PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y COMPOSICIONES LÍQUIDAS ESTABLES DE ANTICUERPOS CONTRA IL-17

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica prioridad respecto a la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.° 62/095.210, presentada el 22 de diciembre de 2014, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad.

CAMPO TÉCNICO

La divulgación se refiere a productos farmacéuticos que comprenden composiciones farmacéuticas líquidas estables de anticuerpos contra IL-17 y fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej., AIN457 (secukinumab), y a procesos para preparar tales productos farmacéuticos y composiciones farmacéuticas líquidas.

ANTECEDENTES DE LA DIVULGACIÓN

IL-17A es la linfocina central de un subconjunto definido recientemente de linfocitos T inflamatorios, las células Th17, que son primordiales en varios procesos inflamatorios y autoinmunitarios. Cabe esperar que la neutralización de IL-17A trate la patofisiología subyacente de enfermedades mediadas por el sistema inmunitario y, como consecuencia, proporcione alivio de los síntomas. El secukinumab (AIN457) es un anticuerpo anti-humano monoclonal totalmente humano de alta afinidad que inhibe la actividad de IL-17A, el cual ha surgido como tratamiento potencial para pacientes con varias enfermedades autoinmunitarias, p. ej., artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, diabetes, asma, psoriasis en placas crónica y esclerosis múltiple. Varios estudios de Fase II y III han mostrado que secukinumab es superior al placebo a la hora de conseguir el PASI 75 en el

tratamiento de la psoriasis en placas crónica (p. ej., dosis de secukinumab de 3×150 mg y 3×75 mg fueron ambas superiores al placebo a la hora de conseguir el PASI 75 en la Semana 12 (un 81.5% y un 57.1%, respectivamente, frente a un 9.1%) en el estudio CAIN457A2220. En la actualidad el secukinumab se utiliza en estudios globales de Fase III para el tratamiento de psoriasis en placas crónica y, de nuevo, ha mostrado superioridad en comparación con el placebo y, recientemente, también en comparación con etanercept.

La Solicitud de Patente Internacional PCT/EP2011/069476 proporciona composiciones de secukinumab liofilizadas basadas en sacarosa, las cuales se reconstituyen con 1 mL de agua inmediatamente antes de su uso. Sin embargo, el documento PCT/EP2011/069476 no proporciona ninguna descripción de un producto farmacéutico o una composición farmacéutica líquida de secukinumab listo para usar que sea estable a largo plazo. Es más, la estabilidad marginal de las proteínas en composiciones líquidas a menudo previene el almacenamiento a largo plazo a temperatura ambiente o en condiciones de refrigeración. Además, se pueden producir varias reacciones físicas y químicas en solución (agregación [covalente y no covalente], desamidación, oxidación, fragmentación, isomerización, desnaturalización), que conducen a un incremento de los niveles de productos de degradación y/o la pérdida de bioactividad. Una composición líquida de anticuerpos lista para usar comercial debería proporcionar una estabilidad física y química suficiente del anticuerpo durante el transporte y la manipulación para garantizar que se cumplan las reivindicaciones de seguridad del producto y

dosis cuando la molécula se administra a un paciente. Concretamente, una composición líquida de anticuerpos aceptable debe potenciar la estabilidad y minimizar la degradación proteica, especialmente la agregación proteica, con el fin de evitar reacciones inmunogénicas graves. Además, la composición también debe tener una osmolalidad y un valor de pH aceptables para la aplicación subcutánea y debe tener una viscosidad baja como prerrequisito para su fabricación (formación del compuesto, filtración, rellenado), a la vez que debe ofrecer la posibilidad de ser administrada con una jeringa. Encontrar un equilibrio entre tantos requisitos resulta difícil, lo que hace que la producción de una composición biofarmacéutica acuosa viable desde un punto de vista comercial suponga un reto técnico.

Independientemente de los retos técnicos expuestos anteriormente, hemos desarrollado ahora con éxito productos farmacéuticos y composiciones farmacéuticas líquidas listos para usar beneficiosos y novedosos de los anticuerpos contra IL-17 y fragmentos de unión al antígeno descritos en la presente, p. ej., secukinumab.

BREVE SUMARIO DE LA DIVULGACIÓN

La divulgación proporciona productos farmacéuticos que incluyen un envase (p. ej., pluma, jeringa, vial, autoinyector) que tiene un espacio vacío con menos de aproximadamente un 12% de oxígeno (p. ej., menos de aproximadamente un 10% de oxígeno, menos de aproximadamente un 8% de oxígeno, menos de aproximadamente un 6% de oxígeno, etc.) y una composición líquida dispuesta dentro del envase. La composición líquida no se ha reconstituido a partir de un liofilizado, sino que en su lugar es una composición líquida lista para usar que incluye por lo general al menos

uno de los anticuerpos contra IL-17 descritos o fragmentos de unión al antígeno de estos (p. ej., secukinumab), un tampón, un surfactante, metionina y un estabilizante, así como también subcombinaciones de estos. Hemos determinado que el uso combinado de estabilizantes particulares con un nivel de oxígeno bajo en el espacio vacío del envase contribuye de forma significativa a la estabilidad a largo plazo del producto farmacéutico líquido y evita la oxidación del anticuerpo contra IL-17 (p. ej., secukinumab) incluido en la composición. Estas composiciones líquidas tienen unas propiedades excelentes, p. ej.:

después de un almacenamiento de 13 meses a 25 °C, una formación de agregados medida por SEC $\leq$ 3.5% para composiciones que contienen metionina 2.5 mM, $\leq$ 3.0% para 5 mM; y $\leq$ 2.2% para 20 mM; y

después de un almacenamiento de 13 meses a 25 °C, unos productos de degradación según RP-HPLC (suma de las variantes antes del pico principal) $\leq$ 39.4% para composiciones que contienen metionina 2.5 mM, $\leq$ 37.8% para 5.0 mM, y $\leq$ 34.5% para 20 mM.

Por consiguiente, en la presente se describen productos farmacéuticos que comprenden: un envase que tiene un espacio vacío, donde el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 12%, y una composición farmacéutica líquida que tiene un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2 dispuesta dentro de dicho envase, comprendiendo dicha composición: de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml de secukinumab; y L-metionina de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 20 mM, donde la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

También se describen en la presente productos farmacéuticos que comprenden: un envase que tiene un espacio vacío, donde el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 6%, y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho envase, comprendiendo dicha composición de aproximadamente 25 mg/mL a aproximadamente 150 mg/mL de un anticuerpo contra IL-17 descrito en la presente (p. ej., secukinumab), histidina de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM de pH 5.8, trealosa de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM, aproximadamente un 0.02% de polisorbato 80 y metionina de aproximadamente 2.5 mM a aproximadamente 20 mM, donde la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

En la presente también se describen procesos para reducir la oxidación de secukinumab, que comprenden: preparar una composición líquida que tiene un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2 y que tiene: de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml de un anticuerpo contra IL-17 descrito en la presente (p. ej., secukinumab); y metionina de aproximadamente 2.5 mM a aproximadamente 20 mM; disponer dicha composición líquida en un envase que tiene un espacio vacío; y ajustar el contenido de oxígeno en el espacio vacío para que sea inferior o igual a aproximadamente un 12%.

En la presente también se describen composiciones farmacéuticas líquidas estables que comprenden de aproximadamente 25 mg/mL a aproximadamente 150 mg/mL de un anticuerpo contra IL-17 descrito en la presente (p. ej., secukinumab), un tampón de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM (p. ej., histidina) de pH 5.8, un

estabilizante de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM (p. ej., trealosa), aproximadamente un 0.02% de surfactante (p. ej., polisorbato 80) y metionina de aproximadamente 2.5 mM a aproximadamente 20 mM.

La divulgación también se refiere al uso de estos productos farmacéuticos y composiciones líquidas estables para el tratamiento de varios trastornos mediados por IL-17 (p. ej., trastornos autoinmunitarios tales como psoriasis, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica y artritis reumatoide) y a kits que contienen estos productos farmacéuticos y composiciones líquidas estables.

En la siguiente descripción y reivindicaciones adjuntas, se proporcionan composiciones, productos, métodos, regímenes, usos y kits adicionales. A partir de la siguiente descripción y reivindicaciones adjuntas, para los expertos en la técnica serán evidentes otras características, ventajas y aspectos de la presente divulgación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las **Figuras 1A-D** muestran el impacto de diferentes estabilizantes antioxidantes sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido: el parámetro estima partículas subvisibles de 1 µm mediante el oscurecimiento de la luz (partículas/ml) después de 8 semanas a 5 °C (A) especies previas al pico principal según RP-HPLC (%) después de 8 semanas a 25 °C (B) DP-SEC (%) después de 8 semanas a 40 °C (C) AP-SEC (%) después de 8 semanas a 40 °C (D).

La **Figura 2** muestra el efecto de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad de 25 mg/ml de secukinumab para un almacenamiento a 25 °C: especies previas al pico

principal según RP-HPLC (%). Línea discontinua gris: ajuste lineal para unos datos de L-metionina 10mM/5% de contenido de oxígeno en el espacio vacío; línea discontinua negra: ajuste lineal para unos datos de L-metionina 0 mM/5% de contenido de oxígeno en el espacio vacío.

La **Figura 3** muestra el efecto de L-metionina, trealosa y polisorbato 80 sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido almacenado durante 6 meses a 25 °C: especies previas al pico principal según RP-HPLC (%).

Las **Figuras 4A y B** muestran el efecto de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido almacenado a 5 °C AP-SEC (%) (A) y las especies previas al pico principal según RP-HPLC (%) (B) en presencia de L-metionina 5 mM y 0 mM.

La **Figura 5** muestra el efecto de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido después de 30 meses a 5 °C y 13 meses a 25 °C: AP-SEC (%) (A) y especies previas al pico principal según RP-HPLC (%) (B).

Las **Figuras 6A y B** muestran el efecto de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad en un vial (10% de contenido de oxígeno en el espacio vacío) de 25 mg/ml de secukinumab líquido después de un almacenamiento de 3 meses a 40 °C AP-SEC (%) (A) y la suma de las impurezas según CE-SDS (no reductora) (%) (B).

La **Figura 7** muestra el efecto del contenido de oxígeno en el espacio vacío sobre 150 mg/ml de secukinumab líquido en una jeringa que se almacena a 25 °C: AP-SEC (%).

Las **Figuras 8A-D** muestran el efecto del contenido de oxígeno en el espacio vacío y el volumen de rellenado sobre

AP-SEC (%) en 150 mg/ml de secukinumab líquido en una jeringa después de un almacenamiento a 25 °C (A, B) y 5 °C (C, D). El volumen de rellenado para A y C es de 0.5 mL. El volumen de rellenado para B y D es de 1.0 mL.

La **Figura 9** muestra el efecto del contenido de oxígeno en el espacio vacío y el volumen de rellenado sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido después de 6 meses a 5 °C y 25 °C: pureza según RP-HPLC.

La **Figura 10** muestra el efecto de la concentración de L-metionina y el contenido de oxígeno en el espacio vacío sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido después de un almacenamiento de 6 meses a 25 °C (A): AP-SEC (%).

La **Figura 11** muestra el efecto de una purga de nitrógeno y la concentración de L-metionina sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido: especies previas al pico principal según RP-HPLC (%).

Las **Figuras 12A y B** muestran el efecto del pH sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido después de un almacenamiento de 4 semanas a 40 °C: estimaciones escaladas/2 (efecto del incremento en el pH de 0.3 unidades) para la estabilidad, especies previas al pico principal según RP-HPLC (% de cambio) (A) y AP-SEC (% de cambio) (B).

Las **Figuras 13A-D** muestran el efecto del pH sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido después de un almacenamiento a 5 °C: turbidez (NTU) (A), pureza según SEC (%) (B), variantes ácidas según CEX (%) (C), AP-SEC (%) (D).

La **Figura 14** muestra el impacto del estabilizante sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido después de un almacenamiento de 8 semanas a 25 °C: el parámetro estima AP-SEC.

La **Figura 15** muestra el efecto del surfactante sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido después de agitar: el parámetro estima las partículas subvisibles de tamaño ≥ 1 µm mediante el oscurecimiento de la luz (partículas por ml).

Las **Figuras 16A-D** muestran el efecto del tipo de tampón sobre la estabilidad en una jeringa de 150 mg/ml de secukinumab líquido: el parámetro estima AP-SEC (%) tras el estrés de congelación-descongelación (A), AP-SEC (%) tras el estrés de agitación (B), las especies previas al pico principal según RP-HPLC (%) después de un almacenamiento de 8 semanas a 25 °C (C), DP-SEC (%) después del estrés de agitación (D).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

La expresión "que comprende" abarca "que incluye", así como "constituido por", p. ej., una composición "que comprende" X puede estar constituida exclusivamente por X o puede incluir algo adicional, p. ej., X + Y.

El término "aproximadamente", en relación con un valor numérico x, se refiere a +/-10% a menos que el contexto indique lo contrario.

El término "mensualmente" se refiere a aproximadamente cada 4 semanas (p. ej., cada 4 semanas), que se corresponde a aproximadamente cada 28 días (p. ej., cada 28 días).

El término "anticuerpo", tal como se menciona en la presente, incluye anticuerpos enteros y cualquier fragmento de unión al antígeno o cadenas sencillas de estos. Un

"anticuerpo" de origen natural es una glicoproteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas mediante enlaces disulfuro. Cada una de las cadenas pesadas está constituida por una región variable de la cadena pesada (abreviada en la presente como V_H) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada está constituida por tres dominios: CH1, CH2 y CH3. Cada una de las cadenas ligeras está constituida por una región variable de la cadena ligera (abreviada en la presente como VL) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera está constituida por un dominio: CL. Las regiones V_H y V_L se pueden subdividir adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones hipervariables o regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones de armazón (FR). Cada una de las V_H y V_L está constituida por tres CDR y cuatro FR dispuestas desde el extremo amino hacia el extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden participar en la unión de la inmunoglobulina a los tejidos o factores del hospedador, incluidas diversas células del sistema inmunológico (p. ej., células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico. En algunas realizaciones de los métodos, regímenes, kits, procesos, usos y composiciones descritos, se emplea un anticuerpo para IL-17 o el receptor de IL-17,

preferentemente un anticuerpo para IL-17, p. ej., secukinumab.

Un "anticuerpo aislado", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente exento de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (p. ej., un anticuerpo aislado que se une específicamente a IL-17 está sustancialmente exento de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos de IL-17). La expresión "anticuerpo monoclonal" o "composición de anticuerpo monoclonal", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un preparado de moléculas de anticuerpo de una sola composición molecular. Se pretende que la expresión "anticuerpo humano", tal como se utiliza en la presente, incluya anticuerpos que tienen regiones variables en las que tanto las regiones de armazón como CDR derivan de secuencias de origen humano. Un "anticuerpo humano" no tiene por qué ser producido necesariamente por un ser humano, tejido humano o célula humana. Los anticuerpos humanos de la divulgación pueden incluir residuos aminoacídicos no codificados por secuencias humanas (p. ej., mutaciones introducidas mediante mutagénesis aleatoria o específica del sitio *in vitro*, mediante la adición de N-nucleótidos en las uniones *in vivo* durante la recombinación de genes de anticuerpos, o mediante mutación somática *in vivo*). En algunas realizaciones de los métodos, regímenes, kits, procesos, usos y composiciones descritos, el anticuerpo contra IL-17 es un anticuerpo humano, un anticuerpo aislado y/o un anticuerpo monoclonal.

La expresión "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo, tal como se utiliza en la presente, se refiere

a fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (p. ej., IL-17). Se ha demostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede ser ejecutada por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de unión englobados en la expresión "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo incluyen un fragmento Fab, un fragmento monovalente constituido por los dominios V_L, V_H, CL y CH1; un fragmento F(ab)2, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab enlazados por un puente disulfuro en la región bisagra; un fragmento Fd constituido por los dominios V_H y CH1; un fragmento Fv constituido por los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; un fragmento dAb (Ward *et al.*, 1989 *Nature* 341:544-546), constituido por un dominio V_H; y una CDR aislada. Los sitios de unión al antígeno ilustrativos incluyen las CDR de secukinumab tal como se exponen en las SEQ ID NOs:1-6 y 11-13 (**Tabla 1**), preferentemente la CDR3 de la cadena pesada. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, V_L y V_H, están codificados por genes diferentes, estos se pueden unir, utilizando métodos recombinantes, mediante un conector sintético que permite prepararlos como una única cadena proteica en la que las regiones V_L y V_H se aparean para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena única (scFv); remítase, p. ej., a Bird *et al.*, 1988 *Science* 242:423-426; y Huston *et al.*, 1988 *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:5879-5883). Se pretende que tales anticuerpos de cadena única también queden englobados en el término "anticuerpo". Los anticuerpos de cadena única y los fragmentos de unión al antígeno se obtienen utilizando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la

materia. En algunas realizaciones de los métodos, regímenes, kits, procesos, usos y composiciones descritos, se emplea un anticuerpo de cadena única o un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo contra IL-17 (p. ej., secukinumab) o el receptor de IL-17.

La expresión "producto farmacéutico" se refiere a un envase (p. ej., pluma, jeringa, bolsa, bomba, etc.) que tiene una composición farmacéutica dispuesta dentro de dicho envase. El término "envase" se refiere a cualquier medio para contener una composición farmacéutica líquida, p. ej., una pluma, jeringa, vial, autoinyector, parche, etc. Cada envase tiene un "espacio vacío", es decir, un área dentro del envase que no contiene la composición farmacéutica líquida. Este espacio vacío contiene gas, p. ej., una mezcla de oxígeno y otros gases que se encuentran normalmente en el aire. El nivel de oxígeno en el espacio vacío se puede regular, p. ej., introduciendo un gas inerte (p. ej., nitrógeno, argón, etc.) en el espacio vacío en lugar de oxígeno. Esto se puede conseguir de forma activa, p. ej., purgando, o de forma pasiva, p. ej., colocando el envase en un sistema y eliminando el oxígeno (p. ej., mediante vacío, etc.). La purga, p. ej., utilizando un gas inerte, preferentemente nitrógeno, puede tener lugar antes de introducir la composición en el envase, durante su rellenado, o antes y durante la colocación del tapón. La expresión "contenido de oxígeno en el espacio vacío", tal como se utiliza en la presente, se refiere al porcentaje de oxígeno que se encuentra en el espacio vacío de un envase determinado.

