

FORMULACIÓN FARMACÉUTICA LÍQUIDA ESTABLE

Campo de la invención

La presente invención se refiere a una formulación farmacéutica líquida estable.

Descripción de la Técnica Relacionada

El factor α de necrosis tumoral (TNF- α) es una proteína de señalización celular (citoquina) que está implicada en la inflamación sistémica y es una citoquina que media respuestas de fase aguda. El TNF- α está relacionado con diversas enfermedades y trastornos, incluyendo septicemia, infección, enfermedades autoinmunes, y rechazo a injerto. El TNF- α estimula las respuestas inmunológicas y causa muchos problemas clínicos asociados con anomalías autoinmunes tales como artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn en adultos, enfermedad de Crohn pediátrica, psoriasis, artritis psoriásica y similares. Las anomalías de ese tipo se pueden tratar usando inhibidores de TNF- α .

El Infliximab es un tipo de anticuerpo monoclonal quimérico que puede funcionar como un inhibidor de TNF- α . Las formulaciones convencionales que contienen este anticuerpo se preparan como polvos liofilizados, que se reconstituyen, se diluyen, y se inyectan por vía intravenosa usando un régimen de dosificación determinado de acuerdo con cada enfermedad.

Por ejemplo, la etiqueta de Remicade desvela una formulación liofilizada que contiene infliximab, sacarosa, polisorbato 80 y fosfato sódico. Para inyección intravenosa, este desvela una etapa de reconstitución de adición de agua inyectable a la formulación liofilizada, y una etapa de dilución

de la formulación reconstituida con solución salina inyectable que contiene cloruro sódico.

Sin embargo, el modo de administración de la formulación convencional como se ha descrito anteriormente (lío-filización → reconstitución → dilución → administración intravenosa) tiene problemas porque es de coste elevado, es complicado, y produce incomodidades en el paciente debido a administración, rechazo, y efectos secundarios frecuentes, y porque una persona que administra la formulación se limita a una persona con entrenamiento médico.

El Adalimumab también es un tipo de anticuerpo monoclonal humano que puede funcionar como un inhibidor de TNF- α . Una formulación líquida que contiene adalimumab se desvela, por ejemplo, en la etiqueta de Humira. Además, la Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2014-0134689 desvela una formulación líquida que contiene adalimumab, fosfato sódico, citrato sódico, ácido cítrico, manitol, cloruro sódico, y polisorbato 80 (Ejemplo 1), y una formulación líquida mejorada que contiene adalimumab, fosfato sódico, citrato sódico, ácido cítrico, manitol, arginina, cloruro sódico, y polisorbato 80 (Ejemplo 2).

Sin embargo, en el caso de las formulaciones farmacéuticas líquidas que se han descrito anteriormente que contienen NaCl o KCl como un agente isotónico, pueden surgir problemas tales como precipitación y gelatinización, y cuando la concentración del anticuerpo es tan baja como aproximadamente 50 mg/ml, la frecuencia de administración y el ciclo de administración se pueden limitar.

Por consiguiente, existe una necesidad de una formulación

farmacéutica líquida estable que pueda superar los problemas de las formulaciones farmacéuticas líquidas convencionales que se han descrito anteriormente que contenga un anticuerpo, en particular infliximab, como un inhibidor de TNF- α .

DIVULGACIÓN

Problema Técnico

Un objeto de la presente invención es proporcionar una formulación farmacéutica líquida estable que tenga baja viscosidad a la vez que contiene un alto contenido de un anticuerpo.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una formulación farmacéutica líquida que tiene una estabilidad durante el almacenamiento a largo plazo excelente basándose en la estabilidad excelente en condiciones aceleradas y condiciones severas.

Además otro objeto de la presente invención es proporcionar una formulación farmacéutica líquida estable that se puede administrar por vía subcutánea.

Solución Técnica

Una formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con una realización de la presente invención contiene: (A) un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno; (B) un tensioactivo; (C) un azúcar o su derivado; y (D) un tampón.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo (A) puede comprender un anticuerpo que se une a TNF- α .

En una realización de la presente invención, el anticuerpo (A) puede comprender infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab, o una

mezcla de los mismos.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo (A) puede comprender un anticuerpo monoclonal de IgG de ser humano-ratón quimérico.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno (A) puede comprender: una región variable de cadena ligera que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno (A) puede comprender: una región variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; y una región variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo (A) puede comprender: una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; y una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno (A) puede estar contenido a una concentración de 10 a 200 mg/ml.

