga un agonista péptido del receptor sensible al calcio, tal como AMG 416.

En una realización, la formulación tiene un pH de aproximadamente 2.0 a aproximadamente 5.0. En otra realización, la formulación tiene un pH de 2.5 a 4.5. En otra realización, la formulación tiene un pH de 2.5 a 4.0. En otra realización, la formulación tiene un pH de 3.0 a 3.5. En otra realización, la formulación tiene un pH de 3.0 a 4.0. En otra realización, la formulación tiene un pH de 2.8 a 3.8.

En otra realización, el pH de la formulación es mantenido por un tampón farmacéuticamente aceptable. Tales tampones incluyen, sin limitación, tampones de succinato, tampones de acetato, tampones de citrato y tampones de fosfato. En otra realización el tampón es un tampón de succinato. El pH de la formulación puede ajustarse según sea necesario con un ácido o una base, tal como HCl o NaOH.

En otra realización, el agonista péptido del receptor sensible al calcio está presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 20 mg/mL. En otra realización, el péptido está presente en una concentración de 1 mg/mL a 15 mg/mL. En otra realización, el péptido está presente en una concentración de 2.5 mg/mL to 10 mg/mL. En otra realización, el péptido está presente en una concentración de

aproximadamente 1 mg/mL, aproximadamente 5 mg/mL o aproximadamente 10 mg/mL.

En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de aproximadamente 0.1 mg/mL a aproximadamente 20 mg/mL. En una realización, AMG 416 está presente a una concentración de aproximadamente 1 mg/mL a aproximadamente 15 mg/mL. En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de aproximadamente 2.5 mg/mL a aproximadamente 10 mg/mL. En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de aproximadamente 1 mg/mL, aproximadamente 2.5 mg/mL, aproximadamente 5 mg/mL o aproximadamente 10 mg/mL.

En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de 0.1 mg/mL a 20 mg/mL. En una realización, AMG 416 está presente a una concentración de 1 mg/mL a 15 mg/mL. En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de 2.5 mg/mL a 10 mg/mL. En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de 1 mg/mL a 5 mg/mL. En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de 5 mg/mL a 10 mg/mL. En otra realización, AMG 416 está presente a una concentración de 0.5 mg/mL a 1.5 mg/mL, 2.0 a 3.0 mg/mL, 4.5 a 5.5 mg/mL ó 9.5 a aproximadamente 10.5 mg/mL.

En otra realización, la formulación comprende además un modificador de la tonicidad farmacéuticamente aceptable o mezcla de modificadores de la tonicidad, farmacéuticamente aceptables. En otra realización, el modificador de la tonicidad (o mezcla de modificadores de la tonicidad) está presente en una concentración suficiente para que la formulación sea aproximadamente isotónica con fluidos corporales (por ejemplo, sangre humana). En otro aspecto, el modificador de la tonicidad es NaCl.

En otra realización, la formulación comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista péptido del receptor sensible al calcio. En una realización preferida, la formulación comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de AMG 416.

En otra realización, la formulación tiene menos de 10% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C durante hasta 2 años. En otra realización, la formulación tiene menos de 10% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C durante hasta 3 años. En otra realización, la formulación tiene menos de 10% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C durante hasta 4 años.

En otra realización, la formulación tiene menos de 8% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C durante hasta 2 años. En otra realización, la formulación tiene menos de 8% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C durante hasta 3 años. En otra realización, la formulación tiene menos de 8% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C durante hasta 4 años.

En otra realización, la formulación tiene menos de 10% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente durante 3 meses. En otra realización, la formulación tiene menos de 10% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente durante hasta 6 meses. En otra realización, la formulación tiene menos de 10% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente durante hasta 1 año.

En otra realización, se proporciona una formulación que comprende 0.5 mg / ml a 20 mg/mL de un agonista péptido del receptor sensible al calcio (por ejemplo, AMG 416) en solución acuosa, un tampón de succinato que mantiene la formulación a un pH de aproximadamente 3.0 a aproximadamente 3.5, y una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica con la sangre humana.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es una serie de gráficos que representan la pureza (%) como función del tiempo (días) para soluciones de AMG 416 en tampón salino de succinato (pH 4,5) a temperatura ambiente (TA). La Figura 1A muestra la estabilidad de soluciones de AMG 416 que tienen concentraciones de 200, 66, 20, 6.7, 2.2 y 0.67 mg/mL de AMG 416. En la Figura 1B, la escala se expande para ilustrar más claramente el patrón de degradación a concentraciones de 20 mg/mL y por debajo.

La Figura 2 es un gráfico que representa la pureza (%) como función del tiempo (días) para soluciones de AMG 416 en tampón salino de succinato (pH 4,5) a 40°C que tienen concentraciones en el rango de 20, 6.7, 2.2 y 0.67 mg/mL de AMG 416.

La Figura 3 es una serie de gráficos que representan la pureza (%) como función del tiempo (días) para soluciones de AMG 416 en tampón salino de succinato (pH 2, 3, 4, 5 y 6) a 40 ° C. En la Figura 3A, la concentración de AMG 416 es 10 mg/mL y en la Figura 3B la concentración de AMG 416 es 2.5 mg/mL.

La Figura 4 es una serie de gráficos que representan la pureza (%) a los 28 días como una función del pH para soluciones de AMG 416 en tampón salino de succinato de 2 a 8°C, TA y 40°C. En la Figura 4A, la concentración de AMG 416 es 10 mg/mL y en la Figura 4B la concentración de AMG 416 es 2.5 mg/mL.

La Figura 5 es una serie de cromatogramas de HPLC. La traza de HPLC en la Figura 5A es una solución de AMG 416 (5 mg/mL, pH 2.25) almacenada durante 27 días a 40°C (87.8% de pureza). En la Figura 5B, la escala se expande para ilustrar más claramente los picos.

La Figura 6 es una serie de cromatogramas de HPLC. La traza de HPLC en la Figura 6A es para una solución de AMG 416 (5 mg/mL, pH 3.5) almacenada durante

27 días a 40°C (91.7% de pureza). En la Figura 6B, la escala se expande para ilustrar más claramente los picos.

La Figura 7 es un gráfico que representa la pureza (%) como función del tiempo (días) para una serie de soluciones de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato (pH 2.25, 2.5, 3.0 y 3.5) de 2 a 8°C.

La Figura 8 es un gráfico que representa la pureza (%) como función del tiempo (días) para una serie de soluciones de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato (pH 2.25, 2.5, 3.0 y 3.5) a TA.

La Figura 9 es un gráfico que representa la pureza (%) como función del tiempo (días) para una serie de soluciones de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato (pH 2.25, 2.5, 3.0 y 3.5) a 40°C.

La Figura 10 es una serie de gráficos que representan degradante (%) como función del tiempo (días) para una serie de soluciones de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato (pH 2.25, 2.5, 3.0 y 3.5). El tiempo de curso de la desamidación C-terminal se muestra de 2 a 8°C (Figura 10A), TA (Figura 10B) y a 40°C (Figura 10C). Tenga en cuenta que la escala del eje y es diferente en cada gráfico.

La Figura 11 es una serie de gráficos que representan degradante (%) como función del tiempo (días) para una serie de soluciones de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato (pH 2.25, 2.5, 3.0 y 3.5). El tiempo de curso de la formación de homodímero se muestra de 2 a 8°C (Figura 11A), TA (Figura 11B) y a 40°C (Figura 11C). Tenga en cuenta que la escala del eje y de la Figura 11C es diferente que el de las figuras 11A y 11B.

La Figura 12 es una serie de gráficos que representan la pureza (%) como una función del pH (2.8 a 3.8), concentración de AMG 416 (4 a 6 mg/mL) y NaCl (0.7 a 1.0%) para una serie de soluciones en tampón salino de succinato almacenadas de 2 a 8°C (Figura 12A), 25°C (Figura 12B) y 40°C (Figura 12C).

La Figura 13 es una serie de gráficos que representan la pureza (%) como función del tiempo (meses) para una serie de soluciones de AMG 416 (3.4 mg/mL) en tampón salino de succinato (pH 2.5, 3.0, 3.5) se almacenadas de 2 a 8°C (Figura 13A), 25°C (Figura 13B) y 40°C (Figura 13C).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE EL INVENTO

Los títulos de las secciones que aparecen aquí son propósitos organizacionales y no se deben interpretar como limitantes de la materia descrita.

A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos utilizados en relación con la presente solicitud tendrán los significados que son comúnmente entendidos por los expertos normales en la materia.

Además, a menos que sea requerido por el contexto, los términos singulares incluirán pluralidades y los términos plurales incluirán el singular.

Generalmente, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y técnicas de, biología molecular y química de proteínas descritas en el presente documento son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la materia. Los métodos y técnicas de la presente solicitud se realizan generalmente según métodos convencionales bien conocidos en la materia y como se describen en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente descripción a menos que se indique lo contrario. Véase, por ejemplo, Laszlo, *Diseño de drogas basado en Péptidos: métodos y protocolos*, Imprenta Humana (2008); Benoiton, *Química de la síntesis de péptidos*, Imprenta CRC (2005); Ausubel *et al.*, *Protocolos actuales en biología molecular*, Greene Publishing Associates (1992), que son incorporados en el presente documento como referencia para cualquier propósito. Las técnicas de purificación se realizan según las especificaciones del fabricante, como comúnmente se logra en la materia o como se describe en el presente documento. La terminología utilizada en relación con, y los procedimientos de laboratorio y las técnicas de, la química analítica, la química orgánica sintética, y la química medicinal y farmacéutica descrita en el presente documento es aquella bien conocida y comúnmente utilizada en la materia. Las técnicas estándar pueden ser utilizadas para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y la entrega, y el tratamiento de los pacientes.

Debe entenderse que esta información no se limita a la metodología particular, protocolos y reactivos, etc., se descritos en el presente documento y como tal puede variar. La terminología utilizada en el presente documento es para el propósito solamente de describir realizaciones particulares, y no se pretende limitar el alcance de la descrita, que se define únicamente por las reivindicaciones.

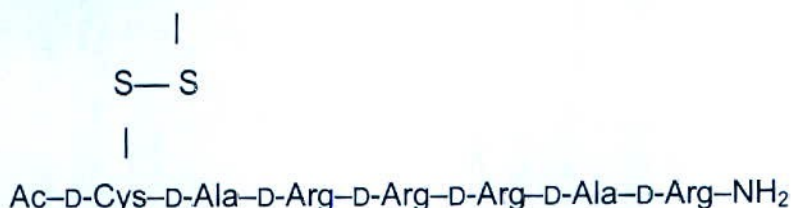
Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" en el contexto de un valor o intervalo dado se refiere a un valor o intervalo que está dentro del 20%, de preferencia dentro del 10%, y más preferiblemente dentro del 5% del valor o rango dado.