Una composición "estable" es aquella en la que la proteína contenida en ella conserva esencialmente su

estabilidad (p. ej., actividad física, química y/o biológica) cuando se almacena. En la técnica existe constancia de varias técnicas analíticas para medir la estabilidad de las proteínas y estas se revisan en *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., Pubs. (1991) y Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10:29-90 (1993). La estabilidad se puede medir a una temperatura seleccionada durante un periodo de tiempo seleccionado. Una composición líquida de anticuerpos "estable" es una composición líquida de anticuerpos en la que no se observan cambios significativos a una temperatura de refrigeración (2-8 °C) durante al menos 6 meses, 12 meses, preferentemente 2 años y más preferentemente 3 años; o a temperatura ambiente (23-27 °C) durante al menos 3 meses, preferentemente 6 meses y más preferentemente 1 año; o en unas condiciones de estrés (~40 °C) durante al menos 1 mes, preferentemente 3 meses y más preferentemente 6 meses. Se pueden utilizar varios criterios de estabilidad, p. ej., que no se degrade más de un 10%, preferentemente un 5%, del monómero del anticuerpo (p. ej., cuando se mide según la pureza por SEC, la pureza por RP-HPLC, la pureza por CEX, la pureza por CE-SDS (no reductora), etc.). Como alternativa, la estabilidad se puede mostrar si la solución permanece de transparente a ligeramente opalescente mediante un análisis visual o utilizando nefelometría. Como alternativa, la estabilidad se puede mostrar si la concentración, el pH y la osmolidad de la composición tienen una variación que no sea superior a +/−10% durante un periodo de tiempo determinado, p. ej., al menos 3 meses, preferentemente 6 meses y más preferentemente 1 año. Como alternativa, la estabilidad se

puede mostrar si la potencia (p. ej., cuando se mide mediante la actividad biológica en un ensayo de inhibición o CEX, etc.) se encuentra dentro de un 70-130% (p. ej., al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 76%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 95%), preferentemente un 80-120% de un control durante un periodo de tiempo determinado, p. ej., al menos 3 meses, preferentemente 6 meses y más preferentemente 1 año. Como alternativa, la estabilidad se puede mostrar si no se observa más de un 10%, preferentemente un 5%, de fragmentación del anticuerpo (p. ej., cuando se mide mediante DP-SEC, etc.) durante un periodo de tiempo determinado, p. ej., al menos 3 meses, preferentemente 6 meses y más preferentemente 1 año. Como alternativa, la estabilidad se puede mostrar si se forma menos de un 10%, preferentemente menos de un 5%, de agregados (p. ej., cuando se miden mediante AP-SEC, etc.) durante un periodo de tiempo determinado, p. ej., al menos 3 meses, preferentemente 6 meses y más preferentemente 1 año. Como alternativa, la estabilidad se puede mostrar si, después de un almacenamiento de 13 meses a 25 °C, la formación de agregados cuando se mide mediante SEC es ≤ aproximadamente un 3.5%, ≤ aproximadamente un 3.0% o ≤ aproximadamente un 2.2%. Como alternativa, la estabilidad se puede mostrar si, después de un almacenamiento de 13 meses a 25 °C, la formación de productos de degradación (cuando se mide mediante RP-HPLC (especies previas al pico principal)) es ≤ aproximadamente un 39.4%, ≤ aproximadamente un 37.8% o ≤ aproximadamente un 34.5%.

Un anticuerpo conserva su estabilidad física en una composición farmacéutica si no muestra ningún incremento

significativo de su agregación, precipitación y/o desnaturalización tras un examen visual del color y/o la claridad (turbidez), o cuando se mide mediante la dispersión de luz UV, cromatografía de exclusión por tamaños (SEC) y dispersión dinámica de la luz (DLS). Además, la conformación de la proteína no se debería alterar significativamente, p. ej., cuando se evalúa mediante espectroscopia de fluorescencia (determina la estructura terciaria de la proteína) o mediante espectroscopía FTIR (determina la estructura secundaria de la proteína).

Un anticuerpo conserva su estabilidad química en una composición farmacéutica si no muestra ninguna alteración química significativa. La estabilidad química se puede evaluar detectando y cuantificando formas químicamente alteradas de la proteína. Los procesos de degradación que suelen alterar la estructura química de una proteína incluyen la hidrólisis o fragmentación (evaluada mediante métodos tales como la cromatografía de exclusión por tamaños [SEC] y SDS-PAGE), oxidación (evaluada mediante métodos tales como el mapeo peptídico junto con espectroscopía de masas o MALDI/TOF/MS), desamidación (evaluada mediante métodos tales como cromatografía de intercambio catiónico (CEX), enfoque isoeléctrico capilar, mapeo peptídico, medición de ácido isoaspártico) e isomerización (evaluada midiendo el contenido de ácido isoaspártico, mapeo peptídico, etc.).

Un anticuerpo conserva su actividad biológica en una composición farmacéutica si la actividad biológica del anticuerpo/la proteína en un momento dado se encuentra dentro de un intervalo predeterminado de la actividad biológica exhibida en el momento en que se preparó la

composición farmacéutica. La actividad biológica de un anticuerpo se puede determinar, por ejemplo, mediante un ensayo ELISA de unión al antígeno, ensayo de potencia (p. ej., evaluando la capacidad de un anticuerpo contra IL-17 (p. ej., secukinumab) de unirse a IL-17 e inhibir la liberación de IL-17 a partir de los condrocitos) o derivatización de cisteamina-CEX.

La expresión "pureza según RP-HPLC", tal como se utiliza en la presente, se refiere al porcentaje del pico principal en RP-HPLC y se puede utilizar para evaluar la estabilidad de secukinumab. La RP-HPLC se utiliza para separar el secukinumab y sus variantes de acuerdo con su hidrofobicidad. Las especies previas al pico principal según RP-HPLC corresponden a la suma porcentual de los picos que se eluyen antes del pico principal, las cuales pueden contener especies fragmentadas, isomerizadas u oxidadas del anticuerpo.

La expresión "pureza según CEX", tal como se utiliza en la presente, se refiere al porcentaje del pico principal en CEX y se puede utilizar para evaluar la estabilidad del anticuerpo secukinumab. La CEX se utiliza para evaluar la heterogeneidad de la carga de secukinumab midiendo el porcentaje de variantes ácidas y básicas.

La expresión "pureza según SEC", tal como se utiliza en la presente, se refiere al porcentaje de monómero en SEC y se puede utilizar para evaluar la estabilidad de secukinumab. La SEC se utiliza para separar el secukinumab monomérico de agregados y fragmentos de acuerdo con su tamaño en condiciones que no sean desnaturalizantes. La suma de picos que se eluyen antes del pico principal se indica como el porcentaje de productos de agregación (AP-

SEC) y la suma de picos que se eluyen después del pico principal se indica como el porcentaje de productos de degradación (DP-SEC).

La expresión "pureza según CE-SDS", tal como se utiliza en la presente, se refiere al porcentaje de anticuerpo intacto en CE-SDS y se puede utilizar para evaluar la estabilidad de secukinumab. La CE-SDS se utiliza para separar productos secundarios y de degradación del secukinumab intacto de acuerdo con el tamaño molecular y condiciones no reductoras. La suma de picos separados del pico principal se indica como el porcentaje de impurezas.

La expresión "composición farmacéutica líquida", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una composición acuosa que no se reconstituye a partir de un liofilizado y que contiene al menos un anticuerpo IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., secukinumab) y al menos un excipiente adicional (p. ej., un tampón). La composición farmacéutica líquida puede incluir excipientes adicionales (estabilizantes, surfactantes) y principios activos adicionales. Este tipo de formulación también se denomina formulación "lista para usar".

El término "liofilizado", tal como se utiliza en la presente, se refiere a composiciones farmacéuticas secadas (p. ej., secadas por congelación) exentas en su mayor parte de agua. Las técnicas de liofilización de anticuerpos son muy conocidas en la materia, p. ej., remítase a Rey y May (2004) *Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical & Biological Products* ISBN 0824748689. Los liofilizados se reconstituyen para obtener composiciones acuosas - normalmente para su uso inmediato (p. ej., en un periodo de

1-10 días) - ya que los liofilizados reconstituidos suelen tener un periodo de validez limitado.

La expresión "concentración elevada" se refiere a una composición que contiene más de 50 mg/ml de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este. En realizaciones preferidas, una composición líquida de concentración elevada contiene $\geq$ aproximadamente 50 mg/ml, $\geq$ aproximadamente 75 mg/ml, $\geq$ aproximadamente 100 mg/ml, $\geq$ aproximadamente 125 mg/ml, $\geq$ aproximadamente 150 mg/ml, $\geq$ aproximadamente 175 mg/ml, $\geq$ aproximadamente 200 mg/ml o $\geq$ aproximadamente 225 mg/ml.

El término "IL-17" se refiere a IL-17A, conocida previamente como CTLA8, e incluye IL-17A de origen natural de diversas especies (p. ej., ser humano, ratón y mono), variantes polimórficas de IL-17A y equivalentes funcionales de IL-17A. Los equivalentes funcionales de IL-17A de acuerdo con la presente divulgación tienen preferentemente al menos aproximadamente un 65%, 75%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98% o incluso un 99% de identidad secuencial global con una IL-17A de origen natural (p. ej., IL-17A humana) y conservan sustancialmente la capacidad de inducir la producción de IL-6 por parte de fibroblastos dérmicos humanos.

Se pretende que el término "K_D" se refiera a la tasa de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular. Se pretende que el término "K_D", tal como se utiliza en la presente, se refiera a la constante de disociación, la cual se obtiene a partir del cociente de K_d entre K_a (es decir, K_d/K_a) y se expresa como una concentración molar (M). Valores de K_D para los anticuerpos se pueden determinar utilizando métodos muy establecidos en

la técnica. Un método para determinar la K_D de un anticuerpo consiste en utilizar resonancia de plasmones superficiales o utilizar un sistema biosensor tal como un sistema Biacore®. En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este se une a IL-17 humana con una K_D de aproximadamente 100-250 pM (cuando se mide según Biacore®).

El término "afinidad" se refiere a la fuerza de la interacción entre un anticuerpo y un antígeno en sitios antigénicos individuales. En cada uno de los sitios antigénicos, la región variable del "brazo" del anticuerpo interacciona a través de fuerzas no covalentes débiles con el antígeno en numerosos sitios; cuantas más interacciones, más fuerte es la afinidad. Los ensayos estándar para evaluar la afinidad de unión de los anticuerpos hacia IL-17 de diversas especies son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, ELISA, inmunotransferencias de Western y RIA. Las cinéticas de unión (p. ej., la afinidad de unión) de los anticuerpos también se pueden evaluar mediante ensayos estándar conocidos en la técnica, tales como el análisis Biacore®.

Los términos "sujeto" y "paciente", tal como se utilizan en la presente, incluyen cualquier animal humano o no humano. La expresión "animal no humano" incluye todos los vertebrados, p. ej., mamíferos y no mamíferos, tales como primates no humanos, ovejas, perros, gatos, caballos, vacas, pollos, anfibios, reptiles, etc.

Se sobreentenderá que un anticuerpo que "inhibe" una o más de estas propiedades funcionales de IL-17 (p. ej., actividades bioquímicas, inmunoquímicas, celulares, fisiológicas u otras actividades biológicas, o similares)

tal como se determina de acuerdo con metodologías conocidas en la técnica y descritas en la presente se refiere a una disminución estadísticamente significativa en la actividad particular con relación a la observada en ausencia del anticuerpo (o cuando hay un anticuerpo de control de especificidad irrelevante presente). Un anticuerpo que inhibe la actividad de IL-17 afecta a una disminución estadísticamente significativa, p. ej., de al menos aproximadamente un 10% del parámetro medido, de al menos un 50%, 80% o 90%, y en determinadas realizaciones de los métodos, usos, procesos, kits y composiciones descritos, el anticuerpo contra IL-17 utilizado puede inhibir más de un 95%, 98% o 99% de la actividad funcional de IL-17.

La expresión "inhibe IL-6", tal como se utiliza en la presente, se refiere a la capacidad de un anticuerpo contra IL-17 (p. ej., secukinumab) de reducir la producción de IL-6 a partir de los condrocitos. La actividad biológica del anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, se puede medir basándose en su capacidad para inhibir la liberación inducida por IL-17 de IL-6 a partir de una línea celular de condrocitos humanos inmortalizados, p. ej., C-20/A4. Resumiendo, el primer día del ensayo, se siembran células C-20/A4 en placas de 96 pocillos, se permite que se adhieran y a continuación se incuban durante toda la noche en presencia de una concentración submáxima fija de IL-17 (p. ej., de aproximadamente 20-200 ng/mL, p. ej., aproximadamente 80 ng/mL, en el medio de cultivo) y varias concentraciones de anticuerpo (p. ej., de aproximadamente 0.01 ug/mL - aproximadamente 4 ug/mL, p. ej., de aproximadamente 0.5 µg/mL – aproximadamente 2µg/mL, en la placa de ensayo). Se

incluye TNFalfa, que facilita la producción inducida por IL-17 de IL-6 (p. ej. de aproximadamente 0.01 ng/mL - aproximadamente 1 ng/mL, p. ej., aproximadamente 0.5 ng/mL, en el medio de cultivo) para incrementar el intervalo dinámico del ensayo. El segundo día, se cuantifica la concentración de IL-6 en los sobrenadantes celulares mediante ELISA. La cantidad de IL-6 en los sobrenadantes celulares es inversamente proporcional a la actividad del anticuerpo contra IL-17 presente en la muestra. La actividad biológica de una muestra de prueba del anticuerpo se cuantifica comparando su capacidad para inhibir la liberación dependiente de IL-17 de IL-6 con la de un patrón de referencia del anticuerpo. Las muestras y el patrón se normalizan basándose en el contenido de proteína. La potencia relativa se calcula utilizando un ensayo de líneas paralelas de acuerdo con la farmacopea europea. El resultado final se expresa como la potencia relativa (en porcentaje) de una muestra comparada con el patrón de referencia.

El término “derivado”, a menos que se indique de otro modo, se utiliza para definir variantes de la secuencia de aminoácidos y modificaciones covalentes (p. ej., pegilación, desamidación, hidroxilación, fosforilación, metilación, etc.) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, de acuerdo con la presente divulgación, p. ej., de una secuencia especificada (p. ej., un dominio variable). Un “derivado funcional” incluye una molécula que tiene una actividad biológica cualitativa en común con los anticuerpos contra IL-17 descritos o fragmentos de unión al antígeno de estos. Un derivado funcional incluye fragmentos y análogos peptídicos

de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente. Los fragmentos comprenden regiones dentro de la secuencia de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación, p. ej., de una secuencia especificada. Los derivados funcionales de los anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos descritos en la presente (p. ej., derivados funcionales de secukinumab) comprenden preferentemente dominios V_H y/o V_L que tienen al menos aproximadamente un 65%, 75%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad secuencial global con las secuencias de V_H y/o V_L de las moléculas de unión a IL-17 descritas en la presente (p. ej., las secuencias de V_H y/o V_L de la **Tabla 1)**, y conservan sustancialmente la capacidad de unirse a IL-17 humana o, p. ej., inhibir la producción de IL-6 de fibroblastos dérmicos humanos inducida por IL-17.

La expresión "sustancialmente idéntica" significa que la secuencia de nucleótidos o aminoácidos relevante (p. ej., dominio V_H o V_L) será idéntica o tendrá diferencias no sustanciales (p. ej., a través de sustituciones de aminoácidos conservadas) en comparación con una secuencia de referencia particular. Las diferencias no sustanciales incluyen cambios menores de aminoácidos tales como 1 o 2 sustituciones en una secuencia de 5 aminoácidos de una región especificada (p. ej., dominio V_H o V_L). En el caso de los anticuerpos, el segundo anticuerpo tiene la misma especificidad y tiene al menos un 50% de la afinidad del mismo. Las secuencias sustancialmente idénticas (p. ej., con al menos aproximadamente un 85% de identidad secuencial) respecto a las secuencias descritas en la presente también forman parte de esta solicitud. En algunas realizaciones,

la identidad secuencial de un derivado de anticuerpo contra IL-17 (p. ej., un derivado de secukinumab, p. ej., un anticuerpo biosimilar a secukinumab) puede ser de aproximadamente un 90% o superior, p. ej., un 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o superior con relación a las secuencias descritas.

El término "identidad" con respecto a un polipéptido nativo y su derivado funcional se define en la presente como el porcentaje de residuos aminoacídicos en la secuencia candidato que son idénticos a los residuos de un polipéptido nativo correspondiente, después de alinear las secuencias e introducir huecos, cuando proceda, para lograr el porcentaje de identidad máximo y sin considerar ningunas sustituciones conservativas como parte de la identidad secuencial. No se debe considerar que las inserciones ni extensiones N-terminales ni C-terminales reduzcan la identidad. Los métodos y programas de ordenador para realizar el alineamiento son muy conocidos. El porcentaje de identidad se puede determinar mediante algoritmos de alineamiento estándar, por ejemplo, la Herramienta Básica de Búsqueda de Alineamiento Local (BLAST) descrita por Altshul *et al.* ((1990) *J. Mol. Biol.*, 215: 403 410); el algoritmo de Needleman *et al.* ((1970) *J. Mol. Biol.*, 48: 444 453); o el algoritmo de Meyers *et al.* ((1988) *Comput. Appl. Biosci.*, 4: 11 17). Un conjunto de parámetros puede ser la matriz de puntuación Blosum 62 con una penalización por hueco de 12, una penalización por extensión del hueco de 4 y una penalización por hueco de desplazamiento de marco de 5. El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o nucleótidos también se puede determinar utilizando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller ((1989)

CABIOS, 4:11-17) que ha sido incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos ponderales PAM120, una penalización por longitud del hueco de 12 y una penalización por hueco de 4.

El término "aminoácido(s)" se refiere a todos los α-aminoácidos L que se producen de forma natural, p. ej., e incluye los aminoácidos D. La expresión "variante de una secuencia de aminoácidos" se refiere a moléculas con algunas diferencias en sus secuencias de aminoácidos en comparación con las secuencias de acuerdo con la presente divulgación. Las variantes de una secuencia de aminoácidos de un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación, p. ej., de una secuencia especificada, siguen teniendo la capacidad de unirse a IL-17 humana o, p. ej., inhibir la producción de IL-6 de fibroblastos dérmicos humanos inducida por IL-17. Las variantes de una secuencia de aminoácidos incluyen variantes de sustitución (aquellas que tienen al menos una eliminación de un residuo aminoacídico y la inserción de un aminoácido diferente en su lugar en la misma posición en un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación), variantes de inserción (aquellas con la inserción de uno o más aminoácidos inmediatamente adyacentes a un aminoácido en una posición particular en un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación) y variantes de deleción (aquellas con la eliminación de uno o más aminoácidos en un polipéptido de acuerdo con la presente divulgación).

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material atóxico que no interfiere con la eficacia de la actividad biológica del principio activo o los principios activos.

El término “administrar”, en relación con un compuesto, p. ej., una molécula de unión a IL-17 u otro agente, se utiliza para referirse al suministro de ese compuesto a un paciente mediante cualquier vía.

La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz”, tal como se utiliza en la presente, se refiere a la cantidad de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, que es eficaz, tras la administración de una dosis única o de múltiples dosis a un paciente (tal como un ser humano) para tratar, prevenir, prevenir el inicio de, curar, retrasar, reducir la gravedad de, mejorar al menos un síntoma de un trastorno o trastorno recurrente, o prolongar la supervivencia del paciente más allá de la esperada en ausencia de tal tratamiento. Cuando se aplica a un principio activo individual (p. ej., un anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab) administrado solo, la expresión se refiere a ese ingrediente únicamente. Cuando se aplica a una combinación, la expresión se refiere a cantidades combinadas de los principios activos que dan como resultado el efecto terapéutico, tanto si se administran combinadas, en serie o de forma simultánea.