En una realización de la presente invención, el tensioactivo (B) puede comprender polisorbato, poloxámero, o una mezcla de los mismos.

En una realización de la presente invención, el tensioactivo (B) puede comprender polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, o una mezcla de dos o más de los mismos.

En una realización de la presente invención, el tensioactivo (B) puede comprender polisorbato 80.

En una realización de la presente invención, el tensioactivo (B) puede estar contenido a una concentración de un 0,02 a un 0,1 % (p/v).

En una realización de la presente invención, el azúcar (C) puede comprender un monosacárido, un disacárido, un oligosacárido, un polisacárido, o una mezcla de dos o más de los mismos, y el derivado de azúcar (C) puede comprender alcohol de azúcar, ácido de azúcar, o una mezcla de los mismos.

En una realización de la presente invención, el azúcar o su derivado (C) pueden comprender sorbitol, manitol, trehalosa, sacarosa, o una mezcla de dos o más de los mismos.

En una realización de la presente invención, el azúcar o su derivado (C) puede estar contenido a una concentración de un 1 a un 10 % (p/v).

En una realización de la presente invención, el tampón (D) puede comprender acetato o histidina.

En una realización de la presente invención, el tampón (D) puede tener una concentración de 1 a 50 mM.

En una realización de la presente invención, la formulación puede tener un pH de 4,0 a 5,5.

En una realización de la presente invención, la formulación puede estar

libre de ácido aspártico, lisina, arginina, o mezclas de los mismos.

En una realización de la presente invención, la formulación puede estar libre de NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na₂SO₄, NaSCN, K₂SO₄, o mezclas de los mismos.

En una realización de la presente invención, la formulación puede estar libre de un agente quelante.

En una realización de la presente invención, la formulación puede tener una viscosidad de 0,5 cp a 10 cp tal como se mide después de 1 mes de almacenamiento a 40 °C ± 2 °C, o una viscosidad de 0,5 cp a 5 cp tal como se mide después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C ± 3 °C.

Una formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con una realización de la presente invención puede contener: (A) un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, que comprende una región variable de cadena ligera que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; (B) un tensioactivo; (C) un azúcar o su derivado; y (D) un tampón que comprende acetato o histidina.

Una formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con una realización de la presente invención puede contener: (A) de 90 a 145 mg/ml de

un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, que comprende una región variable de cadena ligera que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; (B) de un 0,02 a un 0,1 % (p/v) de un tensioactivo; (C) de un 1 a un 10 % (p/v) de un azúcar o su derivado; y (D) de 1 a 50 mM de un tampón que comprende acetato o histidina.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede ser para administración subcutánea.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede no someterse a una etapa de reconstitución, una etapa de dilución, o ambas, antes de su uso.

Una jeringa precargada de acuerdo con una realización de la presente invención se carga con la formulación farmacéutica líquida estable.

Un auto-inyector de acuerdo con una realización de la presente invención incluye la jeringa precargada en el mismo.

Efectos de Ventajas

La formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención tiene baja viscosidad a la vez que contiene un alto contenido de un anticuerpo, tiene una estabilidad durante el almacenamiento a largo plazo

excelente basándose en la estabilidad excelente en condiciones aceleradas y condiciones severas, y se puede administrar por vía subcutánea.

DESCRIPCIÓN DE realizaciones específicas

Formulación Farmacéutica Líquida Estable

Una formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención contiene: (A) un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno; (B) un tensioactivo; (C) un azúcar o su derivado; y (D) un tampón.

Como se usa en el presente documento, la expresión “libre de” se refiere a que la formulación está completamente libre del componente correspondiente. Además, la expresión se refiere a que la formulación está esencialmente libre del componente correspondiente, es decir, contiene el componente correspondiente en una cantidad que no influye en la actividad del anticuerpo y en la estabilidad y viscosidad de la formulación farmacéutica líquida. Por ejemplo, la expresión se refiere a que la formulación contiene el componente correspondiente en una cantidad de un 0 a un 1 % (p/v), de 0 a 1 ppm (p/v), o de 0 a 1 ppb (p/v), basándose en el peso total de la formulación farmacéutica líquida.