I. Definiciones Generales

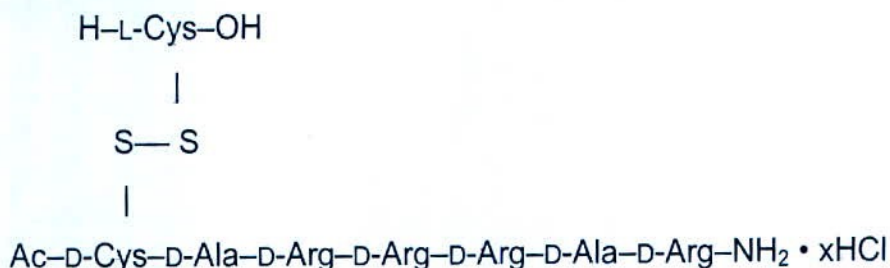
Después de la convención, como se usa aquí "un" y "una" significan "uno o más", a menos que se indique específicamente lo contrario.

El término "AMG 416" se refiere al compuesto que tiene el nombre químico: disulfuro de N-acetil-D-cisteinil-D-alanil-D-arginil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginamida con L- cisteína, que se puede representar como:





Los términos "Clorhidrato de AMG 416" o "AMG 416 HCl" son intercambiables y se refieren al compuesto que tiene el nombre químico: disulfuro de N-acetil-D-cisteinil-D-alanil-D-arginil-D-arginil-D-arginil-D alanil-D-arginamida con clorhidrato de L-cisteína, que se puede representar como:



Tal como se utiliza en el presente documento, los términos "aminoácido" y "residuo" son intercambiables y, cuando se utiliza en el contexto de un péptido o polipéptido, se refiere a ambos de origen natural y aminoácidos sintéticos, así como aminoácidos análogos, aminoácidos miméticos y aminoácidos de origen no natural que son químicamente similares a los aminoácidos de origen natural.

El término "tratar" se refiere a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o mejora de una lesión, patología o condición, incluyendo cualquier parámetro objetivo o subjetivo tal como reducción; remisión; disminución de los signos o síntomas o hacer la lesión, patología o condición más tolerable para el paciente; la desaceleración de la tasa de degeneración o deterioro; haciendo el punto final de degeneración menos debilitante; mejorando el bienestar físico o mental de un paciente. El tratamiento o mejora de los signos o síntomas pueden basarse en parámetros objetivos o subjetivos; incluyendo los resultados de un examen físico, por ejemplo, el tratamiento del SHPT, por sus sigla en inglés, al disminuir niveles elevados de la hormona paratiroidea (PTH, por sus siglas en inglés).

Los términos "dosis terapéuticamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, significa una cantidad que provoca una respuesta biológica o médica en un sistema tisular, animal o ser humano buscada por un investigador, médico u otro clínico, que incluye el alivio o mejora de los signos o síntomas de la enfermedad o trastorno a tratar, por ejemplo, una cantidad de AMG 416 que provoca una reducción deseada en el nivel elevado de PTH.

El término "temperatura ambiente" como se utiliza en el presente documento, se refiere a una temperatura de aproximadamente 25°C. Almacenamiento bajo

“condiciones de refrigeración” en el presente documento se refiere al almacenamiento a una temperatura de 2 a 8°C.

Los términos “péptido”, “polipéptido” y “proteína” son intercambiables y se refieren a un polímero de aminoácidos, típicamente unidas entre sí a través de enlaces peptídicos o de disulfuro. Los términos también se aplican a polímeros de aminoácidos en el que uno o más residuos de aminoácido es un análogo o mimético de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos de origen natural. Los términos también pueden incluir polímeros de aminoácidos que han sido modificados, por ejemplo, por la adición de residuos de carbohidrato para formar glicoproteínas, o fosforilados. Péptidos, polipéptidos y proteínas pueden ser producidos por una síntesis en fase líquida o síntesis en fase sólida o por una célula recombinante genéticamente diseñada.

Una “variante” de un péptido o polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos donde uno o más residuos de aminoácidos se insertan en, eliminan desde y/o se sustituyen en la secuencia de aminoácidos con respecto a otra secuencia polipeptídica. Las variantes incluyen proteínas de fusión.

Un “derivado” de un péptido o polipéptido es un péptido o polipéptido que ha sido modificado químicamente de alguna manera distinta de inserción, supresión, o variantes de sustitución, por ejemplo, a través de la conjugación a otro resto químico. Tal modificación puede incluir la adición covalente de un grupo al extremo amino y/o carboxi terminal del péptido o polipéptido, por ejemplo, la acetilación del extremo amino y/o amidación del extremo carboxi terminal de un péptido o polipéptido.

El término “aminoácido” incluye su significado normal en la materia. Los veinte aminoácidos de origen natural y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Véase, Síntesis Inmunología A, segunda edición, (E.S. Golub y D. R. Green, eds.), Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts (1991), que se incorpora en el presente documento como referencia para cualquier propósito..

Estereoisómeros (por ejemplo, D-aminoácidos) de los 19 aminoácidos convencionales (excepto la glicina), aminoácidos no naturales tales como [alfa] -, [alfa] aminoácidos disustituidos, aminoácidos N-alquilo, y otros aminoácidos no convencionales pueden también ser componentes adecuados para los polipéptidos y están incluidos en la frase “aminoácido”. Ejemplos de aminoácidos no convencionales incluyen: homocisteína, ornitina, 4-hidroxiprolina, [gamma]-carboxiglutamato, [épsilon]-N, N, N-trimetilisina, [épsilon]-N-acetilisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N -formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, [sigma]-N-metilarginina, y otros aminoácidos e iminoácidos similares (por ejemplo, 4-hidroxiprolina). En la notación de polipéptidos usada en el presente documento, el terminal amino está a la izquierda y el terminal carboxilo está a la derecha, de acuerdo con el uso estándar y la convención.

Un "sujeto" o "paciente" como se usa en este documento puede ser cualquier mamífero. En una realización típica, el sujeto o paciente es un ser humano.

Un "tampón" como se usa en el presente documento, se refiere a una composición, donde la composición comprende un ácido débil y su base conjugada (generalmente como una sal de base conjugada), una base débil y su ácido conjugado, o mezclas de los mismos. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente una variedad de tampones que podrían ser utilizados en las formulaciones usadas en la invención. Tampones típicos incluyen, pero no se limitan a ácidos farmacéuticamente aceptables débiles, bases débiles, o mezclas de los mismos. Tampones farmacéuticamente aceptables ilustrativos incluyen acetato (por ejemplo, acetato de sodio), succinato (por ejemplo, succinato de sodio).

La frase "ácido débil" es un ácido químico que no se ioniza completamente en solución acuosa; es decir, si el ácido está representado por la fórmula general HA, en ese caso en solución acuosa se forma A⁻, pero una cantidad significativa de HA no disociado todavía permanece. La constante de disociación ácida (K_a) de un ácido débil varía entre 1.8×10^{-16} y 55.5.

La frase "base débil" es una base química que no se ioniza completamente en solución acuosa; es decir, si la base se representa por la fórmula general B, en ese caso en solución acuosa se forma BH⁺, pero una cantidad significativa de B no protonado todavía permanece. La constante de disociación ácida (K_a) del ácido débil conjugado resultante BH⁺ varía entre 1.8×10^{-16} y 55.5.

La frase "ácido conjugado" es el miembro ácido, HX⁺, de una parte de dos compuestos (HX⁺, X) que se transforman el uno en el otro por ganancia o pérdida de un protón.

La frase "base conjugada" es el miembro base, X⁻, de un par de dos compuestos (HX, X⁻) que se transforman el uno en el otro por ganancia o pérdida de un protón.

La frase "sal de base conjugada" es la sal iónica que comprende una base conjugada, X⁻, y un contraión cargado positivamente.

La frase "sistema tampón" significa una mezcla que contiene al menos dos tampones.

El término "c.s.p." significa añadir una cantidad suficiente para conseguir una función deseada, por ejemplo, para llevar una solución al volumen deseado (es decir, 100%).

La frase "modificador de la tonicidad" significa una sustancia inerte farmacéuticamente aceptable que se puede añadir a la formulación para ajustar la tonicidad de la formulación. Modificadores de la tonicidad adecuados para esta invención incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol o glicerina u otro modificador de la tonicidad farmacéuticamente aceptable.

II. Realizaciones

La presente divulgación se refiere a formulaciones líquidas que comprenden un agonista péptido del receptor sensible al calcio, en donde la formulación tiene un pH de aproximadamente 2.0 a aproximadamente 5.0. En una realización de preferencia, la presente descripción se refiere a una formulación líquida que comprende AMG 416, en donde la formulación tiene un pH de aproximadamente 2.0 a aproximadamente 5.0. El AMG 416 y su preparación se describen en la Patente Internacional Publicación No. WO 2011/014707. Por ejemplo, AMG 416 puede ser ensamblado por síntesis en fase sólida a partir de los correspondientes D-aminoácidos Fmoc protegidos. Después de la escisión de la resina, el material puede ser tratado con Boc-L-Cys (Npys)-OH para formar el enlace disulfuro. El grupo Boc puede ser eliminado con ácido trifluoroacético (TFA, por sus siglas en inglés) y el producto resultante purificado por cromatografía líquida de alta presión de fase inversa (HPLC, por sus siglas en inglés) y aislado como la forma salina TFA por liofilización. La sal de TFA se puede convertir en una sal farmacéuticamente aceptable mediante la realización de un procedimiento subsiguiente de intercambio de sales. Tales procedimientos son bien conocidos en la materia e incluyen, por ejemplo, una técnica de intercambio iónico, seguido opcionalmente por purificación del producto resultante (por ejemplo, por cromatografía líquida de fase inversa u ósmosis reversa).

Las formulaciones descritas en este documento se describen principalmente en términos de péptido terapéutico, AMG 416, como el ingrediente activo. Sin embargo, como el experto en la materia apreciará fácilmente, la presente divulgación también se extiende a variantes y derivados de AMG 416.

Por ejemplo, en una realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N-acetil-D-cisteinil-D-alanil-D-arginil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginamida con D-cisteína. En otra realización, la formulación descrita también se puede usar con disulfuro de N-acetil-D-cisteinil-D-alanil-D-arginil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginamida con N-acetil-D-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N-acetil-D-cisteinil-D-alanil-D-arginil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginamida con N-acetil-L-cisteína.

En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N-acetil-L-cisteinil-L-alanil-L-arginil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con D-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N-acetil-L-cisteinil-L-alanil-L-arginil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con L-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N-acetil-L-cisteinil-L-alanil-L-arginil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con N-acetil-D-cisteína. En otra realización, las formulaciones

descritas también se pueden usar con: disulfuro de N-acetil-L-cisteinil-L-alanil-L-arginil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con N-acetil-L-cisteína.

En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N acetil-D-cisteinil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginil-D-alanil-D-arginamida con D-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N acetil-D-cisteinil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginil-D-alanil-D-arginamida con L-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N acetil-D-cisteinil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginil-D-arginamida con N-acetil-D-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro de N acetil-D-cisteinil-D-arginil-D-arginil-D-alanil-D-arginil-D-arginamida con N-acetil-L-cisteína.