El término “tratamiento” o “tratar” se refiere a un tratamiento tanto profiláctico como preventivo, así como también a un tratamiento curativo o modificador de la enfermedad, incluido el tratamiento de un paciente que corre el riesgo de contraer la enfermedad o que se sospecha que ha contraído la enfermedad, así como también pacientes que están enfermos o a los cuales se les ha diagnosticado que padecen una enfermedad o afección médica, e incluye la supresión de la recidiva clínica. El tratamiento se puede administrar a un paciente con un trastorno médico o que, en

última instancia, puede adquirir el trastorno, con el fin de prevenir, curar, retrasar el inicio de, reducir la gravedad de o mejorar uno o más síntomas de un trastorno o trastorno recurrente, o con el fin de prolongar la supervivencia de un paciente más allá de la esperada en ausencia de tal tratamiento.

La expresión "medio para administrar" se utiliza para indicar cualquier implementación disponible para administrar sistémicamente un fármaco a un paciente, que incluye, sin carácter limitante, una jeringa rellenada previamente, un vial y una jeringa, una pluma de inyección, un autoinyector, una bolsa y un gotero i.v., una bomba, una bomba con parche, etc. Con este tipo de objetos, un paciente se puede autoadministrar el fármaco (es decir, administrar el fármaco por sí solo) o un médico puede administrar el fármaco. Normalmente, las dosis suministradas en "mg/kg" se administran mediante una vía i.v. y las dosis suministradas en "mg" se administran mediante inyecciones i.m. o s.c. En algunas realizaciones de los métodos, kits, regímenes y usos descritos, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, se suministra al paciente mediante la vía i.v. En algunas realizaciones de los métodos, kits, regímenes y usos descritos, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, se suministra al paciente mediante la vía s.c.

Anticuerpos contra IL-17 y fragmentos de unión al antígeno de estos

Los productos farmacéuticos, composiciones, composiciones líquidas, regímenes, procesos, usos, métodos

y kits descritos contienen o utilizan un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este.

En una realización, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende al menos un dominio variable de la cadena pesada (V_H) de inmunoglobulina, que comprende regiones hipervariables CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:1, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:2 y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:3. En una realización, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende al menos un dominio variable de la cadena ligera (V_L) de inmunoglobulina, que comprende regiones hipervariables CDR1’, CDR2' y CDR3', teniendo dicha CDR1' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:4, teniendo dicha CDR2’ la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:5 y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:6. En una realización, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende al menos un dominio variable de la cadena pesada (V_H) de inmunoglobulina, que comprende regiones hipervariables CDR1-x, CDR2-x y CDR3-x, teniendo dicha CDR1-x la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:11, teniendo dicha CDR2-x la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:12 y teniendo dicha CDR3-x la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:13.

En una realización, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende al menos un dominio V_H de inmunoglobulina y al menos un dominio V_L de inmunoglobulina, donde: a) el dominio V_H de inmunoglobulina comprende (p. ej., en

secuencia): i) regiones hipervariables CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:1, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:2 y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:3; o ii) regiones hipervariables CDR1-x, CDR2-x y CDR3-x, teniendo dicha CDR1-x la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:11, teniendo dicha CDR2-x la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:12 y teniendo dicha CDR3-x la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:13; y b) el dominio V_L de inmunoglobulina comprende (p. ej., en secuencia) regiones hipervariables CDR1', CDR2' y CDR3', teniendo dicha CDR1' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:4, teniendo dicha CDR2' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:5 y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:6.

En una realización, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende: a) un dominio variable de la cadena pesada (V_H) de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:8; b) un dominio variable de la cadena ligera (V_L) de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:10; c) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:8 y un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:10; d) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:3; e) un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6; f) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID

NO:11, SEQ ID NO:12 y SEQ ID NO:13; g) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:3 y un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6; o h) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12 y SEQ ID NO:13 y un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6.

Para facilitar su referencia, en la siguiente **Tabla 1** se proporcionan las secuencias de aminoácidos de las regiones hipervariables del anticuerpo monoclonal secukinumab, basándose en la definición de Kabat y según se determina mediante el análisis de rayos X y utilizando la estrategia de Chothia y colaboradores.

Cadena Ligera		
CDR1'	Kabat	R-A-S-Q-S-V-S-S-S-Y-L-A (SEQ ID NO:4)
	Chothia	R-A-S-Q-S-V-S-S-S-Y-L-A (SEQ ID NO:4)
CDR2'	Kabat	G-A-S-S-R-A-T (SEQ ID NO:5)
	Chothia	G-A-S-S-R-A-T (SEQ ID NO:5)
CDR2'	Kabat	Q-Q-Y-G-S-S-P-C-T (SEQ ID NO:6)
	Chothia	Q-Q-Y-G-S-S-P-C-T (SEQ ID NO:6)
Cadena Pesada		
CDR1	Kabat	N-Y-W-M-N (SEQ ID NO:1)
CDR1-x	Chothia	G-F-T-F-S-N-Y-W-M-N (SEQ ID NO:11)
CDR2	Kabat	A-I-N-Q-D-G-S-E-K-Y-Y-V-G-S-V-K-G (SEQ ID NO:2)
CDR2-x	Chothia	A-I-N-Q-D-G-S-E-K-Y-Y (SEQ ID NO:12)

CDR3	Kabat	D-Y-Y-D-I-L-T-D-Y-Y-I-H-Y-W-Y-F-D-L (SEQ ID NO:3)
CDR3-x	Chothia	C-V-R-D-Y-Y-D-I-L-T-D-Y-Y-I-H-Y-W-Y-F-D-L-W-G (SEQ ID NO:13)

Tabla 1: Secuencias de aminoácidos de las regiones hipervariables de los anticuerpos monoclonales secukinumab.

En realizaciones preferidas, los dominios de la región constante también comprenden preferentemente dominios de la región constante humana adecuados, por ejemplo, según se describe en "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Kabat E.A. *et al.*, Departamento de Salud y Servicios Sociales de los Estados Unidos, Servicio de Salud Pública, Instituto Nacional de la Salud. El ADN que codifica la VL de secukinumab se expone en SEQ ID NO:9. El ADN que codifica la VH de secukinumab se expone en SEQ ID NO:7.

En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende las tres CDR de SEQ ID NO:10. En otras realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 comprende las tres CDR de SEQ ID NO:8. En otras realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 comprende las tres CDR de SEQ ID NO:10 y las tres CDR de SEQ ID NO:8. En la **Tabla 1** se pueden consultar las CDR de SEQ ID NO:8 y SEQ ID NO:10, de acuerdo con la definición tanto de Chothia como de Kabat.

En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende la cadena ligera de SEQ ID NO:14. En otras realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende la cadena pesada de SEQ ID NO:15. En otras realizaciones,

el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende la cadena ligera de SEQ ID NO:14 y la cadena pesada de SEQ ID NO:15. En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende las tres CDR de SEQ ID NO:14. En otras realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende las tres CDR de SEQ ID NO:15. En otras realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, comprende las tres CDR de SEQ ID NO:14 y las tres CDR de SEQ ID NO:15. En la **Tabla 1** se pueden consultar las CDR de SEQ ID NO:15 y SEQ ID NO:17, de acuerdo con la definición tanto de Chothia como de Kabat.

Las regiones hipervariables se pueden asociar con cualquier tipo de regiones de armazón, aunque preferentemente son de origen humano. Las regiones de armazón adecuadas se describen en Kabat E.A. *et al.*, *ibid*. El armazón de la cadena pesada preferido es un armazón de la cadena pesada humana, por ejemplo, el del anticuerpo secukinumab. Este consta en secuencia, p. ej., de las regiones FR1 (del aminoácido 1 al 30 de SEQ ID NO:8), FR2 (del aminoácido 36 al 49 de SEQ ID NO:8), FR3 (del aminoácido 67 al 98 de SEQ ID NO:8) y FR4 (del aminoácido 117 al 127 de SEQ ID NO:8). Teniendo en cuenta las regiones hipervariables determinadas de secukinumab según el análisis de rayos X, otro armazón de la cadena pesada preferido consta en secuencia de las regiones FR1-x (del aminoácido 1 al 25 de SEQ ID NO:8), FR2-x (del aminoácido 36 al 49 de SEQ ID NO:8), FR3-x (del aminoácido 61 al 95 de SEQ ID NO:8) y FR4 (del aminoácido 119 al 127 de SEQ ID

NO:8). De manera similar, el armazón de la cadena ligera consta en secuencia de las regiones FR1′ (del aminoácido 1 al 23 de SEQ ID NO:10), FR2′ (del aminoácido 36 al 50 de SEQ ID NO:10), FR3′ (del aminoácido 58 al 89 de SEQ ID NO:10) y FR4′ (del aminoácido 99 al 109 de SEQ ID NO:10).

En una realización, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, se selecciona a partir de un anticuerpo anti-IL-17 humano que comprende al menos: a) una cadena pesada de inmunoglobulina o fragmento de esta que comprende un dominio variable que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2 y CDR3 y la parte constante o fragmento de esta de una cadena pesada humana; teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:1, teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:2 y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:3; y b) una cadena ligera de inmunoglobulina o fragmento de esta que comprende un dominio variable que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1′, CDR2′ y CDR3′ y la parte constante o fragmento de esta de una cadena ligera humana; teniendo dicha CDR1′ la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4, teniendo dicha CDR2′ la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:5 y teniendo dicha CDR3′ la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:6.

En una realización, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, se selecciona a partir de una molécula de unión monocatenaria que comprende un sitio de unión al antígeno que comprende: a) un primer dominio que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1, CDR2 y CDR3, teniendo dicha CDR1 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:1,

teniendo dicha CDR2 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:2 y teniendo dicha CDR3 la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:3; y b) un segundo dominio que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables CDR1', CDR2' y CDR3', teniendo dicha CDR1' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4, teniendo dicha CDR2' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:5 y teniendo dicha CDR3' la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:6; y c) un conector peptídico que está unido o bien al extremo N-terminal del primer dominio y al extremo C-terminal del segundo dominio o al extremo C-terminal del primer dominio y al extremo N-terminal del segundo dominio.

Como alternativa, un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, para su uso en los métodos descritos, puede comprender un derivado de las moléculas expuestas en la presente según la secuencia (p. ej., una versión pegilada de secukinumab). Como alternativa, el dominio V_H o V_L del anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, para su uso en los métodos descritos, puede tener dominios V_H o V_L que sean sustancialmente idénticos a los dominios V_H o V_L expuestos en la presente (p. ej., los expuestos en SEQ ID NO:8 y 10). Un anticuerpo contra IL-17 humano descrito en la presente puede comprender una cadena pesada que sea sustancialmente idéntica a la expuesta como SEQ ID NO:15 y/o una cadena ligera que sea sustancialmente idéntica a la expuesta como SEQ ID NO:14. Un anticuerpo contra IL-17 humano descrito en la presente puede comprender una cadena pesada que comprenda SEQ ID NO:15 y una cadena ligera que comprenda SEQ ID NO:14. Un anticuerpo contra IL-17 humano descrito en la presente puede comprender: a) una cadena pesada que comprenda un dominio

variable con una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la mostrada en SEQ ID NO:8 y la parte constante de una cadena pesada humana; y b) una cadena ligera que comprenda un dominio variable con una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la mostrada en SEQ ID NO:10 y la parte constante de una cadena ligera humana. Como alternativa, un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, para su uso en los métodos descritos puede ser una variante de la secuencia de aminoácidos de las moléculas de referencia expuestas en la presente. En todos estos casos de derivado y variantes, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, es capaz de inhibir la actividad de IL-17 humana aproximadamente 1 nM (= 30 ng/ml) con una concentración de aproximadamente 50 nM o inferior, aproximadamente 20 nM o inferior, aproximadamente 10 nM o inferior, aproximadamente 5 nM o inferior, aproximadamente 2 nM o inferior, o más preferentemente de aproximadamente 1 nM o inferior de dicha molécula en un 50%, midiéndose dicha actividad inhibitoria en la producción de IL-6 inducida por hu-IL-17 en fibroblastos dérmicos humanos.

La inhibición de la unión de IL-17 a su receptor se puede evaluar convenientemente en varios ensayos, incluidos ensayos tales como los descritos en el documento WO 2006/013107. La expresión “en la misma medida” quiere decir que la molécula de referencia y la molécula derivada exhiben, desde un punto de vista estadístico, una actividad inhibitoria de IL-17 esencialmente idéntica en uno de los ensayos mencionados en la presente (remítase al Ejemplo 1 del documento WO 2006/013107). Por ejemplo, el anticuerpo

contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este descrito en la presente tiene normalmente valores de CI_{50} para la inhibición de IL-17 humana en la producción de IL-6 inducida por IL-17 humana en fibroblastos dérmicos humanos que son inferiores a aproximadamente 10 nM, más preferentemente aproximadamente 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o aproximadamente 1 nM del valor de, preferentemente de forma sustancial iguales al valor de, CI_{50} de la molécula de referencia correspondiente cuando se somete a un ensayo según se describe en el Ejemplo 1 del documento WO 2006/013107. Como alternativa, el ensayo utilizado puede ser un ensayo de inhibición competitiva de la unión de IL-17 por parte de receptores solubles de IL-17 (p. ej., los constructos R/Fc de IL-17 humana del Ejemplo 1 del documento WO 2006/013107) y los anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos de la divulgación.

La divulgación también incluye anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej., secukinumab, en los que uno o más de los residuos aminoacídicos del dominio V_H o V_L, normalmente solo unos pocos (p. ej., 1-10), están modificados respecto al dominio V_H o V_L expuesto como SEQ ID NO:8 y SEQ ID NO:10, por ejemplo, mediante mutación, p. ej., mutagénesis dirigida al sitio de las secuencias de ADN correspondientes. La divulgación incluye las secuencias de ADN que codifican tales anticuerpos contra IL-17 modificados.

La divulgación también incluye anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej., secukinumab, que tienen especificidad de unión para IL-17 humana, en particular anticuerpos contra IL-17 capaces de inhibir la unión de IL-17 a su receptor y anticuerpos

contra IL-17 capaces de inhibir la actividad de IL-17 humana 1 nM (= 30 ng/ml) con una concentración de aproximadamente 50 nM o inferior, aproximadamente 20 nM o inferior, aproximadamente 10 nM o inferior, aproximadamente 5 nM o inferior, aproximadamente 2 nM o inferior, o más preferentemente de aproximadamente 1 nM o inferior de dicha molécula en un 50% (midiéndose dicha actividad inhibitoria en la producción de IL-6 inducida por hu-IL-17 en fibroblastos dérmicos humanos).

En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab, se une a un epítopo de IL-17 humana madura que comprende Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129. En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab, se une a un epítopo de IL-17 humana madura que comprende Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80. En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab, se une a un epítopo de un homodímero de IL-17 que tiene dos cadenas de IL-17 humanas maduras, comprendiendo dicho epítopo Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129 en una cadena y Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80 en la otra cadena. El esquema de numeración de residuos utilizado para definir estos epítopos se basa en que el residuo uno es el primer aminoácido de la proteína madura (es decir, IL-17A que carece del péptido señal N-terminal de 23 aminoácidos y que comienza con glicina). La secuencia para IL-17A inmadura se expone en la entrada Q16552 de Swiss-Prot. En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17 tiene una K_D de aproximadamente 100-200 pM, p. ej., cuando se mide según Biacore®. En algunas realizaciones, el anticuerpo

contra IL-17 tiene una CI_{50} de aproximadamente 0.4 nM para la neutralización *in vitro* de la actividad biológica de IL-17A humana aproximadamente 0.67 nM. En algunas realizaciones, la biodisponibilidad absoluta del anticuerpo contra IL-17 administrado por vía subcutánea (s.c.) tiene un intervalo de aproximadamente 60 - aproximadamente 80%, p. ej., aproximadamente 76%. En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17, tal como secukinumab, tiene una semivida de eliminación de aproximadamente 4 semanas (p. ej., de aproximadamente 23 a aproximadamente 35 días, de aproximadamente 23 a aproximadamente 30 días, p. ej., de aproximadamente 30 días). En algunas realizaciones, el anticuerpo contra IL-17, tal como secukinumab, tiene una $T_{máx}$ de aproximadamente 7-8 días.

Los anticuerpos contra IL-17 particularmente preferidos o fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej., secukinumab, para su uso en los métodos, usos, kits, etc. descritos son anticuerpos humanos, especialmente secukinumab según se describe en los Ejemplos 1 y 2 del documento WO 2006/013107 (US 7.807.155, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad). El secukinumab es un anticuerpo anti-interleucina-17A (IL-17A, IL-17) humana monoclonal totalmente humano, de alta afinidad, recombinante, del isotipo IgG1/kappa que se encuentra actualmente en ensayos clínicos para el tratamiento de afecciones inflamatorias mediadas por el sistema inmunitario. El secukinumab (remítase, p. ej., a los documentos WO2006/013107 y WO2007/117749) tiene una afinidad muy elevada por IL-17, es decir, una K_D de aproximadamente 100-200 pM (p. ej., cuando se mide según Biacore®) y una CI_{50} para la neutralización *in vitro* de la

actividad biológica de IL-17A humana aproximadamente 0.67 nM de aproximadamente 0.4 nM. Por lo tanto, el secukinumab inhibe el antígeno con una relación molar de aproximadamente 1:1. Esta afinidad de unión elevada hace que el anticuerpo secukinumab sea particularmente adecuado para aplicaciones terapéuticas. Además, se ha determinado que el secukinumab tiene una semivida muy larga, es decir, de aproximadamente 4 semanas, lo que permite disponer de periodos prolongados entre administraciones, una propiedad excepcional cuando se tratan trastornos crónicos durante toda la vida tales como la psoriasis.

Productos farmacéuticos que comprenden anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno

La divulgación proporciona de forma general un producto farmacéutico que incluye un envase que tiene un espacio vacío con menos de aproximadamente un 12% de oxígeno en el espacio vacío y una composición líquida dispuesta dentro del envase, donde dicha composición líquida comprende los anticuerpos contra IL-17 mencionados anteriormente o fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej., secukinumab.

Envases

Los productos farmacéuticos de la divulgación emplean paquetes primarios, es decir, envases, para almacenar, transportar y mantener las composiciones líquidas descritas. Los envases farmacéuticamente aceptables para su uso como parte de los productos farmacéuticos descritos incluyen jeringas (p. ej., que se pueden adquirir de Beckton Dickinson, Nuova Ompi *et al.*), viales con tapón, cartuchos, autoinyectores, bombas con parches y plumas inyectoras.

Oxígeno en el espacio vacío

Hemos determinado que la estabilidad del anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., secukinumab) en la composición líquida descrita se puede mejorar incluyendo un estabilizante particular (p. ej., metionina) a la vez que se reemplaza concurrentemente el oxígeno en el espacio vacío del envase del producto farmacéutico con un gas inerte (p. ej., argón, helio, nitrógeno), preferentemente N_2. Concretamente, hemos determinado que los productos farmacéuticos que tienen un envase en el cual se ha purgado el oxígeno, es decir, que tiene menos de aproximadamente un 12% de oxígeno en el espacio vacío, presentan una estabilidad mejorada respecto a los productos no purgados, p. ej., cuando se mide según SEC y RP-HPLC.