(A) Anticuerpo o Su Fragmento de Unión a Antígeno

El término “anticuerpo” se refiere a moléculas de inmunoglobulina que consisten en cuatro cadenas de polipéptido, dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras interconectadas mediante enlaces disulfuro. Otros anticuerpos de origen natural que tienen una estructura alterada, por ejemplo, anticuerpos camélidos, también se incluyen en la presente definición. Cada cadena pesada está formada por una región variable de cadena pesada y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada está formada por

tres dominios (CH1, CH2 y CH3). Cada cadena ligera está formada por una región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera está formada por un dominio (CL). La región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera se pueden subdividir adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), entremezcladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas (FR). Cada una de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera está formada por tres CDR y por cuatro FR, que se colocan desde el extremo amino-terminal al extremo carboxi-terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica puede contener, como el anticuerpo, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo de una sola cadena, un anticuerpo híbrido, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, o un fragmento de los mismos. El término “anticuerpo quimérico” se refiere a un anticuerpo que comprende secuencias de región variable de cadena pesada y cadena ligera de una especie y secuencias de región constante de otra especie. En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica puede contener, como el anticuerpo, un anticuerpo monoclonal de IgG de ser humano-ratón quimérico. El anticuerpo monoclonal de IgG de ser humano-ratón quimérico está formado por regiones variables de cadena pesada y de cadena ligera de ratón y regiones constantes de cadena pesada y de cadena ligera de ser humano unidas al mismo. El anticuerpo monoclonal de IgG de ser humano-ratón quimérico se puede producir de

acuerdo con un método conocido en la técnica. Por ejemplo, el infliximab se puede producir de acuerdo con un método que se describe en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 6.284.471.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica puede contener, como el anticuerpo, un anticuerpo que se une a TNF- α o al epítipo de TNF- α . El anticuerpo que se une a TNF- α o al epítipo de TNF- α puede comprender infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab, o una mezcla de los mismos. En una realización de la presente invención, el anticuerpo puede comprender infliximab.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno (A) puede comprender: una región variable de cadena ligera que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno (A) puede comprender: una región variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; y una región variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.

En una realización de la presente invención, el anticuerpo o su

fragmento de unión a antígeno (A) puede comprender: una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; y una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

La concentración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se puede controlar libremente dentro de un intervalo que no influya de forma esencialmente adversa en la estabilidad y la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención. En una realización de la presente invención, la concentración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede ser de 10 a 200 mg/ml. En otra realización de la presente invención, la concentración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede ser de 50 a 200 mg/ml. Además en otra realización de la presente invención, la concentración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede ser de 80 a 150 mg/ml. Además en otra realización de la presente invención, la concentración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede ser de 90 a 145 mg/ml. En otra realización de la presente invención, la concentración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede ser de 110 a 130 mg/ml. Si la concentración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno está dentro del intervalo que se ha descrito anteriormente, el contenido elevado del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno hace posible un aumento del grado de libertad de la dosis y del ciclo de administración, y la formulación farmacéutica puede presentar una estabilidad excelente a largo plazo y baja viscosidad.

(B) Tensioactivo

Los ejemplos del tensioactivo incluyen, pero no se limitan a, éster de

ácido graso de sorbitán polioxietilenado (por ejemplo, polisorbato), polioxietilen alquil éter (por ejemplo, Brij), alquilfenil polioxietilen éter (por ejemplo, Triton-X), copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (por ejemplo, Poloxámero, Pluronic), dodecil sulfato sódico (SDS), y similares.

En una realización de la presente invención, el tensioactivo puede comprender éster de ácido graso de sorbitán polioxietilenado (polisorbato). El polisorbato puede comprender polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, o una mezcla de dos o más de los mismos. En una realización de la presente invención, el polisorbato puede comprender polisorbato 20, polisorbato 80, o una mezcla de los mismos. En otra realización de la presente invención, el polisorbato puede comprender polisorbato 80.

En una realización de la presente invención, la concentración del tensioactivo se puede controlar libremente dentro de un intervalo que no influya de forma esencialmente adversa en la estabilidad y la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, la concentración del tensioactivo puede ser de un 0,001 a un 5 % (p/v), de un 0,01 a un 1 % (p/v), o de un 0,02 a un 0,1 % (p/v). Si la concentración del tensioactivo está dentro del intervalo que se ha descrito anteriormente, la composición farmacéutica puede presentar una estabilidad excelente a largo plazo y baja viscosidad.