En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro N-acetil-L-cisteinil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con D-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro N-acetil-L-cisteinil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con L-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro N-acetil-L-cisteinil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con N-acetil-D-cisteína. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden usar con: disulfuro N-acetil-L-cisteinil-L-arginil-L-arginil-L-alanil-L-arginil-L-alanil-L-arginamida con N-acetil-L-cisteína.

En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden utilizar con uno o más de los compuestos proporcionados en la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5, Tabla 6, Tabla 7, Tabla 8, Tabla 9 y/o en la Tabla 10 de la Patente International Publicación No. WO 2011/014707. En otra realización, las formulaciones descritas también se pueden utilizar con uno o más de los compuestos descritos en la Patente Internacional Publicación No. WO 2011/014707.

En algunas realizaciones, la formulación contiene una cantidad terapéuticamente eficaz del ingrediente activo (por ejemplo, AMG 416). Una cantidad terapéuticamente eficaz del ingrediente activo en cualquier realización dada de la formulación de la presente descripción dependerá del volumen de la formulación para ser entregado a un tema dado, así como la edad y el peso del sujeto, y la naturaleza de la enfermedad o trastorno a tratar. Dependiendo de la forma de dosificación, en algunos casos una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser proporcionada al paciente en una sola administración, mientras que en otros casos puede ser necesaria una pluralidad de administraciones.

La formulación líquida de la presente descripción es una composición farmacéutica adecuada para la administración por vía intravenosa, intraarterial, intramuscular y subcutánea. En una realización de preferencia, la formulación líquida

es adecuada para administración por vía intravenosa u otras rutas parenterales. Preferiblemente, la formulación líquida es una solución estéril, acuosa. Típicamente, el disolvente es agua de calidad inyectable o una mezcla de agua y uno o más de otros disolventes miscibles en agua, tales como propilenglicol, polietilenglicol y etanol. Se prefiere el uso de agua desionizada estéril como disolvente. Otros disolventes que son adecuados y convencionales para las preparaciones farmacéuticas pueden, sin embargo, ser empleados.

La formulación contiene típicamente aproximadamente de 0.1 mg/mL a aproximadamente 100 mg/mL del ingrediente activo (por ejemplo, AMG 416) de aproximadamente de 0.1 mg/mL a aproximadamente 20 mg/mL del ingrediente activo, de aproximadamente 0.5 mg/mL a aproximadamente 15 mg/mL del ingrediente activo, de aproximadamente 1 mg/mL a aproximadamente 10 mg/mL del ingrediente activo, o de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL de ingrediente activo. En algunas realizaciones, la formulación contiene aproximadamente 1 mg/mL del ingrediente activo, aproximadamente 2 mg/mL del ingrediente activo, aproximadamente 2.5 mg/mL del ingrediente activo, aproximadamente 5 mg/mL del ingrediente activo, aproximadamente 10 mg/mL del ingrediente activo o aproximadamente de 20 mg/mL del ingrediente activo. En otra realización, la formulación contiene de 0.1 mg/mL a 100 mg/mL del ingrediente activo, de 0.1 mg/mL a 20 mg/mL del ingrediente activo, de 0.5 mg/mL a 15 mg/mL del ingrediente activo, o de 1 mg/mL a 10 mg/mL del ingrediente activo, o de 2 mg/mL a 5 mg/mL de ingrediente activo. En una realización de preferencia, la formulación contiene de 1 mg/mL a 10 mg/mL de ingrediente activo. En otra realización preferida, la formulación contiene de 2 mg/mL a 5 mg/mL del ingrediente activo.

La formulación tiene típicamente un pH de aproximadamente 2.0 a aproximadamente 5.0, un pH de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 4.5, un pH de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 4.0, un pH de aproximadamente 3.0 a aproximadamente 3.5 o un pH de aproximadamente 3.0 a aproximadamente 3.6. En algunas realizaciones, la formulación tiene un pH de aproximadamente 2, un pH de aproximadamente 2.5, un pH de aproximadamente 3.0, un pH de aproximadamente 3.3, un pH de aproximadamente 3.5 o un pH de aproximadamente 4.0. En algunas realizaciones, la formulación tiene un pH de 2.0 a 5.0, un pH de 2.5 a 4.5, un pH de 2.5 a aproximadamente 4.0, un pH de 3.0 a 3.5 o un pH de 3.0 a 3.6.

Como se describe más plenamente en los ejemplos, la estabilidad de AMG 416 depende del pH de la solución. Los presentes inventores han encontrado que los dos principales productos de degradación son el resultado de la desamidación C-terminal y la formación de homodímeros. Además, los presentes inventores han encontrado que el curso temporal de la degradación por estas vías es una función del pH. Véase el

Ejemplo 6. A pH bajo, predomina la degradación por desamidación C-terminal (véase la Figura 10), mientras que a pH más alto, predomina la degradación por la formación de homodímeros (véase la Figura 11). Por lo tanto, la formación de los dos principales productos de degradación tiene la relación opuesta entre pH y el grado de degradación. Estas tendencias opuestas subyacen a los datos de estabilidad general en el rango de valores de pH y apoyan la identificación del pH 3.0 a 3.5 como el pH de estabilidad máxima de las soluciones de AMG 416.

Típicamente, la formulación contiene un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación en el intervalo deseado. En una realización, el tampón mantiene un pH de aproximadamente 2.0 a aproximadamente 5.0, un pH de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 4.5, un pH de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 4.0, un pH de aproximadamente 3.0 a aproximadamente 3.5 o un pH de aproximadamente 3.0 a aproximadamente 3.6. En algunas realizaciones, el tampón mantiene un pH de aproximadamente 2, un pH de aproximadamente 2.5, un pH de aproximadamente 3.0, un pH de aproximadamente 3.3, un pH de aproximadamente 3.5 o un pH de aproximadamente 4.0. En algunas realizaciones, el tampón mantiene un pH de 2.0 a 5.0, un pH de 2.5 a 4.5, un pH de 2.5 a aproximadamente 4.0, un pH de 3.0 a 3.5 o un pH de 3.0 a 3.6.

Cualquier tampón que es capaz de mantener el pH de la formulación a cualquier pH o dentro de cualquier intervalo de pH proporcionado anteriormente es adecuado para su uso en las formulaciones de la presente descripción, siempre que no reaccione con otros componentes de la formulación, cause precipitados visibles a la forma, o de otra manera cause que el ingrediente activo se torne químicamente inestable. El tampón utilizado en la presente formulación comprende típicamente un componente seleccionado del grupo que consiste en succinato, citrato, malato, edetato, histidina, acetato, adipato, aconitato, ascorbato, benzoato, carbonato, bicarbonato, maleato, glutamato, lactato, fosfato, y tartrato, o una mezcla de estos tampones. En una realización de preferencia, el tampón comprende succinato, por ejemplo, succinato de sodio.

Se selecciona la concentración del tampón de modo que se proporciona la estabilización del pH, así como suficiente capacidad de amortiguamiento. En una realización, el tampón está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 100 mmol/L, de aproximadamente 0.75 a aproximadamente 50 mmol/L, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mmol/L, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 mmol/L. En otras realizaciones, el tampón está presente en aproximadamente 5 mmol/L, en aproximadamente 10 mmol/L, en aproximadamente 15 mmol/L o aproximadamente 20 mmol/L. En otras realizaciones, el tampón está presente en la formulación a una concentración de 0.5 a

100 mmol/L, de 0.75 a 50 mmol/L, de 1 al 20 mmol/L, o de 10 a 20 mmol/L. En una realización de preferencia, el tampón está presente en aproximadamente 10 mmol/L. En otra realización de preferencia, el tampón es succinato presente en aproximadamente 10 mmol/L.

Desde el punto de vista de la compatibilidad de la formulación líquida con la administración intravenosa, sería deseable que el pH de la formación de líquido sea lo más cerca posible al pH fisiológico. Las formulaciones líquidas que tienen un pH que está lejos del pH fisiológico que están fuertemente amortiguada pueden causar dolor o incomodidad cuando son administradas. Como se ha discutido, las formulaciones líquidas de AMG 416 a pH fisiológico o superior no se mantendrían estables durante un período prolongado de tiempo. Por lo tanto, en una realización preferida, la formulación líquida de la presente descripción es débilmente tamponada de manera que la cantidad inyectada es rápidamente neutralizada por los fluidos fisiológicos del cuerpo del sujeto. Es sorprendente que una buena estabilidad y un buen control de pH se mantenida con la concentración baja del tampón. En una realización preferida, la sal de HCl de AMG 416 se utiliza en la preparación de la formulación líquida para minimizar la capacidad de amortiguación. Debido a que el HCl es un ácido fuerte, no actúa como un tampón. Esto proporciona una ventaja sobre el uso de un ácido más débil, tal como el ácido acético. El uso de la sal de acetato de AMG 416, por ejemplo, podría en sí proporcionar cierta capacidad de amortiguación y permitir una menor flexibilidad para ajustar la capacidad amortiguadora de la formulación y puede dar lugar a una formulación que es más resistente a la neutralización dentro del cuerpo y por lo tanto menos tolerada de buena manera. Debido a que AMG 416 es un péptido policationico, el efecto sería mayor en comparación con la mayoría de los péptidos que tienen un carácter más neutral.

En general es deseable para una formulación a ser administrada por vía intravenosa u otra ruta parenteral ser isotónica con los fluidos corporales. En algunas realizaciones, la formulación de la presente descripción contiene un modificador de la tonicidad fisiológicamente aceptable. Modificadores de la tonicidad que son útiles en la presente divulgación pueden incluir cloruro de sodio, manitol, sacarosa, dextrosa, sorbitol, cloruro de potasio, o mezclas de los mismos. En una realización de preferencia, el tonificador es cloruro de sodio.

Cuando un agente de tonicidad está presente, está presente preferiblemente en una cantidad suficiente para hacer que la formulación líquida aproximadamente isotónica con los fluidos corporales (es decir, alrededor de 270 a aproximadamente 300 mOsm/L) y adecuado para la inyección parenteral en un mamífero, tal como un sujeto humano, en forma dérmica, subcutánea, o tejidos intramusculares o IV. La isotonicidad se puede medir mediante, por ejemplo, usando una presión de vapor o el osmómetro

de tipo de hielo de congelación. Dependiendo de las concentraciones de los otros componentes en la formulación, el cloruro de sodio está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 7.0 a aproximadamente 10 mg/mL, de aproximadamente 7.5 a aproximadamente 9.5 mg/mL, o de aproximadamente 8.0 a aproximadamente 9.0 mg/mL. En una forma de realización, el cloruro de sodio está presente en la formulación a una concentración de aproximadamente 8.5 mg/mL. En otras realizaciones, el cloruro de sodio está presente en la formulación a una concentración de 7.0 a 10 mg/mL, 7.5 a 9.5 mg/mL, o 8.0 a 9.0 mg/mL.