La modificación del contenido de oxígeno en el espacio libre utilizando una purga (p. ej., purga de nitrógeno) se puede conseguir durante la etapa de rellenado o durante la etapa de colocación del tapón (o ambas). Una purga (p. ej., purga de nitrógeno) se puede conseguir introduciendo de forma activa el gas inerte (p. ej., utilizando una aguja) o durante la colocación del tapón.

En algunas realizaciones, el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 12%(p. ej., inferior a aproximadamente un 10%, inferior a aproximadamente un 8%, inferior a aproximadamente un 6%, etc.). En algunas realizaciones, el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 6%. El contenido de oxígeno en el espacio vacío se puede monitorizar mediante espectroscopia de absorción de luz láser o desactivación de fluorescencia o cromatografía de gases. Se sobreentenderá que el contenido de oxígeno en el

espacio vacío de un envase determinado puede aumentar con el tiempo, p. ej., debido a una fuga. Por lo tanto, la expresión "el contenido de oxígeno en el espacio vacío", tal como se utiliza en la presente, se refiere al nivel inicial de oxígeno en el espacio vacío de un envase inmediatamente después del cierre (p. ej., colocación del tapón) del producto.

Composiciones líquidas

Una composición líquida de la divulgación comprende al menos uno de los anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos (p. ej., secukinumab), que se han descrito anteriormente, y al menos un excipiente adicional, p. ej., tampón, surfactante y estabilizante(s), etc. En algunas realizaciones, la composición líquida comprende al menos dos excipientes adicionales, p. ej., un tampón y un estabilizante. En algunas realizaciones, la composición líquida comprende un tampón, al menos un estabilizante y un surfactante.

En general, una composición farmacéutica se formulará con excipientes que sean compatibles con la vía deseada de administración (p. ej., las composiciones orales incluyen por lo general un diluyente inerte o un portador comestible). Los ejemplos de vías de administración incluyen la parenteral (p. ej., intravenosa), intradérmica, subcutánea, oral (p. ej., por la boca o mediante inhalación), transdérmica (tópica), transmucosa y rectal. Las composiciones líquidas de anticuerpos de esta divulgación son adecuadas para la administración parenteral tal como la inyección intravenosa, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea; son particularmente adecuadas para la inyección subcutánea.

En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 86% de pureza según RP-HPLC cuando se almacena a 2-8 °C durante 6 meses, al menos aproximadamente un 76% de pureza según RP-HPLC cuando se almacena a 25 °C/60% de HR durante 6 meses (preferentemente al menos aproximadamente un 76%) y/o al menos aproximadamente un 60% de pureza según RP-HPLC cuando se almacena a 30 °C/75% de HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 84% de pureza según RP-HPLC cuando se almacena a 2-8 °C durante 24 meses.

En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 77% de pureza según CEX cuando se almacena a 2-8 °C durante 6 meses, al menos aproximadamente un 62% de pureza según CEX cuando se almacena a 25 °C/60% de HR durante 6 meses y/o al menos aproximadamente un 50% de pureza según CEX cuando se almacena a 30 °C/75% de HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 73% de pureza según CEX cuando se almacena a 2-8 °C durante 24 meses.

En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 98% de pureza según SEC cuando se almacena a 2-8 °C durante 6 meses, al menos aproximadamente un 96% de pureza según SEC cuando se almacena a 25 °C/60% de HR durante 6 meses y/o al menos aproximadamente un 94% de pureza según SEC cuando se almacena a 30 °C/75% de HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 97% de pureza según SEC cuando se almacena a 2-8 °C durante 24 meses.

En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 97% de pureza según CE-SDS (condiciones no reductoras) cuando se almacena a 2-8 °C durante 6 meses, al menos aproximadamente un 95% de pureza según CE-SDS (condiciones no reductoras) cuando se almacena a 25 °C/60% de HR durante 6 meses y/o al menos aproximadamente un 94% (preferentemente al menos aproximadamente un 92%) de pureza según CE-SDS (condiciones no reductoras) cuando se almacena a 30 °C/75% de HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 97% de pureza según CE-SDS (condiciones no reductoras) cuando se almacena a 2-8 °C durante 24 meses.

En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva menos de aproximadamente un 0.57% de impureza según CE-SDS (condiciones reductoras) cuando se almacena a 2-8 °C durante 6 meses, menos de aproximadamente un 1.1% de impureza según CE-SDS (condiciones reductoras) cuando se almacena a 25 °C/60% de HR durante 6 meses y/o menos de aproximadamente un 1.9% de impureza según CE-SDS (condiciones reductoras) cuando se almacena a 30 °C/75% de HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva menos de aproximadamente un 0.91% de impureza según CE-SDS (condiciones no reductoras) cuando se almacena a 2-8 °C durante 24 meses.

En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación conserva al menos aproximadamente un 88% de actividad biológica relativa según la inhibición de la liberación de IL-6 a partir de condrocitos C-20/A4 cuando se almacena a 2-8 °C durante 24 meses, al menos

aproximadamente un 94% de actividad biológica relativa según la inhibición de la liberación de IL-6 a partir de los condrocitos cuando se almacena a 25 °C/60% de HR durante 6 meses y/o al menos aproximadamente un 85% de actividad biológica relativa según la inhibición de la liberación de IL-6 a partir de los condrocitos cuando se almacena a 30 °C/75% de HR durante 6 meses.

Concentración del anticuerpo

El anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este (p. ej., secukinumab) utilizado en las composiciones líquidas descritas se ha descrito anteriormente. Una composición preferida incluye secukinumab. Hemos determinado que, al menos dentro del intervalo de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, la concentración del anticuerpo no ejerció ningún efecto significativo sobre la estabilidad de la composición. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el anticuerpo de la composición líquida está presente con una concentración de al menos 25 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml). En algunas realizaciones, la concentración del anticuerpo en la composición líquida es una concentración elevada de al menos aproximadamente 25 mg/mL, al menos aproximadamente 50 mg/ml, al menos aproximadamente 75 mg/ml, al menos aproximadamente 100 mg/mL o al menos aproximadamente 150 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración del anticuerpo en la composición líquida es una concentración elevada de aproximadamente 25 mg/mL – aproximadamente 150 mg//mL. En una realización, la concentración de secukinumab en la composición líquida es de aproximadamente 25 mg/ml.

En una realización, la concentración de secukinumab en la composición líquida es de aproximadamente 150 mg/ml.

Tampones y pH

Los agentes tamponantes adecuados para su uso con las composiciones líquidas descritas incluyen, sin carácter limitante, un tampón de gluconato, un tampón de histidina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato [p. ej., de sodio o potasio], un tampón de succinato [p. ej., de sodio], un tampón de acetato, un tampón de Tris, glicina, arginina y combinaciones de estos. Hemos determinado que no había ningún efecto beneficioso del tampón de succinato o acetato sobre la estabilidad de las composiciones líquidas de secukinumab. El tampón de citrato fue evaluado como beneficioso en las composiciones respecto a los productos de degradación según SEC, CEX-ácida y respecto a los productos de agregación según RP-HPLC. En general, el tampón de histidina mostró ventajas en los productos de agregación y degradación según SEC, CEX-ácida y RP-B. Por lo tanto, el tampón de histidina es un tampón preferido para las composiciones líquidas estables descritas de secukinumab.

Es particularmente útil un tampón de histidina (p. ej., con una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 50 mM, p. ej., de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente 25 mM, aproximadamente 30 mM, aproximadamente 35 mM, aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, aproximadamente 50 mM). En una realización, la composición líquida estable comprende un tampón de histidina de

aproximadamente 20 mM a aproximadamente 50 mM. El pH de la composición líquida puede estar comprendido en el intervalo de 4.0-8.0, siendo habitual un pH comprendido en el intervalo de aproximadamente 5.5 – aproximadamente 7.4, p. ej., de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2, de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 5.8, p. ej., de aproximadamente 5.2, aproximadamente 5.3, aproximadamente 5.4, aproximadamente 5.5, aproximadamente 5.6, aproximadamente 5.7, aproximadamente 5.8, aproximadamente 5.9, aproximadamente 6, aproximadamente 6.2, aproximadamente 6.4, aproximadamente 6.6, aproximadamente 6.7, aproximadamente 6.8, aproximadamente 6.9, aproximadamente 7.0, aproximadamente 7.1, aproximadamente 7.2, aproximadamente 7.3, aproximadamente 7.4. Hemos determinado que incrementando el pH de 5.2 a 5.8, se observa una tendencia positiva en la estabilidad (SEC-AP, DLS, SEC-DP, ALP-DP, CEX-básica, RP-HPLC). En general, las pruebas indicaron que el pH ideal de la composición para las composiciones líquidas descritas es de 5.8. Por lo tanto, en una realización, el pH de la composición líquida estable de anticuerpos es de aproximadamente 5.8.

Surfactantes

Los surfactantes adecuados para su uso con las composiciones líquidas descritas incluyen, sin carácter limitante, surfactantes no iónicos, surfactantes iónicos, surfactantes zwitteriónicos y combinaciones de estos. Los surfactantes habituales para su uso con la invención incluyen, sin carácter limitante, ésteres de ácidos grasos y sorbitán (p. ej., monocaprilato de sorbitán, monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán), trioleato de sorbitán, ésteres de ácidos grasos y glicerina (p. ej.,

monocaprilato de glicerina, monomiristato de glicerina, monoestearato de glicerina), ésteres de ácidos grasos y poliglicerina (p. ej., monoestearato de decaglicerilo, diestearato de decaglicerilo, monolinoleato de decaglicerilo), ésteres de ácidos grasos y sorbitán polioxietilenado (p. ej., monolaurato de sorbitán polioxietilenado, monooleato de sorbitán polioxietilenado, monoestearato de sorbitán polioxietilenado, monopalmitato de sorbitán polioxietilenado, trioleato de sorbitán polioxietilenado, triestearato de sorbitán polioxietilenado), ésteres de ácidos grasos y sorbitol polioxietilenado (p. ej., tetraestearato de sorbitol polioxietilenado, tetraoleato de sorbitol polioxietilenado), ésteres de ácidos grasos y glicerina polioxietilenada (p. ej., monoestearato de glicerilo polioxietilenado), ésteres de ácidos grasos y glicol polietilenado (p. ej., diestearato de glicol polietilenado), éteres alquílicos polioxietilenados (p. ej., éter laurílico polioxietilenado), éteres alquílicos polioxietilenados y polioxipropilenados (p. ej., glicol polioxietilenado y polioxipropilenado, éter propílico polioxietilenado y polioxipropilenado, éter cetílico polioxietilenado y polioxipropilenado), éteres alquilfenílicos polioxietilenados (p. ej., éter nonilfenílico polioxietilenado), aceites de ricino hidrogenados polioxietilenados (p. ej., aceite de ricino polioxietilenado, aceite de ricino hidrogenado polioxietilenado), derivados de cera de aveja polioxietilenados (p. ej., cera de aveja de sorbitol polioxietilenado), derivados de lanolina polioxietilenados (p. ej., lanolina polioxietilenada) y amidas de ácidos grasos polioxietilenados (p. ej., amida del ácido esteárico

polioxietilenado); (alquil C10-C18)sulfatos (p. ej., cetilsulfato de sodio, laurilsulfato de sodio, oleilsulfato de sodio), sulfato de éter de alquilo C10-C18 polioxietilenado con un promedio de 2 a 4 moles de unidades de óxido de etileno añadidas (p. ej., laurilsulfato de sodio polioxietilenado) y sales de ésteres de tipo (alquil C1-C18)sulfosuccinato (p. ej., éster de tipo laurilsulfosuccinato de sodio); y surfactantes naturales tales como lecitina, glicerofosfolípidos, esfingofosfolípidos (p. ej., esfingomielina) y ésteres de sacarosa y ácidos grasos C12-C18. Una composición puede incluir uno o más de estos surfactantes. Los surfactantes preferidos son los poloxámeros (p. ej., poloxámero 188) o los ésteres de ácidos grasos y sorbitán polioxietilenado, p. ej., polisorbato 20, 40, 60 o 80. Es particularmente útil el polisorbato 80 (Tween 80) (p. ej., con una concentración de aproximadamente un 0.01% - aproximadamente un 0.1% (p/v), p. ej., de aproximadamente un 0.01% a aproximadamente un 0.04% (p/v), p. ej., de aproximadamente un 0.01%, aproximadamente un 0.02%, aproximadamente un 0.04%, aproximadamente un 0.06%, aproximadamente un 0.08%, aproximadamente un 0.1%). En una realización, la composición líquida estable comprende aproximadamente un 0.02% (p/v) de polisorbato 80. En una realización, la composición líquida estable comprende aproximadamente un 0.02% (p/v) de polisorbato 20.

Hemos determinado que se produce un incremento significativo de la turbidez, así como también un incremento en la cantidad de partículas visibles, en las composiciones líquidas que carecen de surfactante. A pesar de ello, no se detectó ninguna ventaja para el poloxámero

188 en comparación con los polisorbatos 20 y 80, excepto por un incremento de ALP-DP y RP. Los polisorbatos 20 y 80 mostraron una eficacia comparable a la hora de prevenir un incremento de la turbidez, partículas subvisibles y visibles. Por lo tanto, los polisorbatos 20 y 80 son surfactantes preferidos para su uso en las composiciones líquidas estables descritas.

Estabilizantes

Los estabilizantes ayudan a prevenir la oxidación y agregación de las proteínas en las composiciones farmacéuticas, particularmente en las composiciones farmacéuticas líquidas, que tienen un periodo de validez más corto debido a la tendencia de las proteínas a oxidarse y/o degradarse cuando están en soluciones acuosas. Se pueden utilizar varios métodos analíticos para evaluar la estabilidad de una composición determinada, p. ej., se puede utilizar RP-HPLC para evaluar el nivel de productos de oxidación (previos a los picos principales) en las composiciones líquidas descritas en la presente, mientras que se puede utilizar SEC para evaluar el nivel de agregación en las composiciones líquidas descritas en la presente.

Los estabilizantes adecuados para su uso en las composiciones líquidas descritas incluyen estabilizantes iónicos y no iónicos (y combinaciones de estos), p. ej., azúcares, glicina, cloruro de sodio, arginina, EDTA, ascorbato de sodio, cisteína, bisulfato de sodio, citrato de sodio, metionina y alcohol bencílico. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida contendrá al menos un estabilizante del grupo 1 (p. ej., azúcares [p. ej., trealosa, manitol], aminoácidos [p. ej.,

glicina, arginina] y cloruro de sodio). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida contendrá al menos un estabilizante del grupo 2 (EDTA, ascorbato de sodio, cisteína, bisulfato de sodio, citrato de sodio, metionina y alcohol bencílico). Los estabilizantes del grupo 2 suelen tener propiedades antioxidantes, lo que puede reducir la oxidación de los residuos en los anticuerpos contra IL-17. En realizaciones preferidas, una composición farmacéutica líquida contendrá dos estabilizantes: uno del grupo 1 y uno del grupo 2.

Para un estabilizante del grupo 1, se prefieren estabilizantes no iónicos. Los estabilizantes no iónicos adecuados incluyen monosacáridos, disacáridos y trisacáridos, p. ej., trealosa, rafinosa, maltosa, sorbitol o manitol. El azúcar puede ser un alcohol de un azúcar o un aminoazúcar. La concentración del estabilizante del grupo 1 puede ser de aproximadamente 175 mM a aproximadamente 350 mM, p. ej., de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM, p. ej., de aproximadamente 250 mM a aproximadamente 270 mM, p. ej., de aproximadamente 180 a aproximadamente 300 mM, de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM, aproximadamente 175 mM, aproximadamente 180 mM, aproximadamente 185 mM, aproximadamente 190 mM, aproximadamente 195 mM, aproximadamente 200 mM, aproximadamente 225 mM, aproximadamente 250 mM, aproximadamente 270 mM, 275 mM, aproximadamente 300 mM. Son particularmente útiles el manitol con una concentración de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM (p. ej., de aproximadamente 250 mM a aproximadamente 270 mM), la trealosa con una concentración de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 300 mM, p. ej., de aproximadamente 200 mM a

aproximadamente 225 mM, el cloruro de sodio con una concentración de aproximadamente 130 mM a aproximadamente 150 mM, la arginina con una concentración de aproximadamente 160 mM y la glicina con una concentración de aproximadamente 270 mM.

Hemos determinado que la glicina como estabilizante (grupo 1) fue ligeramente beneficiosa respecto a SEC-AP y DLS, pero se observó un incremento en casi todos los productos de degradación. El NaCl como estabilizante (grupo 1) conllevó un incremento en los productos de degradación y agregación según las variantes básicas de CEX y SEC. La trealosa y el manitol actuaron como un estabilizante beneficioso comparable, lo que se confirmó con casi todos los métodos analíticos, pero el manitol presentó un efecto ligeramente inferior (SEC-AP, DLS), más una solubilidad acuosa inferior en comparación con la trealosa. Por lo tanto, la trealosa es el estabilizante preferido del grupo 1, debido a los efectos positivos sobre los productos de degradación. En una realización, la composición líquida comprende trealosa de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM. En una realización, la composición líquida comprende trealosa aproximadamente 200 mM. En una realización, la composición líquida comprende trealosa aproximadamente 225 mM.

Hemos determinado que existe un efecto significativo del grupo 2 sobre la estabilidad de las composiciones líquidas de secukinumab. Nuestros experimentos mostraron que el uso de ningún estabilizante del grupo 2 era inferior (SEC-AP, DLS, turbidez, RP-B), en comparación con las composiciones que contenían un estabilizante del grupo 2. El EDTA de tetrasodio y la cisteína mostraron un incremento

en el producto de agregación y degradación en los métodos analíticos respectivos. La adición de cisteína como estabilizante del grupo 2 dio como resultado composiciones turbias después del estrés de congelación-descongelación y precipitación dentro de un periodo de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C. A pesar de ello, hemos determinado que la metionina es beneficiosa en todas las composiciones respecto a los métodos analíticos. Por consiguiente, para un estabilizante del grupo 2, se prefiere la metionina, la cual también posee propiedades antioxidantes. La concentración del estabilizante del grupo 2 (p. ej., metionina) puede ser de al menos aproximadamente 2.5 mM, p. ej., de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 20 mM, p. ej., de al menos aproximadamente 2.5 mM, al menos aproximadamente 5 mM, al menos aproximadamente 10 mM o al menos aproximadamente 20 mM (p. ej., de aproximadamente 2.5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o aproximadamente 20 mM). En realizaciones preferidas, una composición farmacéutica líquida contendrá al menos un estabilizante del grupo 1 y metionina. En algunas realizaciones, las composiciones líquidas descritas incluyen metionina aproximadamente 5 mM.

Otros excipientes

Las composiciones líquidas de anticuerpos de la divulgación pueden incluir otros excipientes, p. ej., tampones adicionales, sales (p. ej., cloruro de sodio, succinato de sodio, sulfato de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio y cloruro de calcio), agentes estabilizantes adicionales, un modificador de la tonicidad (p. ej., sales y aminoácidos [p. ej., prolina, alanina, L-arginina, asparagina, ácido L-aspártico,

glicina, serina, lisina e histidina]), glicerol, albúmina, alcoholes, conservantes, surfactantes adicionales, antioxidantes, etc. Se puede consultar una discusión exhaustiva de tales ingredientes farmacéuticos adicionales en Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20.ª edición, ISBN: 0683306472:

Agentes activos adicionales

Los productos farmacéuticos y las composiciones líquidas estables de la divulgación pueden contener, además del anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, uno o más agentes activos distintos (p. ej., agentes para la psoriasis, agentes para la artritis psoriásica, agentes para la espondilitis anquilosante, agentes para la artritis reumatoide). Tales agentes y/o factores adicionales se pueden incluir en la composición farmacéutica para producir un efecto sinérgico con los anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos o para minimizar los efectos secundarios provocados por los anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej., secukinumab.