(C) Azúcar o Su Derivado

El azúcar puede comprender un monosacárido, un disacárido, un oligosacárido, un polisacárido, o una mezcla de dos o más de los mismos. Los ejemplos del monosacárido incluyen, pero no se limitan a, glucosa, fructosa, galactosa, y similares. Los ejemplos del disacárido incluyen, pero no se limitan

a, sacarosa, lactosa, maltosa, trehalosa, y similares. Los ejemplos del oligosacárido incluyen, pero no se limitan a, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, mananoligosacáridos, y similares. Los ejemplos del polisacárido incluyen, pero no se limitan a, almidón, glucógeno, celulosa, quitina, pectina, y similares.

El derivado de azúcar puede comprender alcohol de azúcar, ácido de azúcar, o una mezcla de los mismos. Los ejemplos del alcohol de azúcar incluyen, pero no se limitan a, glicerol, eritritol, treitol, arabitol, xilitol, ribitol, manitol, sorbitol, galactitol, fucitol, iditol, inositol, volemitol, isomalt, maltitol, lactitol, maltotriitol, maltotetraitol, poliglicitol, y similares. Los ejemplos del ácido de azúcar incluyen, pero no se limitan a, ácido aldónico (ácido glicérico, etc.), ácido ulosónico (ácido neuramínico, etc.), ácido urónico (ácido glucurónico, etc.), ácido aldárico (ácido tartárico, etc.), y similares.

En una realización de la presente invención, el azúcar o su derivado (C) pueden comprender sorbitol, manitol, trehalosa, sacarosa, o una mezcla de dos o más de los mismos.

En una realización de la presente invención, la concentración del azúcar o su derivado se puede controlar libremente dentro de un intervalo que no influya de forma esencialmente adversa en la estabilidad y la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, la concentración del azúcar o su derivado puede ser de de un 0,1 a un 30 % (p/v), de un 1 a un 20 % (p/v), o de un 1 a un 10 % (p/v). Si la concentración del azúcar o su derivado puede estar dentro de este intervalo, la composición farmacéutica puede presentar una estabilidad excelente a largo plazo y baja viscosidad.

(D) Tampón

El tampón que se usa en la presente invención es una sustancia neutralizante que minimiza el cambio del pH causado por ácido o álcali. Los ejemplos del tampón incluyen fosfato, acetato, succinato, gluconato, glutamato, citrato, histidina, y similares. En una realización de la presente invención, el tampón puede comprender acetato o histidina. Si el tampón comprende tanto acetato como histidina, la estabilidad de la formulación farmacéutica se puede reducir.

En una realización de la presente invención, el tampón puede comprender acetato. Los ejemplos del acetato incluyen, pero no se limitan a, acetato sódico, acetato de cinc, acetato de aluminio, acetato amónico, acetato potásico, y similares. Para ajuste del pH, el tampón puede comprender adicionalmente un ácido, por ejemplo, ácido acético. Cuando el tampón comprende acetato, puede ser lo más precedente en términos de ajuste del pH y estabilidad.

En una realización de la presente invención, el tampón puede comprender histidina. Cuando el tampón comprende histidina, puede comprender una sal de histidina, por ejemplo, cloruro de histidina, acetato de histidina, fosfato de histidina, sulfato de histidina, o similares. Para ajuste del pH, el tampón puede comprender un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, o similares.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de citrato, fosfato, o una mezcla de los mismos.

En una realización de la presente invención, la concentración del

tampón (o el anión del el tampón) se puede controlar libremente dentro de un intervalo que no influya de forma esencialmente adversa en la estabilidad y la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, la concentración del tampón o su anión puede ser de 1 a 50 mM, de 5 a 30 mM, o de 10 a 25 mM. Si la concentración del tampón o su anión está dentro de este intervalo, la composición farmacéutica puede presentar una estabilidad excelente a largo plazo y baja viscosidad.

(E) pH

En una realización de la presente invención, el pH de la composición farmacéutica líquida estable puede ser de 4,0 a 5,5, o de 4,7 a 5,3. Si el pH está dentro de este intervalo, la composición farmacéutica puede presentar una estabilidad excelente a largo plazo y baja viscosidad. El pH de la formulación farmacéutica se puede ajustar usando el tampón. En otras palabras, si la formulación farmacéutica contiene un cierto contenido del tampón, ésta puede presentar el pH en el intervalo que se ha descrito anteriormente sin tener que usar un agente de ajuste del pH separado. Si se usa citrato, fosfato o una mezcla de los mismos como tampón, puede ser de difícil mostrar el pH en el intervalo que se ha descrito anteriormente. Si la formulación farmacéutica contiene adicionalmente un ácido (por ejemplo, ácido clorhídrico) o una base (por ejemplo, hidróxido sódico) como un agente de ajuste del pH separado, la estabilidad del anticuerpo se puede reducir.