Las formulaciones de la presente divulgación pueden incluir otros portadores farmacéuticos, excipientes o adyuvantes convencionales. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden incluir agentes estabilizantes (por ejemplo, EDTA y/o tiosulfato de sodio) o conservantes (por ejemplo, alcohol bencílico). Además, las formulaciones de la presente descripción pueden incluir agentes medicinales y/o farmacéuticos adicionales. Por ejemplo, en métodos de tratamiento de SHPT, por sus siglas en inglés, en pacientes en hemodiálisis con CKD-MBD, AMG 416 puede ser coadministrado con uno o más agentes activos en la osteodistrofia renal, tal como una terapia de vitamina D (por ejemplo, paricalcitol), que es un tratamiento establecido para SHPT.

En una realización, la formulación tiene menos del 5% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C aproximadamente durante 1 año. En otra realización, la formulación tiene menos de 5% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente durante 1 año. En otra realización, la formulación tiene la degradación de menos de 10% cuando se almacena de 2 a 8°C aproximadamente durante 1 año. En otra realización, la formulación tiene menos del 10% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente durante 1 año. En otra realización, la formulación tiene menos del 5% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C aproximadamente durante 2 años. En otra realización, la formulación tiene menos del 5% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente durante 2 años. En otra realización, la formulación tiene menos del 10% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C aproximadamente durante 2 años. En otra realización, la formulación tiene menos de 10% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente durante 2 años.

En una realización, la formulación líquida comprende de 0.1 mg/mL a 20 mg/mL del péptido terapéutico, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.0 a 5.0, y es proporcionada una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra realización, la formulación líquida comprende de 1 mg/mL a 15 mg/mL del péptido terapéutico, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.5 a 4.5, y es proporcionada una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra

realización, la formulación líquida comprende de 2.5 mg/mL a 10 mg/mL del péptido terapéutico, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.5 a 4.0, y es proporcionada una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra realización, la formulación líquida comprende de 2.5 mg/mL a 5 mg/mL del péptido terapéutico, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.5 a 3.5, y es proporcionada una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra realización, la formulación comprende de 2 mg/mL a 20 mg/mL del péptido terapéutico en solución acuosa, un tampón de succinato que mantiene la formulación a un pH de aproximadamente 3.0 a 3.5, y se proporciona una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación que sea aproximadamente isotónica.

En una realización, la formulación líquida comprende de 0.1 mg/mL a 20 mg/mL de AMG 416, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.0 a 5.0, y se proporciona una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra realización, la formulación líquida comprende de 1 mg/mL a 15 mg/mL de AMG 416, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.5 a 4.5, y se proporciona una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra realización, la formulación líquida comprende de 2.5 mg/mL a 10 mg/mL de AMG 416, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.5 a 4.0, y se proporciona una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra realización, la formulación líquida comprende de 2.5 mg/mL a 5 mg/mL de AMG 416, un tampón que mantiene la formulación a un pH de 2.5 a 3.5, y se proporciona una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica. En otra realización, la formulación comprende 2 mg/mL a 20 mg/mL de AMG 416 en solución acuosa, un tampón de succinato que mantiene la formulación a un pH de aproximadamente 3.0 a 3.5, y se proporciona una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica.

En una realización de preferencia, las formulaciones de la presente divulgación se preparan mediante la colocación de una cantidad de tampón calculado para generar el pH deseado en un recipiente adecuado y disolviendo con agua por inyección (WFI, por sus siglas en inglés), la adición de una cantidad de material (por ejemplo, la sal de clorhidrato de AMG 416) suficiente para lograr la concentración deseada del ingrediente activo (por ejemplo, AMG 416), añadiendo una cantidad de modificador de la tonicidad (o una mezcla de modificadores de la tonicidad) calculado para hacer que la formulación resultante sea isotónica con los fluidos corporales, y añadiendo la cantidad de WFI necesario para llevar el volumen total a la concentración deseada.

Después de que los ingredientes se mezclan, se ajusta el pH de aproximadamente 3.0 a aproximadamente 3.5, y los componentes se mezclan de nuevo.

Si se requiere un ajuste con el fin de lograr el intervalo de pH deseado, el valor pH se puede ajustar por medio de soluciones adecuadas; con soluciones ácidas si se indica una reducción del valor de pH y con solución alcalina si se indica un aumento del valor pH. Los ejemplos no limitantes de soluciones ácidas adecuadas son, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido cítrico y fosfato de hidrógeno de sodio o de potasio. Los ejemplos no limitantes de soluciones alcalinas adecuadas son hidróxidos alcalinos y alcalinotérreos, carbonatos alcalinos, acetatos alcalinos, citratos alcalinos y los fosfatos de hidrógeno dialcalinos, por ejemplo, hidróxido de sodio, acetato de sodio, carbonato de sodio, citrato de sodio, fosfato de hidrógeno disodio o dipotásico, o amoníaco.

El procedimiento se lleva a cabo típicamente a una temperatura desde aproximadamente 2 a 8°C a aproximadamente 50°C, y a presión atmosférica. La formulación resultante puede entonces ser transferida a recipientes de dosificación unitaria o de múltiple dosis (tales como botellas, viales, ampollas o jeringas precargadas) para el almacenamiento antes de su uso.

Las formulaciones se pueden preparar y administrar como se describe anteriormente. Alternativamente, las formulaciones pueden administrarse después de la disolución, dispersión, etc. la formulación (preparada como se ha descrito anteriormente) en un vehículo, como, por ejemplo, un fluido de infusión o en el flujo sanguíneo devuelto al paciente durante la hemodiálisis (por ejemplo, durante el enjuague de devolución).

La preparación de las formulaciones líquidas según la presente divulgación son conocidas, o serán evidentes, para los expertos en la materia, por ejemplo, véase *Ciencias Farmacéuticas de Remington*, Mack Publishing Company, Easton, PA, 17a edición, 1985.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos, incluyendo los experimentos realizados y los resultados obtenidos, se proporcionan solamente con fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

EJEMPLO 1

Solubilidad de AMG 416 en tampón salino de succinato

En este estudio, se investigó la solubilidad de AMG 416 en tampón salino de succinato. AMG 416 HCl (103 mg en polvo, 80 mg de péptido) se disolvió en 200 µL de tampón salino de succinato de sodio (25 mM de succinato, 0.9% de solución salina, pH

4.5). Después de agitación breve con vórtex, una solución clara se obtuvo con una concentración nominal de 400 mg/mL. Debido a que la expansión del volumen de la solución no se determinó, la solubilidad de AMG 416 puede ser conservadoramente fijada como al menos 200 mg/mL. Aunque la solubilidad máxima no se determinó en este experimento, AMG 416 es soluble en pH 4.5 del tampón salino de succinato a concentraciones de al menos 200 mg/mL.

EJEMPLO 2

Estudio de estabilidad dependiente de la concentración

En este estudio, se investigó la estabilidad de AMG 416 en un rango de concentraciones en tampón salino de succinato (pH 4.5). La solución de 200 mg/mL de AMG 416 del Ejemplo 1, *supra*, se diluyó adicionalmente con 200 μ L de tampón salino de succinato (pH 4.5) a una concentración nominal de 200 mg/mL, que se diluyó en serie con tampón salino de succinato (pH 4.5) a 66, 20, 6.7, 2.2 y 0.67 mg/mL. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente (es decir, aproximadamente 25°C) y las alícuotas se analizaron mediante HPLC a intervalos de hasta 29 días. Una segunda serie de muestras de AMG 416 que cubren el rango de concentración de 20 a 0.67 mg/mL se incubaron a 40°C y se analizaron de la misma manera.

La pureza al punto de tiempo de 29 días para las muestras a temperatura ambiente y 40°C se proporciona en las Tablas 1 y 2, respectivamente. Los resultados proporcionan un perfil de estabilidad de AMG 416 como una función de la concentración y la temperatura.

Tabla 1

Estabilidad a TA del AMG 416 en 25 mM de tampón salino de succinato (pH 4.5)

Concentración (mg/mL)	Pureza en el tiempo (Días)					
	0	1	2	5	13	29
200	99.8	99.6	98.4	96.4	89.0	63.8
66	99.6	99.4	99.0	98.1	97.7	91.5
20	99.6	99.7	99.7	99.6	99.3	98.7
6.7	99.4	99.6	99.5	99.5	99.3	98.9
2.2	99.3	99.2	99.3	99.4	99.3	99.1
0.67	99.4	99.5	99.5	99.7	99.5	99.3

Tabla 2

Estabilidad a 40°C del AMG 416 en 25 mM de tampón salino de succinato (pH 4.5)

Concentración (mg/mL)	Pureza en el tiempo (Días)					
	0	1	2	5	13	29
20	99.6	99.1	98.1	n.d.	90.5	72.9
6.7	99.4	99.1	98.7	n.d.	95.2	90.0
2.2	99.3	99.3	99.0	98.4	97.0	94.3
0.67	99.4	99.4	99.3	99.0	97.2	94.4

El curso temporal de la degradación de AMG 416 como una función de la concentración a temperatura ambiente se muestra en la Figura 1A. En la Figura 1B, la escala se expande para ilustrar más claramente el patrón de degradación a concentraciones de fármaco de 20 mg/mL y por debajo. El curso temporal de la degradación de AMG 416 como una función de la concentración a 40°C se muestra en la Figura 2. Los datos muestran que la estabilidad de la solución de AMG 416 está relacionada con la concentración en el intervalo de estudio de 0.67 mg/mL a 200 mg/mL. Los datos también muestran que la estabilidad de la solución de AMG 416 está relacionada con la temperatura de incubación.

La Tabla 3 muestra las predicciones de extensión de la degradación para soluciones de diversas concentraciones de AMG 416 a temperatura ambiente, basados en extensión de la degradación a los 29 días de almacenamiento, temperatura ambiente en pH 4.5 SBS. Los datos de temperatura ambiente a los 29 días encontrados en la Tabla 1 se extrapolan al periodo de tiempo establecido, asumiendo una cinética de degradación lineal. Los datos a temperatura ambiente se extrapolaron a 5°C. Se asumió una diferencia de 20°C, equivalente a una tasa 4 veces inferior de degradación. Las extrapolaciones se realizaron utilizando una sencilla aplicación de la ecuación de Arrhenius, donde a 10°C el aumento en la temperatura proporciona una tasa 2 veces mayor en la velocidad de reacción, asumiendo el mismo mecanismo de reacción y que la energía de activación para cada reacción relevante es de alrededor de 50 kJ/mol.

Los valores sombreados indican las condiciones de concentración y almacenamiento que tienen menos de 10% de degradación, que puede ser preferible para una formulación líquida.