Los ejemplos de agentes para la psoriasis que se pueden coformular con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab, incluyen ciclosporina, metotrexato, micofenolato mofetílico, ácido micofenólico, sulfasalazina, 6-tioguanina, fumaratos (p. ej., dimetilfumarato y ésteres del ácido fumárico), azatioprina, corticosteroides, leflunomida, tacrolimus, bloqueadores de linfocitos T (tales como Amevive® (alefacept) y Raptiva® (efalizumab), bloqueadores del factor alfa de necrosis tumoral (TNF-alfa) (tales como Enbrel® (etanercept),

Humira® (adalimumab), Remicade® (infliximab) y Simponi® (golimumab)) y bloqueadores de la interleucina 12/23 (tales como Stelara® (ustekinumab), tasocitinib y briakinumab.

Otros agentes para la psoriasis que se pueden coformular con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab, para el tratamiento de la psoriasis incluyen apremilast, mometasoma, voclosporina, cetoconazol, Neuroskin Forte, interleucina 10 humana recombinante, voclosporina, MK-3222, tofacitinib, VX-765, MED-I545, decanoato de flufenazina, acetaminofén, crema de bimosiamosa, doxiciclina, vancomicina, AbGn168, Vitamina D3, RO5310074, fludarabina Calcipotriol e hidrocortisona (LEO 80190), Focetria (vacuna con adyuvante MF59 monovalente, vector de terapia génica tgAAC94, Capsaicina, Psirelax, ABT-874 (anti-IL-12), IDEC-114, MEDI-522, LE29102, BMS 587101, CD 2027, CRx-191, 8-metoxipsoralén o 5-metoxipsoralén, Bicilina L-A, LY2525623, INCB018424, LY2439821, CEP-701, CC-10004, certolizumab (CZP), GW786034 (pazopanib), complejo de doxiciclina Curcuminoides C3, NYC 0462, RG3421, hOKT3gamma1(Ala-Ala), BT061, teplizumab, sulfato de Condroitina, CNTO 1275, anticuerpo monoclonal para las subunidades IL-12p40 e IL-23 p40, BMS-582949, MK0873, MEDI-507, M518101, ABT-874, AMG 827, AN2728, AMG 714, AMG 139, PTH (1-34), espuma U0267, CNTO 1275, QRX-101, CNTO 1959, LEO 22811, Imiquimod, CTLA4Ig, Alga *Dunaliella Bardawil*, pioglitazona, pimecrolimus, ranibizumab, Zidovudina CDP870 (Certolizumab pegol), Onercept (r-hTBP-1), ACT-128800, 4,4-dimetilbenciso-2*H*-selenazina, CRx-191, CRx-197, doxercalciferol, LAS 41004, WBI-1001, tacrolimus, RAD001, rapamicina, rosiglitazona, pioglitazona, ABT-874, Aminopterina, AN2728, CD2027, ACT-128800, furoato de

mometasona, CT 327, clobetasol + LCD, BTT1023, E6201, vitamina B12 tópica, IP10.C8, BFH772, LEO 22811, Flufenazina, MM-093, Clobex, SCH 527123, CF101, SRT2104, BIRT2584, CC10004, Tetratiomolibdato, CP-690.550, U0267, ASP015K, VB-201, Acitretina (también denominada U0279), RWJ-445380, propionato de Clobetasol, toxina de *botulinum* de tipo A, alefacept, erlotinib, BCT194, Roflumilast, CNTO 1275, halobetasol, ILV-094, crema CTA018, COL-121, MEDI-507, AEB071.

Otros agentes para la psoriasis que se pueden coformular con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab, incluyen antagonistas de IL-6, antagonistas de CD20, antagonistas de CTLA4, antagonistas de IL-17, antagonistas de IL-8, antagonistas de IL-21, antagonistas de IL-22, antagonistas de VGEF, antagonistas de CXCL, antagonistas de MMP, antagonistas de la defensina, antagonistas de IL-1beta y antagonistas de IL-23 (p. ej., señuelos de receptores, anticuerpos antagonísticos, etc.). Los agentes para la psoriasis preferidos que se pueden coformular con secukinumab son DMARD (siglas en inglés referentes a fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad) (p. ej., MTX y ciclosporina), antagonistas de IL-12/-23 (p. ej., ustekinumab), antagonistas de CTLA-4 (p. ej., CTLA4-Ig) y antagonistas de TNF-alfa.

En términos generales, los agentes para la artritis reumatoide, agentes para la artritis psoriásica y agentes para la espondilitis anquilosante que se pueden coformular con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab, pueden ser, entre otros, un agente inmunosupresor, un DMARD, un fármaco para controlar el dolor, un esteroide, un fármaco antiinflamatorio no

esteroideo (NSAID, por sus siglas en inglés), un antagonista de citocinas, un agente anabólico óseo, un agente antirresortivo óseo y combinaciones de estos. Los agentes representativos incluyen ciclosporina, retinoides, corticosteroides, un derivado del ácido propiónico, un derivado del ácido acético, derivados del ácido enólico, derivados del ácido fenámico, inhibidores de Cox-2, lumiracoxib, ibuprofeno, salicilato de magnesio y colina, fenoprofeno, salsalato, difunisal, tolmetina, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, indometacina, sulindac, etodolac, ketorolac, nabumetona, naproxeno, valdecoxib, etoricoxib, MK0966; rofecoxib, acetominofeno, Celecoxib, Diclofenac, tramadol, piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam, isoxicam, ácido mefanámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, tolfenamic, valdecoxib, parecoxib, etodolac, indometacina, aspirina, ibuprofeno, firocoxib, metotrexato (MTX), fármacos contra la malaria (p. ej., hidroxicloroquina y cloroquina), sulfasalazina, Leflunomida, azatioprina, ciclosporina, sales de oro, minociclina, ciclofosfamida, D-penicilamina, minociclina, auranofina, tacrolimus, miocrisina, clorambucil, antagonsitas de TNF-alfa (p. ej., antagonistas de TNF-alfa o antagonistas de receptores de TNF-alfa), p. ej., ADALIMUMAB (Humira®), ETANERCEPT (Enbrel®), INFLIXIMAB (Remicade®; TA-650), CERTOLIZUMAB PEGOL (Cimzia®; CDP870), GOLIMUMAB (Simponi®; CNTO148), ANAKINRA (Kineret®), RITUXIMAB (Rituxan®; MabThera®), ABATACEPT (Orencia®), TOCILIZUMAB (RoActemra /Actemra®), antagonistas de la integrina (TYSABRI® (natalizumab)), antagonistas de IL-1 (ACZ885 (Ilaris)), Anakinra (Kineret®)), antagonistas de CD4, antagonistas de IL-23, antagonistas de IL-20, antagonistas de IL-6,

antagonistas de BLyS (p. ej., Atacicept, Benlysta®/ LymphoStat-B® (belimumab)), inhibidores de p38, antagonistas de CD20 (Ocrelizumab, Ofatumumab (Arzerra®)), antagonistas del interferón gamma (Fontolizumab), prednisolona, Prednisona, dexametasona, cortisol, cortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, betametasona, triamcinolona, beclometasoma, fludrocortisona, desoxicorticosterona, aldosterona, SB-681323, Rob 803, AZD5672, AD 452, SMP 114, HZT-501, CP-195,543, Doxiciclina, vancomicina, CRx-102, AMG108, pioglitazona, SBI-087, SCIO-469, Cura-100, Oncoxina + Viusid, TwHF, PF-04171327, AZD5672, Metoxsalén, ARRY-438162, Vitamina D – ergocalciferol, Milnacipran, Paclitaxel, GW406381, rosiglitazona, SC12267 (4SC-101); LY2439821, BTT-1023, ERB-041, ERB-041, KB003, CF101, ADL5859, MP-435, ILV-094, GSK706769, GW856553, ASK8007, MOR103, HE3286, CP-690,550 (tasocitinib), REGN88 (SAR153191), TRU-015, BMS-582949, SBI-087, LY2127399, E-551S-551, H-551, GSK3152314A, RWJ-445380, Tacrolimus (Prograf®), RAD001, rapamune, rapamicina, fostamatinib, Fentanilo, XOMA 052, CNTO 136, JNJ 38518168, Imatinib, ATN-103, ISIS 104838, ácido fólico, folato, TNFa kinoid, MM-093, colágeno de tipo II, VX-509, AMG 827 70, masitinib (AB1010), LY2127399, ciclosporina, SB-681323, MK0663, NNC 0151-0000-0000, ATN-103, CCX 354-C, CAM3001, LX3305, Cetrorelix, MDX-1342, TMI-005, MK0873, CDP870, Tranilast, CF101, ácido micofenólico (y ésteres de este), VX-702, GLPG0259, SB-681323, BG9924, ART621, LX3305, T-614, Fostamatinib disódico (R935788), CCI-779, ARRY-371797, CDP6038, AMG719, BMS-582949, GW856553, rosiglitazona, CH-4051, CE-224,535, GSK1827771, GW274150, BG9924, PLX3397, TAK-783, INCB028050, LY2127399, LY3009104, R788, Curcumina

(Longvida™), Rosuvastatina, PRO283698, AMG 714, MTRX1011A, Maraviroc, MEDI-522, MK0663, mesilato de STA 5326, CE-224,535, AMG108, BG00012 (BG-12; Biogen), ramiprilo, VX-702, CRx-102, LY2189102, SBI-087, SB-681323, CDP870, Milnaciprán, PD 0360324, PH-797804, AK106-001616, PG-760564, PLA-695, MK0812, ALD518, Cobiprostona, somatropina, vector de terapia génica tgAAC94, MK0359, GW856553, esomeprazol, everolimus, trastuzumab, agentes anabólicos óseos y agentes antirresortivos óseos (p. ej., PTH, bisfosfonatos (p. ej., ácido zoledrónico), inhibidores de JAK1 y JAK2, inhibidores de pan JAK, p. ej., piridona tetracíclica 6 (P6), 325, PF-956980, antagonistas de esclerostina (p. ej., los que se describen en los documentos WO09047356, WO2000/32773, WO2006102070, US20080227138, US20100028335, US 20030229041, WO2005003158, WO2009039175, WO2009079471, WO03106657, WO2006119062, WO08115732, WO2005/014650, WO2005/003158, WO2006/119107, WO2008/061013, WO2008/133722, WO2008/115732, US7592429, US7879322, US7744874, cuyos contenidos se incorporan a la presente por referencia en su totalidad [los anticuerpos anti-esclerostina preferidos y las porciones de unión al antígeno de estos para su uso en los métodos, composiciones farmacéuticas, kits y usos descritos se pueden consultar en el documento WO09047356 (equivalente a US7879322), WO06119107 (equivalente a US7872106 y US 7592429) y WO08115732 (equivalente a US7744874]), denosumab, antagonistas de IL-6, antagonistas de CD20, antagonistas de CTLA4, antagonistas de IL-8, antagonistas de IL-21, antagonistas de IL-22, antagonistas de la integrina (Tysarbri® (natalizumab)), antagonistas de VGEF, antagonistas de CXCL, antagonistas de MMP, antagonistas de la defensina, antagonistas de IL-1 (incluidos los

antagonsitas de IL-1 beta) y antagonistas de IL-23 (p. ej., señuelos de receptores, anticuerpos antagonísticos, etc.). Los agentes para la artritis reumatoide preferidos que se pueden coformular con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab, son DMARD, tales como el metotrexato, y antagonistas de TNF-alfa. Los agentes para la espondilitis anquilosante preferidos que se pueden coformular con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab, son NSAID, DMARD, tales como la sulfasalazina, y antagonistas de TNF-alfa. Los agentes para la artritis psoriásica preferidos que se pueden coformular con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab, son DMARD, tales como la ciclosporina, bloqueadores de CTLA-4 (p. ej., CLTA4-Ig), alefacept y antagonistas de TNF-alfa.

Un experto será capaz de discernir las dosis adecuadas de los agentes anteriores para la cocomposición con los anticuerpos contra IL-17 descritos, tales como secukinumab.

En la presente se describen composiciones farmacéuticas líquidas estables que comprenden de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente (p. ej., secukinumab), un tampón de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM (p. ej., histidina) de pH 5.2 - aproximadamente 6.0, un estabilizante de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM (p. ej., trealosa), aproximadamente un 0.02% de surfactante (p. ej., polisorbato 80) y metionina de aproximadamente 2.5 mM a aproximadamente 20 mM.

En algunas realizaciones, la concentración de metionina en la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito es de aproximadamente 2.5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o aproximadamente 20 mM, preferentemente de aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones, el pH de la composición farmacéutica líquida es de aproximadamente 5.8. En algunas realizaciones, la concentración de secukinumab de la composición descrita es de aproximadamente 25 mg/ml o aproximadamente 150 mg/ml. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende un tampón seleccionado del grupo constituido por un tampón de histidina, un tampón de citrato, un tampón de acetato y un tampón de succinato. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida emplea un tampón de histidina con una concentración de aproximadamente 20 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende un surfactante seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende además un surfactante seleccionado entre polisorbato 80, polisorbato 20 y poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende polisorbato 80 con una concentración de aproximadamente un 0.01% (p/v) a aproximadamente un 0.04% (p/v), preferentemente de aproximadamente un 0.02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende polisorbato 20 con una concentración de aproximadamente un 0.02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende un estabilizante seleccionado del grupo constituido por manitol, cloruro de sodio, trealosa,

arginina HCl y glicina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende trealosa con una concentración de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 300 mM, preferentemente de aproximadamente 200 mM o aproximadamente 225 mM.

En la presente se describen productos farmacéuticos que comprenden: un envase que tiene un espacio vacío, donde el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 12%, y una composición farmacéutica líquida que tiene un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2 dispuesta dentro de dicho envase, comprendiendo dicha composición: de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente (p. ej., secukinumab); y L-metionina de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 20 mM, donde la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

En algunas realizaciones, la concentración de metionina en la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito es de aproximadamente 2.5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o aproximadamente 20 mM, preferentemente de aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones, el contenido de oxígeno en el espacio vacío del producto farmacéutico descrito es inferior a aproximadamente un 10%, p. ej., inferior a aproximadamente un 8%, preferentemente inferior a aproximadamente un 6%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito tiene un pH de aproximadamente 5.8. En algunas

realizaciones, la concentración de secukinumab del producto farmacéutico descrito es de aproximadamente 25 mg/ml o aproximadamente 150 mg/ml. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito comprende además un tampón seleccionado del grupo constituido por un tampón de histidina, un tampón de citrato, un tampón de acetato y un tampón de succinato. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito emplea un tampón con una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito emplea un tampón de histidina con una concentración de aproximadamente 20 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito comprende además un surfactante seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito comprende además un surfactante seleccionado entre polisorbato 80, polisorbato 20 y poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito comprende además polisorbato 80 con una concentración de aproximadamente un 0.01% (p/v) a aproximadamente un 0.04% (p/v), preferentemente de aproximadamente un 0.02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito comprende además polisorbato 20 con una concentración de aproximadamente un 0.02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito comprende además un estabilizante seleccionado del grupo constituido por

manitol, cloruro de sodio, trealosa, arginina HCl y glicina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico descrito comprende además trealosa con una concentración de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 300 mM, preferentemente de aproximadamente 200 mM o aproximadamente 225 mM. En algunas realizaciones, el envase del producto farmacéutico descrito es un cartucho, una jeringa, una pluma o un vial.

En la presente se describen productos farmacéuticos que comprenden: un envase que tiene un espacio vacío, donde el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 6%, y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho envase, comprendiendo dicha composición de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente (p. ej., secukinumab), histidina de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM de pH 5.8, trealosa de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM, aproximadamente un 0.02% de polisorbato 80 y metionina de aproximadamente 2.5 mM a aproximadamente 20 mM, donde la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

En algunas realizaciones, el producto farmacéutico comprende aproximadamente 25 mg/ml de secukinumab y trealosa aproximadamente 225 mM. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico comprende aproximadamente 150 mg/ml de secukinumab y trealosa aproximadamente 200 mM. En algunas realizaciones, el envase del producto farmacéutico descrito es un cartucho, una jeringa, una pluma o un vial.

En algunas realizaciones, el producto farmacéutico tiene una cantidad suficiente del antagonista de IL-17 para permitir el suministro de al menos aproximadamente 75 mg – aproximadamente 300 mg del antagonista de IL-17 (p. ej., anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab) por dosis unitaria. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico tiene una cantidad suficiente del antagonista de IL-17 (p. ej., anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab) para permitir un suministro de al menos aproximadamente 10 mg/kg por dosis unitaria. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico se formula con una dosis que permita el suministro intravenoso de aproximadamente 10 mg/kg del antagonista de IL-17 (p. ej., anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab) por dosis unitaria. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico se formula con una dosis que permita el suministro subcutáneo de aproximadamente 75 mg - aproximadamente 300 mg del antagonista de IL-17 (p. ej., anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab) por dosis unitaria.

Procesos para preparar composiciones líquidas y productos farmacéuticos

En la presente también se describen procesos para preparar los productos farmacéuticos y las composiciones líquidas de la divulgación. Estos procesos ayudan a reducir la oxidación de los anticuerpos contra IL-17 descritos. Resumiendo, una composición líquida se prepara combinando los excipientes deseados (p. ej., estabilizante del grupo 1 (p. ej., trealosa), estabilizante del grupo 2 (metionina), surfactante (p. ej., PS80), tampón (p. ej., histidina)) con un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno

de este (p. ej., secukinumab) hasta obtener las concentraciones deseadas (p. ej., de aproximadamente 25 a aproximadamente 150 mg/ml de secukinumab, histidina aproximadamente 20 mM de pH 5.8, trealosa de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM, aproximadamente un 0.02% de polisorbato 80 y metionina de aproximadamente 2.5 mM a aproximadamente 20 mM) y el pH deseado (p. ej., un pH de aproximadamente 5.8). A continuación, esta composición líquida se dispone en el envase de elección (p. ej., vial, jeringa, cartucho [p. ej., para su uso con un autoinyector]). El contenido de oxígeno en el espacio vacío se ajusta hasta el nivel deseado (p. ej., inferior a aproximadamente un 12%, inferior a un 10%, inferior a aproximadamente un 8%, inferior a aproximadamente un 6%, etc.), lo cual puede tener lugar antes del rellenado del envase con la composición líquida, durante el rellenado del envase con la composición líquida o durante el sellado/colocación del tapón del envase.

En la presente se describen procesos para reducir la oxidación de secukinumab, que comprenden: preparar una composición líquida que tiene un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2 y que comprende: de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente (p. ej., secukinumab); y metionina de aproximadamente 2.5 mM a aproximadamente 20 mM; disponer dicha composición líquida en un envase que tiene un espacio vacío; y ajustar el contenido de oxígeno en el espacio vacío para que sea inferior o igual a aproximadamente un 12%.