(F) Otros Componentes

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de ácido aspártico, lisina, arginina, o mezclas de los mismos. Si la formulación farmacéutica líquida

estable contiene estos aminoácidos, se puede llegar a hacer sólida. En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede contener uno o más aminoácidos, excluyendo los tres aminoácidos que se han descrito anteriormente. En este caso, la formulación farmacéutica líquida estable puede contener el uno o más aminoácidos en una cantidad de un 5 % (p/v) o menos, por ejemplo, de un 0,001 a un 5 % (p/v), de un 0,001 a un 1 % (p/v), de un 0,01 a un 5 % (p/v), de un 0,01 a un 1 % (p/v), de un 0,1 a un 5 % (p/v), o de un 0,1 a un 1 % (p/v).

En otra realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede contener taurina. En este caso, la taurina puede estar contenida en una cantidad de un 5 % (p/v) o inferior, por ejemplo, de un 0,001 a un 5 % (p/v), de un 0,001 a un 1 % (p/v), de un 0,01 a un 5 % (p/v), de un 0,01 a un 1 % (p/v), de un 0,1 a un 5 % (p/v), o de un 0,1 a un 1 % (p/v).

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na₂SO₄, NaSCN, K₂SO₄ o similar como una sal metálica. Si la formulación farmacéutica líquida estable contiene estas sales metálicas, en la formulación se puede producir precipitación, y la formulación se puede gelatinizar y puede tener una estabilidad escasa.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de un agente quelante (por ejemplo, EDTA). Si la formulación farmacéutica contiene un agente quelante, la tasa de oxidación de la misma puede aumentar.

En una realización de la presente invención, la formulación

farmacéutica líquida estable puede estar libre de conservantes. Los ejemplos del conservante incluyen cloruro de octadecil dimetilbencil amonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, fenol, alcohol butílico, alcohol bencílico, alquil parabeno, catecol, resorcinol, ciclohexanol, 3-pentanol, m-cresol, y similares. Si la formulación farmacéutica contiene el conservante, el conservante puede no ayudar a mejorar la estabilidad de la formulación farmacéutica.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable de la presente invención puede contener adicionalmente un aditivo conocido en la técnica, que no influye de forma esencialmente adversa en la actividad del anticuerpo y en la estabilidad y baja viscosidad de la formulación. Por ejemplo, la formulación farmacéutica puede contener adicionalmente un vehículo acuoso, un antioxidante, o una mezcla de dos o más de los mismos. El vehículo acuoso es un vehículo que es farmacéuticamente aceptable (seguro y no tóxico cuando se administra a seres humanos) y es útil para la preparación de formulaciones farmacéuticas líquidas. Los ejemplos del vehículo acuoso incluyen, pero no se limitan a, agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina estéril, solución de Ringer, dextrosa, y similares. Los ejemplos del antioxidante incluyen, pero no se limitan a, ácido ascórbico y similares.

(G) Formulación Farmacéutica Líquida "Estable"

El término "estable" en la formulación farmacéutica líquida "estable" de la presente invención se refiere a que el anticuerpo de acuerdo con la presente invención retiene esencialmente su estabilidad física y/o estabilidad química y/o actividad biológica durante la producción y/o después de su almacenamiento.

En la técnica están disponibles diversas técnicas analíticas para medir la estabilidad de la proteína.

La estabilidad física se puede evaluar con métodos conocidos en la técnica, que incluyen la medición de una atenuación de la luz aparente de la muestra (absorbancia, o densidad óptica). Una medición de la atenuación de la luz de ese tipo está relacionada con la turbidez de una formulación. Además, para estabilidad física, los contenidos de los componentes de alto peso molecular, los contenidos de los componentes de bajo peso molecular, las cantidades de proteínas intactas, el número de partículas sub-visibles, y similares, se pueden medir.