Tabla 3

Las predicciones de la estabilidad para Soluciones de Etelcalcetide

Concentración (mg/mL)	Predicción de extensión de la degradación a:			
	2 yr TA	1 yr TA	2 yr 5°C	1 yr 5°C
66	>100	>100	50.1	25.0
20	20.9	10.4	5.2	2.6
6.7	13.9	7.0	3.5	1.7
2.2	5.2	2.6	1.3	0.7
0.67	2.7	1.4	0.7	0.3

La comparación de los datos mostrados en las Tablas 1 y 2 permite la evaluación del aumento de la temperatura como una herramienta para predecir la estabilidad a largo plazo de soluciones de AMG 416. Los datos de 0.67 a 20 mg/mL se presentan en la Tabla 4, debajo, y muestra la aceleración de la degradación a 40°C, la cual es marcadamente más alta que la predicha por Arrhenius (con los supuestos descritos, *supra*). Esto sugiere que los datos de estabilidad acelerada predecirán un mayor grado de degradación que el que se observará en la temperatura de almacenamiento real.

Tabla 4

Dependencia de la temperatura y la concentración
de la degradación de AMG 416 en solución de pH4.5

Concentración (mg/mL)	Degradación a 29 días, TA (%)	Degradación a 29 días, 40°C (%)	Acceleración TA -> 40°C (tasa)	Acceleración predicha (tasa)
20	0.9	26.7	29.7	4
6.7	0.5	9.4	18.8	4
2.2	0.2	5.0	25.0	4
0.67	0.1	5.0	50.0	4

EJEMPLO 3

Estabilidad de las formulaciones líquidas de AMG 416 sobre el rango de Ph

En este estudio, la estabilidad de formulaciones líquidas de AMG 416, a una concentración de 10 mg/mL, se determinó en un rango de pH en tampón salino de succinato. AMG 416 HCl (257 mg polvo) se disolvió en 20 mL de tampón salino de succinato de pH 4.5 para proporcionar 10.0 mg/mL de concentración del péptido (ajustado para el contenido de polvo del péptido). La solución se dividió uniformemente en cinco porciones 4 ml, que se ajustaron a pH 2, 3, 4, 5 y 6, respectivamente, con NaOH y HCl según lo necesario. Se tomaron alícuotas de tres soluciones de 1 mL de cada porción y se incubaron de 2 a 8°C, temperatura ambiente (aproximadamente

25°C) y 40°C, respectivamente. La solución restante de 1 ml en cada alícuota se diluyó con tampón salino de succinato de pH 4.5 con 4 ml de 2,5 mg/mL de concentración del péptido, se ajustó pH, y se incubó de la misma manera. Las muestras fueron recuperadas según el horario y se diluyeron con agua desionizada hasta 1.0 mg/mL para el análisis HPLC.

La pureza al punto de tiempo de 28 días para todas las muestras analizadas se proporciona en la Tabla 5 (nota: el valor inicial de pureza fue 99.3% para este estudio). Los resultados proporcionan un perfil de estabilidad como una función del pH, temperatura y concentración.

Tabla 5

Pureza al punto de tiempo de 28 días para soluciones AMG 416.

	10 mg/mL			2.5 mg/mL		
	2-8°C	TA	40°C	2-8°C	TA	40°C
pH 2	99.1	98.7	94.0	98.9	98.7	89.8
pH 3	99.4	99.1	98.2	99.1	99.0	97.2
pH 4	99.4	98.6	85.0	99.2	98.9	92.2
pH 5	99.0	93.8	64.4	98.9	96.1	73.0
pH 6	96.9	71.8	53.6	97.0	80.0	52.9

El curso temporal de la degradación de AMG 416 como una función del pH se muestra en la Figura 3. En ambas soluciones la de 10 mg/mL (Figura 3A) y 2,5 mg/mL (Figura 3B), la menor degradación se observó a pH 3. En ambas soluciones, la degradación a pH 6 avanza más rápidamente con una pureza cercana al 50% en el punto de tiempo a los 29 días. El análisis por HPLC mostró que el principal producto de degradación a pH 2 difiere del observado a pH mayor que 3. En un pH más bajo, la degradación es predominantemente por desamidación por hidrólisis y a pH más alto, la degradación es predominantemente por formación del homodímero.

El perfil de estabilidad como una función del pH en el punto de tiempo a los 28 días se muestra en la Figura 4. Se puede observar de nuevo en ambas a 10 mg/mL (Figura 4A) y 2,5 mg/mL (Figura 4B) que, en este conjunto de experimentos, el pH a menor degradación es de aproximadamente 3.0. Además, las disminuciones en la pureza se relacionan con la temperatura en todos los niveles de pH, con la menor degradación observada en las muestras incubadas de 2 a 8°C, y la mayor degradación observada en las muestras incubadas a 40°C.

Basado en la extensión de la degradación a los 28 días, se calcularon las predicciones de la extensión de la degradación como se describe, *supra*. Las predicciones para la solución de 10 mg/mL se proporcionan en la Tabla 6 y de las predicciones para el 2.5 mg/mL se proporcionan en la Tabla 7. Los valores sombreados

indican las condiciones que muestran la menos del 10% de degradación, y que pueden preferirse para una formulación líquida. las condiciones en las a los 28 días la muestra exhibe ligeramente mayor pureza que los datos iniciales se presentan como 0.0% para todas las proyecciones.

Estas extrapolaciones sugieren menos del 10% de degradación después de 2 años a temperatura ambiente para soluciones de 2.5 o 10 mg/mL a pH 3. En general, los datos de temperatura elevada predicen mayor degradación a los 2 años que los datos de temperatura más baja. Por lo tanto, para los estudios de 10 mg/mL (Tabla 6), mientras el pH 3 se prevé que sea de menos de 10% de degradación de todos los datos de la temperatura, los datos de 2 a 8°C predice una menor extensión de la degradación que las temperaturas más altas, y de hecho, de 2 a 8°C, el valor a pH 4 también es favorable para menos del 10% de la degradación. Del mismo modo, a 2.5 mg/mL, un intervalo de pH entre 2 y 4 se predice que tenga menos del 10% de degradación durante 2 años a temperatura ambiente cuando se extrapola desde los datos de 2 a 8°C.

Tabla 6

Predicciones de la estabilidad para soluciones de 10 mg/mL de AMG 416
Basadas en la extensión de la degradación a los 28 días

2 a 8°C	Degradación observada a los 28 días (%)	Degradación calculada			
		a 360 d (%)	a 1 y TA (%)	a 2y 5°C (%)	a 2y TA (%)
pH = 2	0.3	3.8	15.4	7.7	30.7
pH = 3	-0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
pH = 4	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
pH = 5	0.3	3.5	13.8	6.9	27.6
pH = 6	1.9	23.9	95.7	47.8	>100

TA	Degradación observada a los 28 días (%)	Degradación calculada			
		a 360 d (%)	a 1 y TA (%)	a 2y 5°C (%)	a 2y TA (%)
pH = 2	0.6	8.1	8.1	4.0	16.1
pH = 3	0.2	2.6	2.6	1.3	5.1
pH = 4	0.7	8.6	8.6	4.3	17.1
pH = 5	5.6	71.4	71.4	35.7	>100
pH = 6	26.9	>100	>100	>100	>100

	Degradación observada a los 28 días (%)	Degradación calculada			
		a 360 d (%)	a 1 y TA (%)	a 2y 5°C (%)	a 2y TA (%)
40°C					
pH = 2	5.3	68.4	17.1	8.6	34.2
pH = 3	1.1	14.1	3.5	1.8	7.0
pH = 4	14.3	>100	45.8	22.9	91.7
pH = 5	34.9	>100	>100	55.9	>100
pH = 6	45.1	>100	>100	72.2	>100

Tabla 7

Predicciones de la estabilidad para soluciones de 2.2 mg/mL de AMG 416
Basadas en la extensión de la degradación a los 28 días

2 a 8°C	Degradación observada a los 28 días (%)	Degradación calculada (%)			
		1y 2a8°C	1y TA	2y 2a8°C	2y TA
pH = 2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
pH = 3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
pH = 4	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
pH = 5	0.2	2.9	11.8	5.9	23.5
pH = 6	0.8	10.7	43.0	21.5	86.0

TA	Degradación observada a los 28 días (%)	Degradación calculada (%)			
		1y	1y TA	2y 2a8°C	2y TA
pH = 2	0.6	7.9	7.9	4.0	15.9
pH = 3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
pH = 4	0.3	3.6	3.6	1.8	7.2
pH = 5	2.9	37.7	37.7	18.9	75.5
pH = 6	18.1	231.0	231.0	115.5	462.1

40°C	Degradación observada a los 28 días (%)	Degradación calculada (%)			
		1y	1 y TA	2y 2a8°C	2y TA
pH = 2	9.1	116.5	29.1	14.6	58.3
pH = 3	1.8	22.5	5.6	2.8	11.3
pH = 4	6.9	88.7	22.2	11.1	44.3
pH = 5	26.1	333.6	83.4	41.7	166.8
pH = 6	45.0	575.7	143.9	72.0	287.8

La Tabla 8 presenta el efecto de aceleración de la temperatura para estos datos de una manera similar a la Tabla 4, *supra*. Esto indica de nuevo que la elevación de temperatura tiende a proporcionar una mayor aceleración de la degradación que la que se espera por extrapolación basado en la simple aplicación de los principios de Arrhenius.

Tabla 8

Aceleración de la temperatura como función del pH

	28 d Deg 10 mg/mL			Aceleración: datos de 10 mg/mL					
	2a8°C	TA	40°C	TA / predi-cha		40°C / predi-cha		40°C /predi-cha	
pH 2	0.2	0.6	5.3	3	4	28	16	9	4
pH 3	-0.1	0.2	1.1	>2	4	>10	16	6	4
pH 4	-0.1	0.7	14.3	>7	4	>100	16	22	4
pH 5	0.3	5.6	34.9	19	4	116	16	6	4
pH 6	2.4	27.5	45.7	12	4	19	16	2	4

En cada valor de pH, los datos de degradación para cada una de las tres temperaturas se comparan con los datos de las otras dos temperaturas para calcular la aceleración observada. La aceleración predicha es mediante la simple aplicación de los principios de Arrhenius como se describe anteriormente. Como se ha descrito, abajo, el análisis de HPLC muestra que el mecanismo de degradación predominante a pH inferior a aproximadamente 3 es diferente que el observado a pH mayor que aproximadamente 3.

EJEMPLO 4

Efecto de Excipientes tonificantes en la Estabilidad

En este estudio, se determinaron los efectos de varios excipientes farmacéuticos sobre la estabilidad de AMG 416 en formulación líquida. Una solución de 10 mg/mL de AMG 416 y soluciones madre de manitol, glicina, arginina, NaCl y Na2SO4 a concentraciones isotónicas 2x, se prepararon. El pH de la solución de AMG 416 y las cinco soluciones de excipiente y agua desionizada por separado se ajustaron a pH 3.5

usando HCl/NaOH. Alícuotas de 500 μ L de cada una de las seis soluciones se añadieron a viales de vidrio y 500 μ L de la solución de AMG 416 se añadió a las mismas viales y se mezclaron bien. Esto se realizó por triplicado para proporcionar dieciocho muestras de viales, que contienen cada una 5 mg/mL de AMG 416 y una concentración isotónica del excipiente (o agua desionizada). Esto se repitió con un conjunto de soluciones ajustadas a pH 4.5, proporcionando otras dieciocho muestras de viales. Las muestras se incubaron y se retiraron para el análisis de HPLC en puntos de tiempo relevantes.