En algunas realizaciones de los procesos descritos, el paso de ajuste c) se lleva a cabo purgando el espacio vacío utilizando un gas inerte. En algunas realizaciones de los procesos descritos, el gas inerte es nitrógeno o argón. En algunas realizaciones de los procesos descritos, la concentración de metionina en la composición líquida es de aproximadamente 2.5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o aproximadamente 20 mM, preferentemente de aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones de los procesos descritos, el contenido de oxígeno en el espacio vacío se ajusta para que sea inferior a aproximadamente un 10%, p. ej., inferior a aproximadamente un 8%, preferentemente inferior a aproximadamente un 6%. En algunas realizaciones de los procesos descritos, la composición líquida tiene un pH de aproximadamente 5.8. En algunas realizaciones de los procesos descritos, la concentración de secukinumab en la composición líquida es de aproximadamente 25 mg/ml o aproximadamente 150 mg/ml. En algunas realizaciones de los procesos descritos, el envase es un cartucho, una jeringa, una pluma o un vial.

Métodos para utilizar los productos farmacéuticos y las composiciones líquidas

Los productos farmacéuticos y las composiciones líquidas descritos se utilizarán para el tratamiento de pacientes, p. ej., que padecen enfermedades autoinmunitarias (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, etc.). La dosis adecuada variará, obviamente, dependiendo, por ejemplo, de los anticuerpos contra IL-17 particulares o fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej.,

secukinumab, que se vayan a emplear, el hospedador, el modo de administración y la naturaleza y gravedad de la afección que se esté tratando, así como de la naturaleza de tratamientos previos que el paciente haya recibido. En última instancia, el profesional sanitario responsable decidirá la cantidad del anticuerpo contra IL-17 con la que tratar a cada paciente individual. En algunas realizaciones, el profesional sanitario responsable puede administrar dosis bajas del anticuerpo contra IL-17 y observar la respuesta del paciente. En otras realizaciones, la dosis o las dosis iniciales del anticuerpo contra IL-17 administradas a un paciente son elevadas y a continuación se valoran de forma descendiente hasta que aparecen signos de recidiva. Se pueden administrar dosis más elevadas del anticuerpo contra IL-17 hasta que se obtenga el efecto terapéutico óptimo para el paciente y por lo general la dosis ya no se incrementa más.

El momento en que se administra la dosis se mide por lo general a partir del día de la primera dosis del compuesto activo (p. ej., secukinumab), que también se denomina "línea de base". Sin embargo, diferentes profesionales sanitarios utilizan diferentes convenciones para la nomenclatura, según se muestra en la **Tabla 2** a continuación.

Semana	**0**/1	**1**/2	**2**/3	**3**/4	**4**/5	**5**/6	**6**/7	**7**/8	**8**/9	Etc.
1.er día	0/**1**	7/**8**	14/**15**	21/**22**	28/**29**	35/**36**	42/**43**	49/**50**	56/**57**	Etc.

Tabla 2 – Convenciones comunes de nomenclatura para las pautas posológicas. Los parámetros en negrita se refieren a la convención de nomenclatura utilizada en la presente.

Cabe destacar que algunos profesionales sanitarios pueden hacer referencia a la semana cero como semana 1 y algunos profesionales sanitarios pueden hacer referencia al día cero como día uno. Por lo tanto, es posible que diferentes médicos designen que, p. ej., una dosis se suministra durante la semana 3 / en el día 21, durante la semana 3 / en el día 22, durante la semana 4 / en el día 21, durante la semana 4 / en el día 22, refiriéndose al mismo programa de dosis. Para mantener la coherencia, en la presente se hará referencia a la primera semana de dosis como semana 0, mientras que se hará referencia al primer día de dosis como el día 1. Sin embargo, un experto sobreentenderá que esta convención de nomenclatura se utiliza simplemente para mantener la coherencia y no se debe interpretar como limitante, es decir, una dosis semanal consiste en la administración de una dosis semanal de los anticuerpos contra IL-17 o fragmentos de unión al antígeno de estos, p. ej., secukinumab, independientemente de si el médico se refiere a una semana particular como "semana 1" o "semana 2". A modo de ejemplo de la nomenclatura que utiliza la convención designada en la presente, cinco dosis de secukinumab administradas semanalmente se pueden proporcionar durante la semana 0 (p. ej., aproximadamente en el día 1), durante la semana 1 (p. ej., aproximadamente en el día 8), durante la semana 2 (p. ej., aproximadamente en el día 15), durante la semana 3 (p. ej., aproximadamente en el día 22) y durante la semana 4 (p. ej., aproximadamente en el día 29). Se sobreentenderá que una dosis no tiene por qué proporcionarse en un punto temporal exacto, p. ej., una dosis que se debe administrar aproximadamente en el día 29 se podría proporcionar, p. ej.,

desde el día 24 hasta el día 34, p. ej., el día 30, siempre que se proporcione en la semana adecuada.

En algunas realizaciones, los métodos y usos descritos emplean un régimen inicial (que en ocasiones se denomina "inducción") que dura 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 semanas. En algunas realizaciones, el régimen inicial utiliza dosis durante las semanas 0, 1, 2 y 3. En otras realizaciones, el régimen inicial utiliza dosis durante las semanas 0, 1, 2, 3, 4, 8 y 12. En algunas realizaciones, el régimen inicial comprende administrar varias dosis (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, preferentemente 4 o 5) de aproximadamente 150 mg - 300 mg, p. ej., aproximadamente cuatro o cinco dosis de 150 mg o 300 mg (preferentemente cinco dosis de aproximadamente 150 mg – aproximadamente 300 mg) del anticuerpo contra IL-7, p. ej., secukinumab. En realizaciones adicionales, las dosis iniciales se suministran semanalmente, dos veces por semana, cada dos semanas o mensualmente [cada 4 semanas], preferentemente semanalmente. En algunas realizaciones, se administran 150 mg o 300 mg del anticuerpo contra IL-17, p. ej., secukinumab, mediante una inyección subcutánea, con la dosis inicial en las semanas 0, 1, 2 y 3.

Para un régimen de mantenimiento, se puede proporcionar una dosis cada mes (que también se denomina dosis "mensual") (es decir, cada 4 semanas, es decir, aproximadamente cada 28 días), cada dos meses (es decir, cada 8 semanas, es decir, aproximadamente cada 56 días) o cada tres meses (es decir, cada 12 semanas, es decir, aproximadamente cada 84 días). En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento empieza tras la semana 12. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento empieza

tras la semana 3. La primera dosis de un régimen de mantenimiento se administrará en una fecha que se mide normalmente a partir de la dosis final del régimen de inducción. Por lo tanto, a modo de ejemplo, si la dosis final del régimen de inducción se proporciona durante la semana 12, entonces la primera dosis como parte de un régimen de mantenimiento mensual [cada 4 semanas] se suministrará durante la semana 16, la primera dosis como parte de un régimen de mantenimiento cada dos meses se suministrará durante la semana 20, la primera dosis como parte de un régimen de mantenimiento cada tres meses se suministrará durante la semana 24, etc. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento comprende administrar una dosis del anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, semanalmente, cada dos semanas, mensualmente [cada 4 semanas], cada dos meses, trimestralmente, semestralmente o anualmente. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento emplea dosis mensuales (cada 4 semanas). En algunas realizaciones, la primera dosis del régimen de mantenimiento se suministra durante la semana 4 o durante la semana 16. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento comprende administrar una dosis de aproximadamente 150 mg - 300 mg, p. ej., aproximadamente 150 mg o aproximadamente 300 mg del anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab.

El suministro de un anticuerpo contra IL-17, tal como secukinumab, durante un régimen de carga, régimen de inducción y/o régimen de mantenimiento se puede efectuar mediante una vía subcutánea, p. ej., el suministro de dosis

de aproximadamente 75 mg - aproximadamente 300 mg (p. ej., aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 225 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 275 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 325 mg) mediante una vía intravenosa, p. ej., el suministro de dosis de aproximadamente 1 mg/kg, - aproximadamente 50 mg/kg (p. ej., aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg, etc.) o cualquier otra vía de administración (p. ej., intramuscular, i.m.). En realizaciones preferidas, la dosis del anticuerpo contra IL-17 se suministra por vía s.c.

En realizaciones preferidas, se administra una dosis al paciente de aproximadamente 150 mg - aproximadamente 300 mg (p. ej., aproximadamente 150 mg o aproximadamente 300 mg) del anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, mediante una inyección subcutánea, con la dosis inicial en las semanas 0, 1, 2 y 3, seguida por una dosis de mantenimiento mensual, que empieza en la semana 4. En este régimen, la dosis se administra durante cada una de las semanas 0, 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20, etc. Se puede suministrar una dosis de 300 mg como dos inyecciones subcutáneas de 150 mg.

En la presente se describen métodos para tratar un trastorno autoinmunitario (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica), que comprende administrar a un paciente que lo necesite una dosis de aproximadamente 150 mg - aproximadamente 300 mg (p.

ej., aproximadamente 150 mg o aproximadamente 300 mg) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, mediante una inyección subcutánea, con la dosis inicial en las semanas 0, 1, 2 y 3, seguida por una dosis de mantenimiento mensual, que empieza en la semana 4, donde el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este, p. ej., secukinumab, se proporciona como parte de una composición farmacéutica que comprende: de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente (p. ej., secukinumab); un tampón con un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2; y metionina de aproximadamente 2.5 a 20 mM, donde la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

En la presente se describe el uso de un anticuerpo contra IL-17 (p. ej., secukinumab) para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica) en un paciente, donde el medicamento se formula para que comprenda envases, teniendo cada envase un espacio vacío con un contenido de oxígeno inferior a aproximadamente un 12% (p. ej., inferior a aproximadamente un 10%, inferior a aproximadamente un 8%, inferior a aproximadamente un 7%, inferior a aproximadamente un 6%, etc.) y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho envase, comprendiendo dicha composición: de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., de

aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente (p. ej., secukinumab); un tampón con un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2; y metionina de aproximadamente 2.5 a 20 mM, donde la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

Kits que comprenden los productos farmacéuticos y las composiciones líquidas

La divulgación también engloba kits para tratar varias enfermedades autoinmunitarias (p. ej., psoriasis). Tales kits incluyen de forma general al menos uno de los productos farmacéuticos o composiciones farmacéuticas líquidas descritos e instrucciones para su uso. Las instrucciones describirán técnicas adecuadas para proporcionar la composición líquida estable al paciente como parte de una pauta posológica. Estos kits también pueden contener agentes adicionales (descritos anteriormente) para tratar enfermedades autoinmunitarias, p. ej., psoriasis, para el suministro combinado con (es decir, de forma simultánea o secuencial [antes o después]) la composición líquida incluida.

En la presente se describen kits para el tratamiento de un paciente que sufre una enfermedad autoinmunitaria (p. ej., psoriasis), que comprenden: a) un envase que tiene un espacio vacío, donde el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 12% (p. ej., inferior a aproximadamente un 10%, inferior a aproximadamente un 8%, inferior a aproximadamente un 7%, inferior a aproximadamente un 6%, etc.), b) una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho envase,

comprendiendo dicha composición: i) de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de un anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este según se describe en la presente (p. ej., secukinumab); ii) un tampón con un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2; y iii) metionina de aproximadamente 2.5 a 20 mM, donde la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado; y c) instrucciones para administrar la composición farmacéutica líquida al paciente. En algunas realizaciones, el envase es una pluma, una jeringa prerrellenada, un autoinyector o un vial.

Generalidades

En algunas realizaciones de la divulgación, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este se selecciona del grupo constituido por: a) un anticuerpo contra IL-17 que se une a un epítopo de IL-17 que comprende Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129; b) un anticuerpo contra IL-17 que se une a un epítopo de IL-17 que comprende Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80; c) un anticuerpo contra IL-17 que se une a un epítopo de un homodímero de IL-17 que tiene dos cadenas de la proteína IL-17 madura, comprendiendo dicho epítopo Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129 en una cadena y Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80 en la otra cadena; d) un anticuerpo contra IL-17 que se une a un epítopo de un homodímero de IL-17 que tiene dos cadenas de la proteína IL-17 madura, comprendiendo dicho epítopo Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127,

Val128, His129 en una cadena y Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80 en la otra cadena, donde la molécula de unión a IL-17 tiene una K_D de aproximadamente 100 - aproximadamente 200 pM (p. ej., cuando se mide según Biacore®) y donde la molécula de unión a IL-17 tiene una semivida *in vivo* de aproximadamente 23 - aproximadamente 30 días; y e) un anticuerpo contra IL-17 que comprende un anticuerpo seleccionado del grupo constituido por: i) un dominio variable de la cadena pesada (V_H) de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:8; ii) un dominio variable de la cadena ligera (V_L) de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:10; iii) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:8 y un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:10; iv) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:3; v) un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6; vi) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12 y SEQ ID NO:13; vii) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:3 y un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6; y viii) un dominio V_H de inmunoglobulina que comprende, en

secuencia, las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12 y SEQ ID NO:13 y un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende, en secuencia, las regiones hipervariables expuestas como SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6; ix) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:15 (con o sin la lisina C-terminal); x) una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:14; xi) una cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:15 (con o sin la lisina C-terminal) y una cadena ligera de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO:14. En algunas realizaciones de la divulgación, el anticuerpo contra IL-17 o fragmento de unión al antígeno de este es un anticuerpo humano, preferentemente secukinumab.

Los detalles de una o más realizaciones de la divulgación se exponen en la descripción adjunta anterior. Aunque en la práctica o el ensayo de la presente divulgación se pueden utilizar cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente, a continuación se describen los métodos y materiales preferidos. A partir de la descripción y de las reivindicaciones, otras características, objetos y ventajas de la divulgación resultarán evidentes. En la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular incluyen referentes en plural, a menos que el contexto dictamine claramente lo contrario. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tendrán el mismo significado que el que habitualmente interpreta un experto

en la técnica a la que pertenece la divulgación. Todas las patentes y publicaciones citadas en esta memoria descriptiva se incorporan por referencia. Los siguientes Ejemplos se presentan con el fin de ilustrar más completamente las realizaciones preferidas de la divulgación. Estos ejemplos no deben de modo alguno considerarse como limitantes del alcance de la materia de la patente descrita según se define en las reivindicaciones adjuntas.

EJEMPLOS:

Se sobreentiende que los ejemplos y las realizaciones que se describen en la presente tienen únicamente fines ilustrativos y que los expertos en la técnica sugerirán varias modificaciones y cambios al tenerlos en cuenta, los cuales se deben incluir en la naturaleza y el ámbito de esta solicitud y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Estos ejemplos describen el desarrollo de composiciones líquidas estables de secukinumab. Los datos muestran que el pH de la composición y la elección del estabilizante del grupo 2 ejercen un gran efecto sobre la estabilidad de la composición líquida. Los datos también muestran un efecto del contenido de oxígeno en el espacio vacío que influye sobre la estabilidad de la composición líquida. La concentración del anticuerpo, la elección del surfactante, la elección del estabilizante del grupo 1 y la elección del sistema tampón presentaron una influencia menor sobre la estabilidad. Por consiguiente, cuando se consideran las variables que tienen una mayor influencia sobre la estabilidad, los productos farmacéuticos descritos comprenden un envase (p. ej., PFS o vial) que tiene un

espacio vacío, donde el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 12%, y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho envase, donde dicha composición tiene un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2 y comprende secukinumab con una concentración de aproximadamente 20 mg/mL a 175 mg/mL y L-metionina de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 20 mM. Cuando se consideran las variables que ejercen efectos tanto grandes como pequeños sobre la estabilidad, los productos farmacéuticos descritos comprenden un envase (p. ej., PFS o vial) que tiene un espacio vacío, donde el contenido de oxígeno en el espacio vacío es inferior a aproximadamente un 12%, y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho envase, donde dicha composición tiene un pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2 y comprende secukinumab, un tampón, un surfactante, un estabilizante y L-metionina de aproximadamente 2.5 a aproximadamente 20 mM.

Basándose en los datos que se describen a continuación, las composiciones líquidas preferidas comprenden de aproximadamente 25 mg/mL - aproximadamente 165 mg/mL de secukinumab, trealosa de aproximadamente 185 mM – aproximadamente 225 mM, de aproximadamente un 0.01% - aproximadamente un 0.03% de polisorbato 80, L-metionina de aproximadamente 2.5 mM – aproximadamente 20 mM y tampón de histidina de aproximadamente 10-30 mM (p. ej., tampón de histidina aproximadamente 20 mM) a un pH de aproximadamente 5.8.

Una composición líquida preferida I comprende aproximadamente 150 mg/mL de secukinumab, trealosa aproximadamente 200 mM, aproximadamente un 0.02% de

polisorbato 80, L-metionina aproximadamente 5 mM y tampón de histidina aproximadamente 20 mM a un pH de aproximadamente 5.8. Un producto farmacéutico preferido I comprende la composición líquida mencionada anteriormente 1 dispuesta en una jeringa prerrellenada (PFS, por sus siglas en inglés).

Otra composición líquida preferida II comprende aproximadamente 25 mg/mL de secukinumab, trealosa aproximadamente 225 mM, aproximadamente un 0.02% de polisorbato 80, L-metionina aproximadamente 5 mM y tampón de histidina aproximadamente 20 mM a un pH de aproximadamente 5.8. Un producto farmacéutico preferido II comprende la composición líquida mencionada anteriormente II dispuesta en un vial.

Abreviatura	**Definición**
CE-SDS	Electroforesis capilar (dodecilsulfato de sodio)
CEX	Cromatografía de intercambio catiónico
Cys-CEX	Cromatografía de intercambio catiónico para cistamina
DLS	Dispersión dinámica de la luz
DoE	Diseño del experimento
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
LLS	Dispersión de luz láser
RH	Humedad relativa
RP-HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato de sodio
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaños

Abreviatura	**Definición**
AP-SEC	Productos de agregación según SEC
DP-SEC	Productos de degradación según SEC

Tabla 3: Abreviaturas utilizadas en los Ejemplos

Ensayo analítico
UV: Ensayos de la proteína según la absorción UV SEC: Pureza según SEC, AP-SEC, DP-SEC SDS-PAGE: pureza según SDS-PAGE (no reductora), pureza según SDS-PAGE (reductora), impurezas según SDS-PAGE (reductora) CE-SDS: Pureza según CE-SDS (no reductora), impurezas según CE-SDS (no reductora) LLS: peso molecular medio según LLS DLS: polidispersidad según DLS, radio hidrodinámico según DLS Turbidez Partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz Partículas visibles
RP-HPLC: pureza según RP-HPLC y especies previas al pico principal según RP-HPLC CEX: pureza según CEX, variantes ácidas según CEX, variantes básicas según CEX Color
actividad según Cys-CEX Grupos SH libres (prueba de Ellmans) actividad biológica

Tabla 4: Métodos analíticos utilizados en los Ejemplos

1.1 Parte I – Análisis detallado de las variables con una mayor influencia sobre la estabilidad en estado líquido de secukinumab (oxígeno en el espacio vacío, pH y L-metionina)

1.1.1 Ejemplo 1: L-Metionina

Se caracterizó el efecto de varios estabilizantes antioxidantes sobre la estabilidad de secukinumab utilizando un conjunto amplio de técnicas analíticas.