Los datos de estabilidad al punto de tiempo de 56 días se muestran en la Tabla 9. Se observó un comportamiento de rango de estabilidad como una función del excipiente. Bajo la mayoría de condiciones ensayadas, las formulaciones de NaCl mostraron la menor cantidad de degradación. Las excepciones son para los datos de 2 a 8°C y a pH de 3.5 y 4.5. Se observó mayor variabilidad para otros excipientes, aunque la arginina parecía ser perjudicial en las muestras de 40°C y en las muestras a pH 4.5 a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), y el sulfato de sodio parecía ser perjudicial en las muestras a pH 4.5 a temperatura ambiente y a 40°C.

Tabla 9

Extensión de la degradación (%) a los 56 días para 5 mg/mL de solución de AMG 416

Temp	2 a 8°C		TA		40°C	
pH	3.5	4.5	3.5	4.5	3.5	4.5
Agua DI	0.0	0.7	1.0	3.6	8.2	24
Manitol	0.0	0.5	0.5	2.2	4.9	23
Gli	0.0	0.6	0.6	6.4	17	28
Arg	0.0	0.5	0.6	29	28	67
NaCl	0.1	1.1	0.3	1.8	3.0	18
Na ₂ SO ₄	0.0	0.4	0.4	51	9.4	30

La Tabla 10 extrapola los datos a 2 años en almacenamiento a temperatura ambiente, y una tendencia similar se observa tal como se discute, *supra*, en ese almacenamiento a alta temperatura en general predice la degradación de forma más rápida que lo esperado por una simple aplicación de los principios de Arrhenius.

Tabla 10

Extensión prevista de la degradación (%) para 5 mg/ml de soluciones AMG 416

Después de almacenamiento de 2 años a temperatura ambiente.

Temp	2a8°C		TA		40°C	
pH	3.5	4.5	3.5	4.5	3.5	4.5
Agua DI	1	35	13	47	27	77
Manitol	0	28	7	28	16	75
Gli	3	31	8	83	55	90
Arg	2	27	7	>100	90	>100
NaCl	4	56	4	24	10	58
Na ₂ SO ₄	2	22	5	>100	31	98

Los datos muestran que el cloruro de sodio puede ser un modificador de la tonicidad adecuado para formulaciones de la solución de AMG 416.

EJEMPLO 5

Estabilidad de la solución en diferentes tampones

En este estudio, la estabilidad de formulaciones líquidas de AMG 416 se evaluó en cuatro diferentes tampones por 9 días. Soluciones salinas tamponadas fueron preparadas a una concentración de 25 mM, pH 4.5, para cuatro diferentes tampones aniónicos en la forma de sal de sodio: acetato, citrato, lactato y succinato. AMG 416 HCl (polvo) se disolvió en cada solución tamponada para proporcionar una solución de 2,5 mg/mL y el pH se ajustó a 4.5 con HCl/NaOH. Las soluciones se diluyeron adicionalmente con un tampón a pH 4.5 para 1.0 mg/mL y 0.25 m /mL. Cada una de las soluciones resultantes se dividió a dos viales de vidrio de HPLC, uno almacenado de 2 a 8°C y uno a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). El análisis por HPLC se llevó a cabo a 0, 4 y 9 días para la determinación de la potencia y la pureza.

La pureza de AMG 416 en la mayoría de las muestras en todos los puntos de tiempo fue de 100%, con la excepción de algunos pequeños picos para la muestra de citrato a los 9 días que pueden ser atribuidos a la variación de la línea de base. En todos los tampones probados, AMG 416 mostró una buena estabilidad durante el estudio de 9 días.

EJEMPLO 6

Estabilidad en Soluciones Tamponadas a pH 2.25, 2.5 3.0 y 3.5

En este estudio, se investigó la estabilidad de una formulación líquida de AMG 416 en condiciones de pH bajo. El tampón salino de succinato (10 mM, pH 3.5) se preparó disolviendo 59 mg de ácido succínico en 45 ml de agua procesada en el laboratorio (desionizada) y ajustando el pH a 3.5 usando HCl 1N y NaOH 1 N según se necesitó, y c.s.p. 50 ml. De la misma manera, se preparó una solución tampón 10 mM, pH 3.5 de lactato de sodio (56 mg/50 mL).

AMG 416 HCl (128 mg polvo) se disolvió en 20 mL de tampón de succinato para proporcionar una solución de 5 mg/mL de AMG 416 que se dividió en dos porciones

iguales de 10 mL. Se añadió NaCl (90 mg) a una porción y manitol (500 mg) a la otra. Cada porción de 10 mL se dividió nuevamente en dos porciones iguales de 5 mL y el pH se ajustó a 2.25 y 3.5, respectivamente, con HCl 1N y NaOH 1N. De la misma manera, cuatro soluciones de 5 mL se prepararon usando tampón de lactato. 1,0 ml de cada una de las soluciones (ocho) resultante se añadió a 3 viales de muestra de suero. Además, el pH 2.25 restante, la solución de AMG 416 tamponada con succinato que contiene NaCl se ajustó a pH 2.5 y alícuotas de 0,5 mL se añadieron a 3 viales de muestra de suero y la solución tamponada de succinato de pH 3.5 con NaCl se ajustó a pH 3.0 y alícuotas de 0.5 mL se añadieron a 3 viales de muestra de suero. Véase la Tabla 11.

En cada punto de tiempo (0, 2, 8, 12 y 24 semanas) todas las 30 muestras fueron recuperadas de almacenamiento, equilibradas a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), y una alícuota de 100 µL se diluyó a 0,5 mg/mL con agua para análisis RP-HPLC. Las muestras restantes se volvieron a sellar y devueltas a sus respectivas condiciones de almacenamiento.

Tabla 11
Descripción de los números de muestra

pH	2.25				3.5				2.5	3.0
Tampón	Lactato		Succinato		Lactato		Succinato		Succinato	
Excipiente	NaCl	Manitol	NaCl	Manitol	NaCl	Manitol	NaCl	Manitol	NaCl	NaCl
2 a 8°C	1	2	3	4	5	6	7	8	25	28
TA	9	10	11	12	13	14	15	16	26	29
40°C	17	18	19	20	21	22	23	24	27	30

Datos de HPLC representativos para el estudio se muestran en las Figuras 5 y 6. La traza de HPLC mostrada en la Figura 5 es una muestra a pH 2.25 almacenada durante 67 días a 40°C (5 mg/mL, 87.8% de pureza). La Figura 5B muestra una escala diferente para verlas a las impurezas. La Figura 6 ilustra el efecto de aumentar el pH a 3.5 para la formulación de otro modo equivalente (pH 3.5, 40°C, 5 mg/mL, 67 días, 91.7% de pureza). La Figura 6B muestra una escala diferente para ver las impurezas. Como en el estudio anterior, una diferencia notable es vista en el perfil de degradación como los cambios de pH.

La pureza de AMG 416 como una función del tiempo se presenta en la Tabla 12 (Concentración de tampón de 10 mM: L = lactato; S = succinato. Modificador de la tonicidad: N = 0.9% NaCl; M = 5% de manitol). Tenga en cuenta que el lote usado contenía 3.4% del dímero en el tiempo 0. El punto de tiempo a los 14 días para la muestra 26 se omitió debido a un error en la preparación de la muestra.

Las tendencias de los datos seleccionados se representan en forma gráfica en las figuras 7 a 9.

Tabla 12

Estabilidad de la solución de AMG 416 a 5 mg/mL a 67 días en solución tamponada

Muestra	pH	Temp	Tampón	Tonic.	Pureza (%) en el Tiempo (Días)				
					0	14	27	49	67
1	2.25	5	L	N	96.8	96.4	97.0	95.7	95.7
2	2.25	5	L	M	96.8	96.4	95.9	96.0	95.7
3	2.25	5	S	N	95.6	95.1	95.1	94.6	93.8
4	2.25	5	S	M	95.4	95.1	95.4	94.0	94.0
5	3.5	5	L	N	96.9	96.6	96.4	95.8	96.2
6	3.5	5	L	M	96.8	96.9	96.9	96.0	94.5
7	3.5	5	S	N	95.3	95.7	95.5	95.0	95.0
8	3.5	5	S	M	95.4	95.2	95.1	95.1	94.4
9	2.25	25	L	N	96.9	96.4	95.2	94.0	92.8
10	2.25	25	L	M	96.9	96.6	95.6	93.2	94.9
11	2.25	25	S	N	95.3	94.2	93.9	91.7	90.6
12	2.25	25	S	M	95.6	94.5	94.1	92.5	92.1
13	3.5	25	L	N	96.6	96.3	96.3	94.7	95.2
14	3.5	25	L	M	96.5	96.2	95.3	94.8	93.3
15	3.5	25	S	N	95.3	95.1	94.8	93.4	93.3
16	3.5	25	S	M	95.8	95.3	94.7	93.5	93.6
17	2.25	40	L	N	96.7	91.9	87.8	83.5	79.4
18	2.25	40	L	M	96.5	93.8	89.5	86.6	83.0
19	2.25	40	S	N	95.3	89.9	86.9	80.4	76.3
20	2.25	40	S	M	95.4	91.8	89.6	85.3	82.9
21	3.5	40	L	N	96.7	94.3	91.7	89.5	86.2
22	3.5	40	L	M	96.6	92.2	85.9	79.5	77.3
23	3.5	40	S	N	95.3	92.3	89.3	86.8	84.2
24	3.5	40	S	M	95.6	91.6	88.5	84.2	80.3
25	2.5	5	S	N	95.4	94.9	95.2	94.8	94.4
26	2.5	25	S	N	95.2	ND	94.5	93.2	93.2
27	2.5	40	S	N	95.3	92.3	90.3	85.0	82.4
28	3.0	5	S	N	95.4	95.4	94.9	94.7	94.9
29	3.0	25	S	N	95.6	94.9	95.0	93.9	94.2
30	3.0	40	S	N	95.3	92.5	90.0	86.9	85.2

La Figura 7 proporciona estabilidad de la solución de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato como una función del pH bajo condiciones de refrigeración (2 a 8°C). La Figura 8 proporciona estabilidad de la solución de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato como una función del pH después de un almacenamiento a temperatura ambiente. Figura 9, proporcionan estabilidad de la solución de AMG 416 (5 mg/mL) en tampón salino de succinato como una función del pH después de almacenamiento a 40°C.

El perfil de degradación en el último punto de tiempo se presenta en la Tabla 13, y el curso temporal de la aparición de los dos principales productos de degradación (desamidación C-terminal y la formación de homodímero) se muestra en las Tablas 14 y 15. Las figuras 10 y 11 presentan la evolución en el tiempo de la degradación de estos productos individuales (desamidación C-terminal y la formación homodímero, respectivamente) como una función del pH de formulaciones seleccionadas (aquellas formulaciones de las que se dispone de un conjunto completo de condiciones de pH, es decir, aquellas que contienen NaCl y succinato, pero no lactato o manitol).

La Figura 10 indica una clara dependencia del pH para la desamidación, con degradación significativamente mayor por esta vía a pH 2.25 que a pH más alto, y una correspondencia directa entre el pH y la cantidad de desamidación. En contraste, la formación de homodímero presentado en la Figura 11 muestra la relación inversa entre el pH y la extensión de la degradación. Estas tendencias opuestas subyacen los datos de estabilidad generales presentados en las Figuras 7 a 9, y la estabilidad máxima para soluciones de AMG 416 en este conjunto de experimentos fue observada a pH de 3.0 ± 0.5 .

La correlación entre la estabilidad y la composición excipiente es menos clara. En cuanto a la selección tampón (succinato vs. lactato), la inspección de los datos de las Tablas 12 a 14 no muestra ningún patrón claro de preferencia por el uno o el otro con respecto a cualquiera de los principales productos de degradación a pH 2.25 ó 3.5. Todas las muestras con tampón de succinato mostraron menor pureza en el tiempo 0 que las correspondientes muestras tamponadas con lactato, debido a la mayor integración del pico homodímero. La razón de esto no está clara, pero puede indicar un cambio en la absorbancia relativa para los padres y el dímero como una función de tampón. Sin embargo, como se señaló anteriormente, la incubación posterior proporciona esencialmente idéntica tasa de degradación en presencia de cualquier tampón. En cuanto a la elección de modificador de la tonicidad (NaCl o manitol), el cloruro de sodio parece mejorar la tasa de desamidación a pH 2.25 (véase la Tabla 13, las muestras 9 a 12 a 25°C y, especialmente, las muestras 17 a 20 a 40°C). Sin embargo, el NaCl parece suprimir (en comparación con manitol) la degradación al

homodímero a pH 3.5 (Tabla 14, las muestras 13 a 16 a 25° C y especialmente las muestras 21 a 24 a 40°C).

Tabla 13

Perfil de Degradación de soluciones de AMG 416 (5 mg/mL) después de 67 días

				Principales Impurezas (% total de area)				
t=67 Días				Acido	Dímero	Dímero Trisulfuro	Diacetil	Trisulfuro
pH	Temp	Tampón	Tonic.	8.1 min	9.3 min	9.5	7.4 min	8.2 min
2.25	5	L	N	0.8	0.4			
2.25	5	L	M	0.5	0.6			
2.25	5	S	N	0.8	0.8			
2.25	5	S	M	1.1	0.1			
3.5	5	L	N		0.1			
3.5	5	L	M	1.2	1.6			
3.5	5	S	N	0.2	0.1			
3.5	5	S	M	0.7	-0.1			
2.25	25	L	N	2.5	0.3		0.3	0.9
2.25	25	L	M	1.2	0.4		0.3	
2.25	25	S	N	3.1	0.4		0.4	
2.25	25	S	M	1.6	0.9			
3.5	25	L	N		1.4			
3.5	25	L	M		3.1			
3.5	25	S	N	0.2	1.8			
3.5	25	S	M		2.1		0.1	
2.25	40	L	N	13.9	0.4	0.7	2.9	
2.25	40	L	M	8.7	1.6	0.6	2.0	0.3
2.25	40	S	N	14.2	0.0	0.2	3.1	
2.25	40	S	M	8.9	2.4	0.6	2.5	0.3
3.5	40	L	N	1.4	7.4	1.0		0.7
3.5	40	L	M	0.5	17.0	0.5		1.0
3.5	40	S	N	1.0	8.1	0.6	0.1	0.6
3.5	40	S	M	1.0	11.7	0.7		1.3
2.5	5	S	N	0.5	0.5			
2.5	25	S	N	1.5	0.2		0.4	
2.5	40	S	N	8.4	1.1	0.4	1.9	
3.0	5	S	N		0.2		0.4	
3.0	25	S	N		1.3		0.1	
3.0	40	S	N	2.4	5.5	0.6	0.6	0.5

Concentración Tampón a 10 mM: L = Lactato; S = succinato. Modificador de la tonicidad: N= 0.9% NaCl; M = 5% manitol). El valor del % del dímero refleja aumento en el degradante después de restar el valor inicial.

Tabla 14

La desamidación en la Solución de AMG 416 (5 mg/mL) en puntos de tiempo hasta 67 días

Muestra	pH	Temp	Tampón	Tonic.	% Degradación en el tiempo (Días)				
					0	14	27	49	67
1	2.25	5	L	N	0.1			0.7	0.8
2	2.25	5	L	M			0.9	0.8	0.5
3	2.25	5	S	N			0.4	0.8	0.8
4	2.25	5	S	M				0.3	1.1
5	3.5	5	L	N			0.3	0.4	
6	3.5	5	L	M					1.2
7	3.5	5	S	N					0.2
8	3.5	5	S	M					0.7
9	2.25	25	L	N			1.3	1.6	2.5
10	2.25	25	L	M			1.2	1.2	1.2
11	2.25	25	S	N		1.1	1.4	2.0	3.1
12	2.25	25	S	M		0.7	1.0	1.3	1.6
13	3.5	25	L	N					
14	3.5	25	L	M					
15	3.5	25	S	N					0.2
16	3.5	25	S	M					
17	2.25	40	L	N		3.4	6.6	10.2	13.9
18	2.25	40	L	M		2.5	4.8	7.0	8.7
19	2.25	40	S	N		3.9	6.6	11.0	14.2
20	2.25	40	S	M		2.3	4.2	6.4	8.9
21	3.5	40	L	N			0.9	0.9	1.4
22	3.5	40	L	M			0.5	0.6	0.5
23	3.5	40	S	N			1.0	1.0	1.0
24	3.5	40	S	M			0.4	0.3	1.0
25	2.5	5	S	N					0.5
26	2.5	25	S	N			0.7	1.3	1.5
27	2.5	40	S	N		2.0	3.3	6.7	8.4
28	3.0	5	S	N					
29	3.0	25	S	N				0.3	
30	3.0	40	S	N		1.0		2.2	2.4

Concentración Tampón a 10 mM: L = Lactato; S = succinato. Modificador de la tonicidad: N= 0.9% NaCl; M = 5% manitol).

La estabilidad máxima para soluciones de AMG 416 en este conjunto de experimentos se observó a pH de 3.0 ± 0.5 . La tasa de degradación total a pH 2.5 y 3.5 es similar, pero el perfil de degradación es diferente. La estabilidad a pH 2.25 es inferior debido mayores cantidades de desamidación observadas. Mientras que algunos efectos del excipiente pueden ser observados en el perfil de estabilidad, los datos no indican una preferencia general entre los sistemas de excipiente estudiadas, cuando se formulan a un pH de 3.0.

Tabla 15

Degradación de AMG 416 a homodímero en soluciones 5mg/mL
en puntos de tiempo hasta 67 días

Muestra	pH	Temp	Tampón	Tonic.	Dímero (% Aumento)				
					0	14	27	49	67
1	2.25	5	L	N	0.0	0.5	-0.1	0.5	0.4
2	2.25	5	L	M	0.0	0.4	0.0	0.0	0.6
3	2.25	5	S	N	0.0	0.5	0.1	0.1	0.8
4	2.25	5	S	M	0.0	0.3	0.0	0.2	0.1
5	3.5	5	L	N	0.0	0.2	0.1	0.2	0.1
6	3.5	5	L	M	0.0	-0.1	0.0	0.2	1.6
7	3.5	5	S	N	0.0	-0.4	-0.2	0.0	0.1
8	3.5	5	S	M	0.0	0.2	0.1	-0.1	-0.1
9	2.25	25	L	N	0.0	0.5	0.4	0.5	0.3
10	2.25	25	L	M	0.0	0.3	0.1	0.5	0.4
11	2.25	25	S	N	0.0	-0.1	0.0	0.0	0.4
12	2.25	25	S	M	0.0	0.5	0.5	0.2	0.9
13	3.5	25	L	N	0.0	0.3	0.3	0.9	1.4
14	3.5	25	L	M	0.0	0.4	0.3	1.5	3.1
15	3.5	25	S	N	0.0	0.2	0.5	1.1	1.8
16	3.5	25	S	M	0.0	0.5	1.0	1.4	2.1
17	2.25	40	L	N	0.0	0.6	0.8	0.5	0.4
18	2.25	40	L	M	0.0	0.0	0.3	0.6	1.6
19	2.25	40	S	N	0.0	0.5	0.4	0.8	0.0
20	2.25	40	S	M	0.0	0.6	0.6	1.3	2.4
21	3.5	40	L	N	0.0	2.4	3.7	5.5	7.4
22	3.5	40	L	M	0.0	4.1	9.5	15.0	17.0
23	3.5	40	S	N	0.0	2.8	4.6	6.3	8.1
24	3.5	40	S	M	0.0	3.7	6.6	9.0	11.7
25	2.5	5	S	N	0.0	0.4	0.2	0.0	0.5
26	2.5	25	S	N	0.0		0.1	0.5	0.2
27	2.5	40	S	N	0.0	0.6	0.6	1.5	1.1
28	3.0	5	S	N	0.0	0.0	0.5	0.2	0.2
29	3.0	25	S	N	0.0	0.6	0.6	0.9	1.3
30	3.0	40	S	N	0.0	1.6	3.2	4.8	5.5

Concentración Tampón a 10 mM: L = Lactato; S = succinato. Modificador de la tonicidad: N= 0.9% NaCl; M = 5% manitol). Tenga en cuenta que la degradación se expresa como un aumento en el contenido de dímero (no dímero total) como el API, por sus siglas en inglés, utilizado para el experimento ya que contiene una cantidad apreciable de dímero.

La estabilidad máxima para soluciones de AMG 416 en este conjunto de experimentos se observó a pH de 3.0 ± 0.5. el análisis de soluciones formuladas a pH 2.5 o 3.5 muestran diferentes perfiles de degradación, con la hidrólisis de la amida C-terminal siendo el más grande producto de degradación a pH bajo, mientras que la formación de homodímero fue mayor a pH más altos. Las formulaciones líquidas a pH 3.0 han predicho la degradación total de 2 a 4% en 2 años bajo condiciones de refrigeración.

EJEMPLO 7

Estudio de Robustez

En este estudio, se investigó la estabilidad de una formulación líquida de AMG 416 bajo una variedad de condiciones de fabricación y analíticas. Se prepararon catorce grupos de formulación de prueba, cada uno con una combinación diferente de pH (2.7, 3.3 ó 3.9), concentración de péptido (4.5 ó 6 mg/mL) y concentración de sal (0.7, 0.85 ó 1.0%). La osmolalidad de cada formulación se mantuvo igual (succinato 10 mM). Véase la Tabla 16.