En los estudios iniciales, se evaluó una gama de estabilizantes antioxidantes, que comprendían EDTA de tetrasodio, ascorbato de sodio, cisteína, bisulfito de sodio y citrato de sodio. Aunque ninguno de ellos estabilizó la molécula de forma adecuada, se observó un pequeño efecto estabilizante sobre los productos de agregación según SEC para EDTA de tetrasodio y citrato de sodio en comparación con las composiciones que no contenían estabilizantes antioxidantes (no se muestran los datos).

En estudios posteriores, los estabilizantes cisteína, EDTA de tetrasodio y L-metionina se evaluaron con una concentración de 10 mM y se compararon con la ausencia de estabilizante utilizando una concentración de secukinumab de 150 mg/mL con una estrategia DoE. Las composiciones se introdujeron en una PFS y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones de largo plazo (5 °C), aceleradas (25 °C) y de estrés (40 °C) y se evaluaron respecto a su estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz), estabilidad química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color) e indicadores de actividad biológica (actividad según Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó un estrés de congelación-

descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y de agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones introducidas en viales de 2 mL.

Se determinó que la L-metionina era el mejor estabilizante del grupo 2 para secukinumab. Esto se demostró mediante unos niveles de pureza más elevados cuando se midieron mediante la pureza según CEX y la pureza según RP-HPLC y unos niveles de turbidez y unos recuentos de partículas visibles más bajos. Se observó una estabilidad significativamente mejor en presencia de L-metionina en comparación con una composición sin estabilizante. Las composiciones con L-metionina presentaron unos niveles inferiores de AP-SEC, unos datos de DLS más uniformes, una turbidez más baja y unas cantidades menores de especies previas al pico principal según RP-HPLC después de 8 semanas de estabilidad en condiciones aceleradas de 25 °C y 40 °C. El EDTA resultó desfavorable debido a incrementos en AP-SEC, DLS, variantes básicas según CEX y especies previas al pico principal según RP-HPLC. La cisteína llevó a incrementos en casi todos los productos de agregación y degradación, según indicaron varios métodos analíticos.

La **Figura 1** enumera atributos de calidad seleccionados tras el almacenamiento en diferentes condiciones. Se observó que únicamente la L-metionina presentaba un efecto estabilizador de forma uniforme sobre el secukinumab. El efecto estabilizador se observó especialmente sobre especies previas al pico principal según RP-HPLC (**Figura 1 B**) y AP-SEC (**Figura 1 D**). También se observaron otros efectos en la turbidez y el radio hidrodinámico según DLS. El efecto de diferentes concentraciones de L-metionina

sobre los atributos de calidad de secukinumab se evaluó en estudios posteriores.

La **Figura 2** muestra el cambio en las especies previas al pico principal según RP-HPLC durante el almacenamiento a 25 °C con una concentración de secukinumab de 25 mg/mL, una concentración de trealosa de 225 mM y una concentración de polisorbato 80 de un 0.02% en tampón de histidina de pH 5.8 en presencia y ausencia de L-metionina. Las composiciones se introdujeron en viales de 2 mL y se almacenaron durante un máximo de 3 meses en condiciones de estrés. La línea discontinua negra representa un ajuste lineal de los valores obtenidos para la composición que contiene L-metionina 0 mM y la línea discontinua gris representa un ajuste lineal de los valores obtenidos para la composición que contiene L-metionina 10 mM. Claramente, se observó una cinética de degradación reducida en presencia de L-metionina.

También se observó un efecto dependiente de la concentración para composiciones que contenían 150 mg/mL de secukinumab. Se llevó a cabo un estudio con composiciones que contenían trealosa de concentraciones comprendidas entre 200 mM y 300 mM, polisorbato 80 entre un 0.01% y un 0.04%, así como L-metionina de 0 mM a 10 mM. Las composiciones se introdujeron en PFS de 1 mL y se almacenaron durante un máximo de tres meses en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés. Se monitorizó la estabilidad física de secukinumab (AP-SEC, DLS, partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz y partículas visibles, turbidez) y química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color), así como también su actividad biológica.

La **Figura 3** muestra las especies previas al pico principal según RP-HPLC después de un almacenamiento de 6 meses a 25 °C. Mientras que el efecto de la trealosa y el polisorbato 80 sobre la degradación fue despreciable, se observaron claramente unos niveles de degradación reducidos en presencia de L-metionina. Este efecto fue más pronunciado al comparar la estabilidad de secukinumab con y sin L-metionina, pero también se observó una dependencia de la concentración en el intervalo de 2.5 – 10 mM para la L-metionina.

Se observó el mismo efecto estabilizante de la L-metionina tras un almacenamiento a largo plazo (de hasta 30 meses) en composiciones que contenían 150 mg/mL de secukinumab, trealosa 200 mM y un 0.02% de polisorbato 80 en un tampón de histidina de pH 5.8, introducidas en PFS de 1 mL. La **Figura 4** muestra AP-SEC (A) y las especies previas al pico principal según RP-HPLC (B) durante hasta 30 meses de almacenamiento a 5 °C. La línea discontinua negra representa un ajuste lineal de los valores obtenidos para la composición que contiene L-metionina 5 mM y la línea discontinua gris representa un ajuste lineal de los valores obtenidos para la composición que contiene L-metionina 0 mM. Claramente, se observó una cinética de degradación reducida en presencia de L-metionina.

La dependencia de la concentración se confirmó adicionalmente en un estudio que evaluó el impacto de la concentración de L-metionina (0 – 20 mM) sobre la estabilidad de secukinumab (150 mg/mL, trealosa 200 mM, un 0.02% de polisorbato 80 y tampón de histidina de pH 5.8). Las diferentes composiciones se introdujeron en PFS y se almacenaron en condiciones de largo plazo y aceleradas

durante 13 meses y 30 meses (a tan solo 5 °C). La estabilidad de secukinumab se evaluó mediante un conjunto de técnicas analíticas seleccionadas que se observó que era indicativo de la estabilidad en cribados previos (pureza según RP-HPLC, pureza según SEC, turbidez). A partir de las medidas de turbidez, no se pudo concluir ninguna tendencia clara. Sin embargo, AP- SEC y las especies previas al pico principal según RP-HPLC mostraron una clara dependencia de la concentración de L-metionina. Este efecto fue pequeño en condiciones de almacenamiento a tiempo real, pero se observaron diferencias distintivas a 25 °C (**Figura 5**).

Después de un almacenamiento de 13 meses a 25 °C, los niveles de agregados según SEC en la composición sin L-metionina se incrementaron un 4.5% respecto a un nivel inicial < 1% en t0. Con la adición de L-metionina en la composición, este incremento en la formación de agregados se redujo hasta un 3.5% para la L-metionina 2.5 mM, un 3.0% para 5 mM y un 2.2% para 20 mM. A 5 °C, la diferencia entre la composición sin L- metionina y la composición con L-metionina 20 mM fue únicamente de un 0.3%. Las especies previas al pico principal según RP-HPLC se incrementaron de un 9.1% a un 42.7% durante el almacenamiento de 13 meses a 25 °C en la muestra que contenía L-metionina 0 mM. Este incremento de las especies previas al pico principal según RP-HPLC se redujo hasta un 39.4% para las muestras que contenían L-metionina 2.5 mM, un 37.8% para 5.0 mM y un 34.5% para 20 mM. Resumiendo, se observó una reducción en los niveles de AP-SEC y especies previas al pico principal según RP-HPLC en presencia de L-metionina durante el almacenamiento a 5 °C y 25 °C en PFS. Se observó que las diferencias eran más distintivas tras el almacenamiento a

25 °C, pero también fueron detectables después del almacenamiento a 5 °C.

Incluso a un nivel de L-metionina 2.5 mM, las tasas de degradación se redujeron de forma distintiva en comparación con composiciones sin L-metionina. Esto también se confirmó en un estudio adicional que comparó la estabilidad de secukinumab en presencia de L-metionina 0, 2.5 y 5.0 mM. No se observó ninguna diferencia entre la composición que contenía L-metionina 2.5 mM y 5.0 mM en cuanto a la pureza según RP-HPLC, pureza según SEC, así como también la turbidez después de un almacenamiento de 24 meses en la condición de almacenamiento deseada.

La adición de L-metionina a composiciones líquidas de anticuerpos en viales también redujo AP-SEC y las impurezas según CE-SDS (no reductora) (**Figura 6**). Curiosamente, se observó una menor dependencia de la concentración de L-metionina para composiciones líquidas de anticuerpos en viales que tenían 25 mg/mL de secukinumab (**Figura 6**), lo que sugiere que una menor concentración de L-metionina es suficiente para mantener la integridad y estabilidad del anticuerpo en composiciones que tienen una menor concentración de anticuerpo.

Basándose en los datos combinados de los experimentos anteriores, una concentración de metionina de al menos 2.5 mM (preferentemente de aproximadamente 5 mM) es ideal para las composiciones líquidas de secukinumab y es superior para otros estabilizantes del grupo 2.

1.1.2 Ejemplo 2: Contenido de oxígeno en el espacio vacío

1.1.2.1 <u>Envase principal – PFS:</u>

El efecto del contenido de oxígeno en el espacio vacío sobre la estabilidad de secukinumab se evaluó con una

concentración de 150 mg/mL de secukinumab y en una composición con trealosa 200 mM, L-metionina 5 mM y un 0.02% de polisorbato 80 en un tampón de histidina de pH 5.8. Las composiciones se introdujeron en PFS de 1 mL de varios proveedores de PFS. El contenido de oxígeno en el espacio vacío se midió para que estuviera comprendido entre un 13% y un 15% (volumen de rellenado de 0.5 mL) o entre un 3-4% (volumen de rellenado de 0.5 mL)/ 7-8% (volumen de rellenado de 1.0 mL), respectivamente. Las muestras se almacenaron hasta un máximo de seis meses en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés. Las composiciones seleccionadas se almacenaron durante un máximo de 24 meses en condiciones de largo plazo. La estabilidad de secukinumab se monitorizó mediante la pureza según SEC, pureza según RP-HPLC, pureza según CEX, pureza según CE-SDS (no reductora), turbidez, color, grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles según el oscurecimiento de la luz y partículas visibles.

Se observó un efecto del contenido de oxígeno en el espacio vacío sobre las especies previas al pico principal según RP-HPLC y sobre AP-SEC en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés. La **Figura 7** muestra AP-SEC durante un almacenamiento de hasta 9 meses a 25 °C. Claramente, una PFS con un contenido de oxígeno en el espacio vacío comprendido entre un 13-15% mostró un incremento de la agregación a 25 °C. Sin embargo, se observó una diferencia absoluta pequeña en el nivel de agregados respecto al contenido de oxígeno en el espacio vacío en condiciones de almacenamiento a 2-8 °C (datos de 6 meses) (no se muestran los datos).

El efecto de diferentes niveles de contenido de oxígeno en el espacio vacío comprendidos en el intervalo de un 6% y un 21% (es decir, sin purga) sobre los atributos de calidad de secukinumab (turbidez, pureza según SEC, pureza según RP-HPLC, pureza según CE-SDS (no reductora), grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz, partículas visibles, color) se evaluó adicionalmente durante un almacenamiento a 5 °C durante 12 meses, así como también en condiciones aceleradas (25 °C) durante 6 meses y en condiciones de estrés (40 °C) durante 3 meses. El estudio se llevó a cabo con una concentración de 150 mg/mL de secukinumab y en una composición con trealosa 200 mM, L-metionina 5 mM y un 0.02% de polisorbato 80 en un tampón de histidina de pH 5.8. Las muestras se introdujeron en PFS y se purgaron con mezclas certificadas de oxígeno para obtener el contenido de oxígeno en el espacio vacío objetivo.

Durante el tiempo de almacenamiento, no se observó ningún cambio en la turbidez; no se observó ningún efecto distintivo del contenido de oxígeno en el espacio vacío sobre las partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz, sobre el color ni sobre los grupos SH libres, y las diferencias entre las diferentes muestras de contenido de oxígeno en el espacio vacío se encontraron dentro de la dispersión del método. La concentración de metionina no cambió de forma significativa durante el almacenamiento a 5 °C o 25 °C y se observó que era de 4.9 mM (valor inicial de 4.9 – 5.0 mM) después de 12 meses a 5 °C, independientemente del contenido de oxígeno en el espacio vacío.

A diferencia de nuestras observaciones anteriores, las cuales mostraron un efecto relativamente importante del contenido de oxígeno en el espacio vacío sobre los productos de agregación según SEC, en este experimento se observaron únicamente cambios pequeños durante el almacenamiento de hasta 12 meses en la condición de almacenamiento deseada (5°C), incluso en la muestra de referencia no purgada. No se observaron diferencias relevantes en la pureza ni los agregados según SEC entre muestras con diferentes niveles de oxígeno en el espacio vacío para los diferentes puntos de estabilidad evaluados (hasta un máximo de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C y un máximo de 6 meses de almacenamiento a 25 °C) (**Figura 8**). Por el contrario, sí que detectamos un incremento en la pureza principal según RP-HPLC al incrementar el contenido de oxígeno en el espacio vacío. Esto se observó a 5 °C (después de un almacenamiento de 12 meses) (no se muestran los datos) y a 25 °C (después de 6 meses de almacenamiento) (**Figura 9**). No aparecieron picos nuevos.

1.1.2.2 <u>Envase principal – Viales:</u>

Las composiciones se introdujeron en viales de 2 mL y se almacenaron durante 12 meses en condiciones de refrigeración y hasta un máximo de 3 meses en condiciones aceleradas y de estrés. Las **Tablas 5-7** resumen el cambio en las especies previas al pico principal según RP-HPLC y en SEC-AP durante el almacenamiento a 5 °C, 25 °C y 40 °C con una concentración de secukinumab de 25 mg/mL, una concentración de trealosa de 225 mM y una concentración de polisorbato 80 de un 0.02% en tampón de histidina de pH 5.8 en presencia y ausencia de L-metionina 5 mM.

Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
	T0	6 M	12 M	T0	6 M	12 M
5%	-	-	4.5	-	-	0.81
10%	8.2	3.4	6.1	0.84	0.78	0.86
20%	-	4.2	7.1	-	0.79	0.91

Tabla 5: Resultados de RP-HPLC y SEC para 25 mg/ml de secukinumab líquido en un vial después de un almacenamiento de 6 y 12 meses a 5 °C. Composición: 25 mg/ml de secukinumab, trealosa 225 mM, L-metionina 5 mM y un 0.02% de PS80.

Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
		25 °C	40 °C		25 °C	40 °C
	T0	3M	3 M	T0	3 M	3 M
5%	-	17.9	40.6	-	1.10	1.80
10%	8.0	18.4	43.1	0.84	1.00	2.00
20%	-	20.6	46.2	-	0.93	2.50

Tabla 6: Resultados de RP-HPLC y SEC para 25 mg/ml de secukinumab líquido en un vial después de un almacenamiento de 3 meses a 25 °C y 40 °C. Composición: 25 mg/ml de

secukinumab, trealosa 225 mM, L-metionina 5 mM y un 0.02% de PS80.

Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
	T0	6 M	12 M	T0	6 M	12 M
5%	8.3	3.8	6.1	0.84	0.82	0.91

Tabla 7: Resultados de RP-HPLC y SEC para 25 mg/ml de secukinumab líquido en un vial después de un almacenamiento de 6 y 12 meses a 5 °C. Composición: 25 mg/ml de secukinumab, trealosa 225 mM, L-metionina 0 mM y un 0.02% de PS80.

Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
		25 °C	40 °C		25 °C	40 °C
	T0	3 M	3 M	T0	3 M	3 M
5%	-	20.9	44.6	-	1.10	2.60
10%	8.3	21.4	46.7	0.84	1.10	2.90
20%	-	25.5	50.9	-	1.30	3.50

Tabla 8: Resultados de RP-HPLC y SEC para 25 mg/ml de secukinumab líquido en un vial después de un almacenamiento de 3 meses a 25 °C y 40 °C. Composición: 25 mg/ml de secukinumab, trealosa 225 mM, L-metionina 0 mM y un 0.02% de PS80.

Se observa un efecto del contenido de oxígeno en el espacio vacío sobre la estabilidad en un vial de 25 mg/ml de secukinumab líquido mediante las especies previas al pico principal según RP-HPLC después de 12 meses a 5 °C (un

4.5% para un contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 5% frente a un 7.1% para un contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 20%, remítase a la **Tabla 5**), después de 3 meses a 25 °C (un 17.9% para un contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 5% frente a un 20.6% para un 20% de oxígeno, remítase a la **Tabla 6**) y después de 3 meses a 40 °C (un 40.6% para un contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 5% frente a un 46.2% para un contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 20%, remítase a la **Tabla 6**). Se puede deducir la misma tendencia para AP-SEC después de 3 meses a 40 °C (un 1.8% para un contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 5% frente a un 2.5% para un contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 20%, remítase a la **Tabla 6**). Además, la concentración de L-metionina ejerce un efecto adicional cuando se combina con un contenido de oxígeno en el espacio vacío menor. Por ejemplo, comparando las especies previas al pico principal según RP-HPLC en las composiciones que tenían unos datos de contenido de oxígeno en el espacio vacío de un 5% después de un almacenamiento de 12 meses a 5 °C, se detectó un 6.1% (**Tabla 7**) para la composición que no contenía L-metionina en comparación con un 4.5% (**Tabla 5**) para la composición con L-metionina 5 mM. Se observa la misma diferencia para las especies previas al pico principal según RP-HPLC después de 3 meses a 25 °C (un 5%-20% de oxígeno: un 20.9-25.5% en ausencia de L-metionina (**Tabla 8**) frente a un 17.9-25.5% en presencia de L-metionina 5 mM (**Tabla 6**)), y después de 3 meses a 40 °C (un 5%-20% de oxígeno: un 44.6-50.9% en ausencia de L-metionina (**Tabla 8**) frente a un 40.6-46.2% en presencia de L-metionina 5 mM (**Tabla 6**)).

Basándose en los experimentos anteriores, se considera que una purga de nitrógeno para reducir el contenido de oxígeno en el espacio vacío a menos de aproximadamente un 12% es beneficiosa a la hora de mejorar la estabilidad de la composición líquida tanto en PFS como en viales (según se determina mediante las especies previas al pico principal según RP-HPLC).

1.1.3 Ejemplo 3: Interacción de la concentración de L-metionina y el contenido de oxígeno en el espacio vacío

Un estudio adicional evaluó la interacción entre la concentración de L-metionina y el contenido de oxígeno en el espacio vacío. Se prepararon composiciones que tenían una concentración de L-metionina comprendida en el intervalo de 2.5 – 7.5 mM y un contenido de oxígeno en el espacio vacío comprendido entre un 3 y un 9%. Las composiciones se introdujeron en PFS y se almacenaron en condiciones de largo plazo y aceleradas durante 6 meses. Se monitorizaron atributos de calidad relevantes del secukinumab (pureza según SEC, pureza según RP-HPLC, pureza según CEX, grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles y visibles mediante el oscurecimiento de la luz, turbidez y color de la solución) después de un almacenamiento de 3 y 6 meses. La **Figura 10** muestra la pureza según AP-SEC después de un almacenamiento de 6 meses a 25 °C como una función del contenido de L-metionina y de oxígeno en el espacio vacío. No se observó ninguna interacción en el intervalo evaluado cuando se analizó utilizando la pureza según AP-SEC.