Tabla 16

Grupos de prueba de formulación

Muestra	pH	Succinato (mM)	Péptido (mg/mL)	NaCl (%)
1	3.3	10	5	0.85
2	3.9	10	4	1.0
3	2.7	10	4	0.85
4	3.9	10	6	0.7
5	3.3	10	4	0.7
6	3.9	10	6	1.0
7	3.3	10	5	1.0
8	3.3	10	5	0.85
9	3.9	10	5	0.85
10	3.3	10	6	0.85
11	2.7	10	6	0.85

12	2.7	10	5	1.0
13	2.7	10	5	0.7
14	3.9	10	4	0.7

Las muestras (2.1 mL) de cada uno de los grupos de prueba de formulación se dispensaron en viales de vidrio Tipo 1B de 3 ml (Schott, Alemania) y sellados (tapón de caucho). Conjuntos de los viales se almacenaron en posición vertical durante tres meses a temperaturas de 4°C, 25°C ó 40°C. Los cambios en el pH, la osmolalidad, porcentaje de AMG 416, y los productos de degradación fueron evaluados pasados los tres meses.

La superficie de respuesta dependiente del tiempo definida por los tres factores (pH, % de péptidos y % de NaCl) se estimó mediante ajustando un modelo estadístico que describe dicha superficie a los datos para cada respuesta HPLC y a cada temperatura (JMP® software de descubrimiento estadístico, SAS, por sus siglas en inglés). La simulación de Monte Carlo se utilizó para generar las distribuciones de las respuestas de HPLC predichas en el punto de ajuste (pH = 3.3, péptido = 5% y NaCl = 8.5%) como una función de la variación aleatoria de factores alrededor del punto de ajuste y el ruido aleatorio .

No se observaron cambios significativos en el pH y la osmolaridad con el tiempo. A 4°C y 25°C, la pureza se mantuvo al 92% o mayor, la desamidación fue del 4% o menos y la formación de homodímero fue del 4% o menos sobre toda la longitud del estudio. A 40°C, la formación de la pureza, la desamidación y el homodímero fue vista a partir del 1 mes. Sin embargo, la desamidación y la formación de homodímero se redujeron a medida que el intervalo de pH se acercaba alrededor de 3.3, lo que indica que el pH tiene un impacto significativo en la formación de estos productos de degradación.

Basándose en estos datos, es posible proporcionar una predicción del perfil de pureza en un rango de pH entre 2.8 a 3.8. Como se muestra en la Figura 12, la pureza a cada temperatura es fuertemente dependiente del pH, y menos dependiente de la concentración de péptido y de NaCl dentro del intervalo ensayado. Bajo condiciones de refrigeración, el efecto del pH es menos significativo en los valores de pH por encima de 3.3, pero a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), valores más altos de pH son asociados con una degradación más rápida. Las formulaciones para uso terapéutico pueden ser objeto de almacenamiento a largo plazo en condiciones de refrigeración. Además, de be tenerse en consideración la exposición potencial de la formulación a temperaturas más altas durante la fabricación, envasado, etiquetado y uso clínico. Así, en este conjunto de experimentos, se observó que un valor de pH en el

intervalo ensayado de 2.8 a 3.8 ($3.3 \pm 0,5$) sería adecuado para formulaciones con AMG 416.

EJEMPLO 8

Estabilidad a largo plazo de las formulaciones líquidas de AMG 416 sobre un rango de pH.

En este estudio, la estabilidad a largo plazo de una formulación líquida de AMG 416, a una concentración de 3.4 mg/mL, se determinó sobre un rango de pH en tampón salino de succinato. Agua purificada USP (1200 mL) se dispensó en un vaso de precipitados de vidrio. Se añadieron succinato de sodio (4.05 g) y cloruro de sodio (13.5 g) y se agitó para disolver. El pH se ajustó a 2.5 con NaOH 1N y/o HCl 1N según fue necesario. AMG 416 HCl (5.5 g de peso en polvo) se añadió, se agitó para disolver y c.s.p. 1.500 mL con agua purificada para proporcionar 3.4 mg/mL de solución (AMG 416).

La solución se dividió en tres porciones y el pH para cada porción se ajustó a 2.5, 3.0 y 3.5, respectivamente. Cada solución se filtró por separado a través del filtro PVDF de 0.22 micrómetros y se dispensaron 2 ml a viales de 5 cc. Después de haber sido taponados, sellados y etiquetados, los viales se colocaron en cámaras de estabilidad designados a $5^{\circ}\text{C} \pm 3$, $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ y $40^{\circ}\text{C} \pm 2$. Las muestras fueron recuperadas según lo programado y se diluyeron con agua desionizada a 1.0 mg/mL para el análisis HPLC. La pureza en el mes 0, 1, 2, 3, 5, 12 y 24 se proporciona en la Tabla 17 (nota: el valor inicial de pureza fue 99.2% para este estudio). Los resultados proporcionan un perfil de estabilidad a largo plazo de una formulación líquida 3.4 mg/mL de AMG 416 como una función del pH y la temperatura.

Tabla 17

Pureza en puntos de tiempo hasta 24 meses para soluciones de AMG 416.

pH	Temp (°C)	Pureza (%) en el tiempo (Meses)							Degradación a 2y
		0	1	2	3	5	12	24	
2.5	5	99.2	99.0	98.8	98.8	98.1	96.8	94.8	4.4
	25	99.2	96.9	95.2	93.4	89.3	80.9	68.5	30.7
	40	99.2	88.8	81.9	75.3	60.9	39.1	20.4	78.8
3	5	99.2	99.1	99.1	99.2	98.7	98.3	97.7	1.5
	25	99.2	98.2	97.5	96.7	95.0	91.1	84.6	14.6
	40	99.2	93.7	90.2	86.4	78.9	61.6	39.2	60.0
3.5	5	99.2	99.2	99.2	99.2	98.8	98.6	98.3	0.9
	25	99.2	98.6	98.1	97.6	96.2	93.4	89.2	10.0
	40	99.2	94.6	91.5	88.7	83.1	67.5	46.1	53.1

El curso temporal de la pureza de la formulación líquida de AMG 416 en cada nivel de pH se muestra en la Figura 13. En todas las temperaturas, la mayor pureza se observó a pH 3.5, mientras que la mayor degradación se observó a pH 2.5. Además, a todas las temperaturas, la pureza a pH 3.0 y 3.5 fue significativamente mayor que la pureza a pH 2.5. Así, por ejemplo, para las muestras refrigeradas, la pureza a los 24 meses fue de 98.3 y 97.7 para las soluciones a pH 3.5 y 3.0, respectivamente, pero sólo 94.8 para la solución a pH 2.5. Además, la disminución en la pureza se vio relacionada con la temperatura en todos los niveles de pH, con la menor degradación observada en las muestras incubadas de 2 a 8°C y la mayor degradación observada en las muestras incubadas a 40°C. El degradante principal observado a pH 2.5 fue el producto desamidado y a pH 3.5 el homodímero fue observado.

Estos datos confirman que las formulaciones descritas son capaces de mantener la estabilidad adecuada de AMG 416 sobre al menos una duración de dos años bajo condiciones de refrigeración. La degradación observada es lineal en todos los casos y apoya las conclusiones basadas en la extrapolación de los datos de los experimentos anteriores. A partir de estos datos, el pH óptimo está entre 3.0 y 3.5 basándose en el equilibrio entre las diferentes vías de degradación.

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes citadas en esta especificación se incorporan en el presente documento como referencia como si cada publicación o solicitud de patente individual estuvieran específica e individualmente indicadas para ser incorporadas de referencia. Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo para propósitos de claridad de comprensión, será fácilmente evidente para aquellos con expertos cotidianos en la materia a la luz de las enseñanzas de esta invención que ciertos cambios y modificaciones pueden hacerse en la misma sin apartarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Una formulación farmacéutica que comprende AMG 416



en solución acuosa,

un tampón y un modificador de la tonicidad, en la que la formulación tiene un pH de 2.0 a 5.0.

2. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene un pH de 2.5 a 4.5.
3. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene un pH de 2.5 a 4.0.
4. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene un pH de 3.0 a 3.5.
5. La formulación de la reivindicación 1, en la que el pH es mantenido por un tampón farmacéuticamente aceptable.
6. La formulación de la reivindicación 5, en la que el tampón es succinato.
7. La formulación de la reivindicación 1, en la que el AMG 416 está presente en la formulación a una concentración de 0.1 mg/mL a 20 mg/mL.
8. La formulación de la reivindicación 1, en la que el AMG 416 está presente en la formulación a una concentración de 1 mg/mL a 15 mg/mL.
9. La formulación de la reivindicación 1, en la que el AMG 416 está presente en la formulación a una concentración de 2.5 mg/mL a 10 mg/mL.

10. La formulación de la reivindicación 1, que comprende un modificador de la tonicidad farmacéuticamente aceptable.
11. La formulación de la reivindicación 10, en la que el modificador de la tonicidad está presente en la formulación a una concentración suficiente para que la formulación sea aproximadamente isotónica.
12. La formulación de la reivindicación 10, en la que el tonificador es NaCl.
13. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene menos del 10% de degradación cuando se almacena de 2 a 8°C por 2 años.
14. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene menos del 10% de degradación cuando se almacena a temperatura ambiente por 2 años.
15. Una formulación que comprende de 2 mg/mL a 20 mg/mL de AMG 416 en solución acuosa, un tampón de succinato que mantiene la formulación a un pH de aproximadamente 3.0 a 3.5, y una concentración suficiente de cloruro de sodio para que la formulación sea aproximadamente isotónica.

Los abajo firmados,

AMGEN INC.

con domicilio en

One Amgen Center Drive,
Thousand Oaks, California 91320
Estados Unidos de América

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o ANA MARIA CASTRO y/o TATIANA CARRILLO, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o ANA MARIA CASTRO y/o TATIANA CARRILLO, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, y en especial para la presentación de la solicitud de patente entrada en fase nacional de la solicitud

PCT/US2014/044622 para –“FORMULACIÓN LÍQUIDA ESTABLE DE AMG 416 VELCALCETIDE”-

a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o ANA MARIA CASTRO y/o TATIANA CARRILLO, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned,

AMGEN INC.

domiciled at

One Amgen Center Drive,
Thousand Oaks, California 91320-1799
United States of America

hereby appoint, ALICIA LLOREDA y/o ANA MARIA CASTRO y/o TATIANA CARRILLO, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

ALICIA LLOREDA y/o ANA MARIA CASTRO y/o TATIANA CARRILLO, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, and in particular for the pursue of the national phase application in Colombia for *SW/PR*

PCT/US2014/044622 for –“STABLE LIQUID FORMULATION OF AMG 416 (VELCALCETIDE)”-

for such purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize ALICIA LLOREDA y/o ANA MARIA CASTRO y/o TATIANA CARRILLO, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 9 day of March 2016
in Thousand Oaks, California US

AMGEN INC.

Stuart L Watt
Stuart L. Watt

Vice President, Law and Intellectual Property Officer