En otro estudio, se evaluó el efecto de una reducción en el contenido de oxígeno en el espacio vacío y la

concentración de L-metionina para una concentración de secukinumab de 150 mg/mL. Las composiciones comprendían manitol 270 mM, un 0.04% de polisorbato 80 y diferentes concentraciones de L-metionina comprendidas en el intervalo de un 0.15% a un 2%. Las composiciones se introdujeron en viales de vidrio de 2 mL, tanto purgados con nitrógeno como no purgados, y se almacenaron en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés durante un máximo de 6 meses.

La **Figura 11** representa las especies previas al pico principal según RP-HPLC después de un almacenamiento de hasta 36 meses en composiciones que contenían un 0.15% (10 mM), un 1% (67 mM) o un 2% (134 mM) de L-metionina y un espacio vacío de o bien nitrógeno o aire. Tal como se observó anteriormente, las especies previas al pico principal según RP-HPLC presentaron un nivel inferior en composiciones que contenían cantidades más elevadas de L-metionina. La misma composición mostró niveles inferiores de especies previas al pico principal según RP-HPLC cuando el espacio vacío se purgó con nitrógeno.

Basándose en los datos combinados de varios experimentos que utilizaron tanto viales como PFS como envase principal, un contenido de oxígeno en el espacio vacío inferior a aproximadamente un 12% combinado con una concentración de L-metionina de al menos aproximadamente 2.5 mM es ideal para composiciones líquidas de secukinumab.

1.1.4 Ejemplo 4: pH

El efecto del pH sobre la estabilidad de secukinumab se evaluó inicialmente con una concentración de 10 mg/ml en un tampón de fosfato de sodio/ácido cítrico 100 mM que contenía cloruro de sodio 90 mM en un intervalo de pH entre 4.0 y 7.5. Las muestras se almacenaron durante 3 semanas a

5 °C y 40 °C. En paralelo, se monitorizó la estabilidad de secukinumab después de cinco ciclos de congelación-descongelación desde una temperatura ≤ -60 °C hasta temperatura ambiente.

El pH óptimo para secukinumab varió dependiendo de la vía de degradación analizada. La agregación y la proteólisis, determinadas mediante la pureza según SEC, pureza según SDS-PAGE (reductora) y el peso molecular medio según LLS, fueron mínimas a un pH de 5.7 a 6.2, mientras que el pH óptimo para la pureza según CEX fue un pH de 5.3. El secukinumab activo contiene un residuo de cisteína libre en cada cadena ligera, por lo tanto, cabe esperar 2 Mol de grupos tiol / Mol de secukinumab. Debido a que un nivel reducido de grupos SH libres se correlaciona con la pérdida de actividad biológica en secukinumab, se cuantificaron los grupos SH libres utilizando un método basado en el reactivo de Ellman. Se observó un valor ligeramente inferior de 1.94 Mol/Mol únicamente a un pH de 4.3. La resistencia de congelación-descongelación de secukinumab monitorizada mediante la pureza según SEC y el peso molecular medio según LLS fue máxima a un pH de 5.3 a 5.7. Se seleccionó un pH de 5.8 para la formulación adicional de secukinumab.

Se realizaron estudios adicionales acerca del efecto del pH sobre la estabilidad de secukinumab en PFS utilizando una estrategia DoE. Se evaluó el efecto del pH en el intervalo de 5.2 – 5.8 para una concentración de secukinumab de 150 mg/mL. Las composiciones se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones de largo plazo (5 °C), aceleradas (25 °C) y de estrés (40 °C) y se evaluaron respecto a su estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y partículas subvisibles

mediante el oscurecimiento de la luz), estabilidad química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color) e indicadores de actividad biológica (actividad según Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó un estrés de congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y de agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones introducidas en viales de 2 mL. Se determinó que los valores de pH en el intervalo investigado ejercían un efecto significativo sobre la estabilidad de secukinumab (AP-SEC, DP-SEC, DLS, variantes básicas según CEX, pureza según RP-HPLC). Los resultados de estudios previos se confirmaron en cuanto a la elección de un pH de 5.8 como ideal (AP-SEC, DP-SEC y especies previas al pico principal según RP-HPLC) (**Figura 12**).

El efecto del pH se evaluó adicionalmente en composiciones que contenían secukinumab con una concentración de 150 mg/mL, trealosa 200 mM, L-metionina en un intervalo de 2.5 – 7.5 mM y un contenido de oxígeno en el espacio vacío comprendido entre un 3 y un 9%. El pH del tampón de histidina se modificó entre 5.4 y 6.2. Las composiciones se introdujeron en PFS y se almacenaron en condiciones de largo plazo y aceleradas durante 6 meses. Se monitorizaron atributos de calidad relevantes del secukinumab (pureza según SEC, pureza según RP-HPLC, pureza según CEX, grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez y color de la solución) después de un almacenamiento de 3 y 6 meses. La **Figura 13** representa el efecto del pH sobre los atributos de calidad del secukinumab después de un almacenamiento a 5 °C. Se observó un incremento en la turbidez, AP-SEC y variantes

ácidas según CEX, así como también una reducción en la pureza según SEC para valores de pH más elevados, lo que confirma adicionalmente las observaciones del cribado inicial.

Basándose en los datos combinados de varios experimentos, un intervalo de pH de aproximadamente 5.2 a aproximadamente 6.2 es ideal para las composiciones líquidas de secukinumab.

1.2 Parte 2 – Análisis detallado de los excipientes con una menor influencia sobre la estabilidad en estado líquido de secukinumab (estabilizante, surfactante y tampón)

1.2.1 Ejemplo 5: La elección de estabilizante influye poco sobre la estabilidad

El desarrollo de la composición inicial para la forma farmacéutica líquida se centró en la evaluación de diferentes estabilizantes respecto a la formación de agregados solubles e insolubles de secukinumab (AP-SEC, pureza según SDS-PAGE, técnicas de dispersión de la luz), estabilidad química (pureza según RP-HPLC, pureza según CEX, color) y actividad biológica (actividad según Cys-CEX, grupos SH libres, actividad biológica) durante el almacenamiento en condiciones de almacenamiento de largo plazo, así como también condiciones aceleradas y de estrés.

Los estabilizantes se dividieron en tres clases diferentes: el grupo I comprendía estabilizantes no iónicos (manitol, trealosa dihidratada) e iónicos (cloruro de sodio y clorhidrato de arginina). Todos los estabilizantes del grupo 1 proporcionaron un beneficio respecto a la ausencia de estabilizante. Sin embargo, se observó que los estabilizantes no iónicos (trealosa y manitol)

estabilizaban mejor la molécula, según se observó mediante unos niveles inferiores de agregados y una actividad más elevada según Cys-CEX.

Basándose en las conclusiones de los estudios iniciales de desarrollo de la composición, se llevaron a cabo estudios adicionales en PFS utilizando una estrategia DoE. Se evaluó el efecto del grupo I de estabilizantes (glicina, manitol, trealosa dihidratada, cloruro de sodio). Las composiciones se introdujeron en jeringas prerrellenadas y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés, y se evaluaron respecto a su estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz), estabilidad química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color) e indicadores de actividad biológica (actividad según Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó un estrés de congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y de agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones introducidas en viales de 2 mL. Respecto a la clase I de estabilizantes, se confirmaron las observaciones de cribados previos: 1) todos los estabilizantes del grupo 1 proporcionaron un beneficio en comparación con la ausencia de estabilizante; y 2) se determinó que los estabilizantes no iónicos eran mejores estabilizantes para la proteína secukinumab (**Figura 14**). Esto se manifestó de forma especialmente destacada en la pureza según SEC, pureza según RP-HPLC y polidispersidad según DLS. No se observó ningún efecto relevante al comparar diferentes estabilizantes no iónicos.

A continuación, identificamos la concentración ideal del estabilizante de clase I (trealosa dihidratada, 200-300 mM). Las muestras se introdujeron en PFS y se almacenaron durante un máximo de tres meses en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés. Se monitorizó la estabilidad física de secukinumab (AP-SEC, DLS, partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez) y química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color), así como también su actividad biológica. No se observaron diferencias relevantes en los atributos de calidad del secukinumab al variar las concentraciones de trealosa (**Figura 3**).

1.2.2 Ejemplo 6: La elección de surfactante influye poco sobre la estabilidad

El desarrollo de la composición inicial para la composición líquida de 150 mg/ml se centró en la evaluación de diferentes excipientes (p. ej., estabilizantes y surfactantes) respecto a la formación de agregados solubles e insolubles de secukinumab (AP-SEC, pureza según SDS-PAGE, técnicas de dispersión de la luz), estabilidad química (pureza según RP-HPLC, pureza según CEX, color) y actividad biológica (actividad según Cys-CEX, grupos SH libres, actividad biológica) durante el almacenamiento en condiciones de almacenamiento de largo plazo, así como también condiciones aceleradas y de estrés. Los excipientes se dividieron en tres clases diferentes: el grupo III comprendía los surfactantes polisorbato 20 y 80. No se observó ninguna diferencia entre el polisorbato 20 y el 80 para una concentración de un 0.04% en comparación con la ausencia de surfactante durante un almacenamiento quiescente.

Basándose en las conclusiones de los estudios iniciales de desarrollo de la composición, se llevaron a cabo estudios adicionales en PFS utilizando una estrategia DoE. Se evaluó el efecto del surfactante (polisorbato 20, polisorbato 80, poloxámero 188, ninguno). Las composiciones se introdujeron en PFS y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés, y se evaluaron respecto a su estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz), estabilidad química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color) e indicadores de actividad biológica (actividad según Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó un estrés de congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y de agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones introducidas en viales de 2 mL. La presencia de un surfactante resultó beneficiosa, según se observó mediante unos niveles menores de turbidez y de partículas visibles y subvisibles mediante recuentos de oscurecimiento de la luz. A pesar de ello, se observó únicamente un efecto débil del tipo de surfactante (**Figura 15**).

A continuación, identificamos la concentración ideal de surfactante del grupo III (polisorbato 80, 0.01-0.04% (p/v)). Las muestras se introdujeron en PFS y se almacenaron durante un máximo de tres meses en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés. Se monitorizó la estabilidad física de secukinumab (AP-SEC, DLS, partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez) y química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color), así como también su actividad

biológica. No se observó ningún efecto distintivo de las concentraciones de polisorbato 80 sobre los atributos de calidad del secukinumab durante un almacenamiento quiescente (**Figura 3**), así como después de 1 semana de agitación a 150 rpm. La polidispersidad según DLS y las partículas subvisibles según el oscurecimiento de la luz se vieron incrementadas ligeramente para concentraciones más elevadas de surfactante; por consiguiente, la concentración de polisorbato 80 se definió como un 0.02%, con el fin de mantener un margen de seguridad para la concentración más baja evaluada.

1.2.3 Ejemplo 5: La elección de tampón influye poco sobre la estabilidad

Se evaluó el efecto de las especies tamponantes (citrato, histidina, succinato, acetato) en PFS utilizando una estrategia DoE. Las composiciones se introdujeron en PFS y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones de largo plazo, aceleradas y de estrés, y se evaluaron respecto a su estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz), estabilidad química (pureza según CEX, pureza según RP-HPLC, color) e indicadores de actividad biológica (actividad según Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó un estrés de congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y de agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones introducidas en viales de 2 mL. No se observó ningún efecto relevante del tampón. La **Figura 16** muestra atributos de calidad seleccionados.

1.2.4 Ejemplo 6: La concentración del anticuerpo en el intervalo evaluado influye poco sobre la estabilidad

Se evaluó el efecto de la concentración de secukinumab sobre los atributos de calidad de la composición líquida en un intervalo de 124.5 – 175.5 mg/mL. Las composiciones también contenían trealosa 200 mM, L-metionina 5 mM y un 0.02% de polisorbato 80 en un tampón de histidina de pH 5.8. Las composiciones se introdujeron en PFS y se almacenaron en condiciones de largo plazo y aceleradas durante 6 meses. Se monitorizaron atributos de calidad relevantes del secukinumab (pureza según SEC, pureza según RP-HPLC, pureza según CEX, grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez y color de la solución) después de un almacenamiento de 3 y 6 meses. No se observó ningún efecto relevante de la concentración de secukinumab sobre los atributos de calidad de la composición líquida dentro del intervalo de 25 mg/ml a 150 mg/ml (no se muestran los datos).

1.3 Parte 3 – propiedades de una composición de mercado final preferida

Un producto farmacéutico preferido de secukinumab comprende una composición líquida de 150 mg/ml de secukinumab en un tampón de histidina 20 mM, de pH 5.8, trealosa 200 mM, un 0.02% de polisorbato 80 y L-metionina 5 mM, que se proporciona en una PFS. En el rellenado y acabado inicial, el espacio vacío en la PFS tiene un contenido de oxígeno inferior a un 12%. Estos productos farmacéuticos tienen un periodo de validez y una estabilidad global excelentes.

Se llevó a cabo una evaluación de la estabilidad de varios lotes del producto farmacológico de secukinumab (150 mg/ml de secukinumab, trealosa dihidratada 200 mM, L-histidina/clorhidrato de L-histidina monohidratado 20 mM, L-metionina 5 mM, un 0.02% de polisorbato 80 (% p/v), pH 5.8) en PFS. Los resultados de la evaluación en condiciones de almacenamiento a largo plazo (2-8 °C) durante un máximo de 24 meses de almacenamiento, en condiciones de almacenamiento acelerado (25 °C) durante un máximo de 6 meses de almacenamiento y en condiciones de estrés térmico (30 °C) durante un máximo de 6 meses de almacenamiento se muestran en las **Tablas 9-11** a continuación. Basándose en los datos presentados sobre la estabilidad, los datos en tiempo real de hasta 24 meses para 150 mg de secukinumab / 1 ml de líquido en una jeringa prerrellenada (PFS) y los datos de estabilidad de hasta 36 meses generados durante el desarrollo (jeringa a granel), se propone un periodo de validez de 24 meses para 150 mg de secukinumab / 1 ml de líquido en un producto comercial de tipo PFS cuando se almacena en condiciones de largo plazo de 5 °C ± 3 °C, protegido de la luz y evitando que se congele.

Tabla 9 Pureza según SEC, CEX y RP-HPLC. *Este valor más elevado se relaciona con la aparición de un pico pequeño justo antes del pico principal. Debido a que este pico nuevo se integra por separado respecto al pico principal, la suma de variantes antes del pico principal se vuelve más elevada.

	Pureza según SEC	**Pureza según CEX**	**Pureza según RP-HPLC**

		Pureza/ Monómero [%]	AP-SEC [%]	DP-SEC [%]	Variante principal [%]	Suma de variantes básicas [%]	Suma de variantes ácidas [%]	Variante principal [%]	Suma de especies previas al pico principal [%]
Condiciones de almacenamiento									
	Análisis inicial	99.1	0.90	<0.10	78.2	11.3	10.5	88.7	2.2
- 20 °C	1.5 meses	99.0	0.92	<0.10	77.5	11.8	10.6	89.4	1.8
5 °C ± 3 °C	1.5 meses	99.0	0.96	<0.10	77.2	12.0	10.7	89.4	1.9
	3 meses	98.7	1.0	0.20	77.5	12.1	10.3	88.7	1.9
	6 meses	98.8	1.1	<0.10	77.5	11.5	10.9	86.5	4.1*
	9 meses	98.7	1.2	0.10	76.7	12.4	10.8	88.2	2.1
	12 meses	98.5	1.3	0.16	76.4	12.6	10.9	88.6	3.0
	18 meses	98.2	1.3	0.43	73.8	14.7	11.5	84.8	6.8*
	24 meses	97.9	1.4	0.56	76.5	11.5	11.9	87.3	4.3
25 °C / 60% de HR	1.5 meses	98.6	1.2	0.14	72.3	14.6	12.7	87.9	3.8
	3 meses	97.5	1.6	0.83	68.6	15.9	15.4	81.1	9.9
	6 meses	96.2	2.0	1.7	62.8	16.2	21.0	76.1	15.3
30 °C / 75% de	1.5 meses	97.6	1.5	0.90	67.9	16.4	15.5	86.7	5.1

	Pureza según SEC			**Pureza según CEX**			**Pureza según RP-HPLC**	
	Pureza/ Monómero [%]	**AP-SEC [%]**	**DP-SEC [%]**	**Variante principal [%]**	**Suma de variantes básicas [%]**	**Suma de variantes ácidas [%]**	**Variante principal [%]**	**Suma de especies previas al pico principal [%]**
Condiciones de almacenamiento								
HR								
3 meses	96.5	2.0	1.4	60.9	17.2	21.8	77.1	14.0
6 meses	94.1	3.0	2.8	50.6	17.4	31.9	60.3	22.0

Tabla 10 Pureza según CE-SDS (no reductora) e impurezas según SDS-PAGE (reductora).

Condiciones de almacenamiento		**Pureza según CE-SDS (no reductora)**	**Impurezas según SDS-PAGE (reductora)**
		Pureza/Monómero [%]	**Suma de impurezas [%]**
	Análisis inicial	97.5	0.60
- 20 °C	1.5 meses	97.3	0.92
5 °C ± 3 °C	1.5 meses	97.2	0.91
	3 meses	97.4	0.63

Condiciones de almacenamiento	**Pureza según CE-SDS (no reductora)**	**Impurezas según SDS-PAGE (reductora)**
	Pureza/Monómero [%]	**Suma de impurezas [%]**
6 meses	97.4	0.57
9 meses	97.5	0.66
12 meses	97.4	0.58
18 meses	97.1	0.63
24 meses	97.2	0.61
25 °C / 60% de HR 1.5 meses	97.1	1.3
3 meses	96.7	0.86
6 meses	95.3	1.1
30 °C / 75% de HR 1.5 meses	96.8	1.1
3 meses	95.6	1.3
6 meses	94.0	1.9

Tabla 11 Potencia y cantidad. *Las muestras se evaluaron > 30 días después de la fecha de caducidad, esta desviación no tuvo ningún efecto sobre los resultados del ensayo de potencia.

Condiciones de almacenamiento	**Inhibición de IL-16 de condrocitos C-20/A4 [%]**	**Ensayos de la proteína según la absorción UV**
	Potencia [%]	**Cantidad [mg/mL]**
Análisis inicial	107	147.9
- 20 °C 1.5	107	149.6

Condiciones de almacenamiento		**Inhibición de IL-16 de condrocitos C-20/A4 [%]**	**Ensayos de la proteína según la absorción UV**
		Potencia [%]	**Cantidad [mg/mL]**
	meses		
5 °C ± 3 °C	1.5 meses	92	149.4
	3 meses	92*	149.5
	6 meses	102*	149.6
	9 meses	103	149.5
	12 meses	90*	149.0
	18 meses	88	147.9
	24 meses	98	149.4
25 °C / 60% de HR	1.5 meses	100	149.4
	3 meses	107*	149.7
	6 meses	94*	149.6
30 °C / 75% de HR	1.5 meses	90	149.1
	3 meses	119*	149.3
	6 meses	85*	149.4

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.