La estabilidad química se puede evaluar, por ejemplo, detectando y cuantificando por vía química las formas alteradas del anticuerpo. La estabilidad química incluye alteración de la carga (por ejemplo, que se produce como resultado de desamidación u oxidación) que se puede evaluar, por ejemplo, mediante cromatografía de intercambio iónico. Para estabilidad clínica, se pueden medir las variantes de carga (picos ácidos o básicos).

La actividad biológica se puede evaluar con métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la afinidad de unión a antígeno se puede medir con ELISA.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida puede ser estable durante un largo periodo de tiempo.

En una realización de la presente invención, la expresión formulación farmacéutica líquida “estable” se refiere a una formulación farmacéutica líquida que satisface uno más de los siguientes criterios.

Turbidez

- una formulación farmacéutica líquida que tiene una absorbancia A_{600} de 0 a 0,0300, o de 0 a 0,0700, tal como se mide mediante un espectrofotómetro después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;

- una formulación farmacéutica líquida que tiene una absorbancia A_{600} de 0 a 0,0300, o de 0 a 0,0700, tal como se mide mediante un espectrofotómetro después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de un $75 \pm 5\%$ en una condición cerrada;

Contenido de Componente Principal (pico principal)

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de un contenido de componente principal después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ desde un 98 % a un 100 % tal como se mide con SE-HPLC;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de un contenido de componente principal después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de un $75 \pm 5\%$ en una condición cerrada es de un 98 % a un 100 % tal como se mide con SE-HPLC;

Contenido de Componentes de Alto Peso Molecular (un pico cuyo tiempo de retención es anterior al del pico principal (IgG intacta))

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de componentes de alto peso molecular después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ es de un 0 a un 1,00 % tal como se mide con SE-HPLC;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de componentes de alto peso molecular después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ en una condición cerrada es de un 0 a un 1,00 % tal como se mide con SE-HPLC;

Contenido de Componentes de Bajo Peso Molecular (un pico cuyo tiempo de retención es posterior al del pico principal (IgG intacta))

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de componentes de bajo peso molecular después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ es de un 0 a un 0,40 % tal como se mide con SE-HPLC;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de componentes de bajo peso molecular después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ en una condición cerrada es de un 0 a un 0,40 % tal como se mide con SE-HPLC;

Contenido de Inmunoglobulina G Intacta

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de inmunoglobulina G intacta (% de IgG intacta) después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ es de un 94,0 % a un 100 % tal como se mide con CE-SDS no reducida;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de inmunoglobulina G intacta (% de IgG intacta) después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ en una condición cerrada es de un 94,0 % a un 100 % tal como se mide con CE-SDS no reducida;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de inmunoglobulina G intacta (% de IgG intacta) después de 4 semanas de

almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ es de un 94,0 % a un 100 % tal como se mide con CE-SDS no reducida;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de inmunoglobulina G intacta (% de IgG intacta) después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de un $75 \pm 5\%$ en una condición cerrada es de un 94,0 % a un 100 % tal como se mide con CE-SDS no reducida;

Contenido de Cadena Pesada y Cadena Ligera Intactas

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (% de HC + LC intactas) después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ es de un 99,0 % a un 100 % tal como se mide con CE-SDS reducida;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (% de HC + LC intactas) después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una condición cerrada es de un 99,0 % a un 100 % tal como se mide con CE-SDS reducida;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (% de HC + LC intactas) después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ es de un 98,0 % a un 100 % tal como se mide con CE-SDS reducida;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (% de HC + LC intactas) después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de un $75 \pm 5\%$ en una condición cerrada es de un 98,0 % a

un 100 % tal como se mide con CE-SDS reducida;

Número de partículas sub-visibles

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 400,00 \mu\text{m}$) después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ es de 0 a 1.000 tal como se mide con HIAC;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 400,00 \mu\text{m}$) después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ en una condición cerrada es de 0 a 1.000 tal como se mide con HIAC;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ es de 0 a 30.000 tal como se mide con MFI;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de un $75 \pm 5 \%$ en una condición cerrada es 0 a 30.000 tal como se mide con MFI;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ es de 0 a 200 tal como se mide con MFI;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de

un 75 ± 5 % en una condición cerrada es 0 a 200 tal como se mide con MFI;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 6 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ es de 0 a 500 tal como se mide con MFI;

- una formulación farmacéutica líquida en la que el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 6 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de un 75 ± 5 % en una condición cerrada es 0 a 500 tal como se mide con MFI;

Tasa de Oxidación

- una formulación farmacéutica líquida en la que la tasa de oxidación de Met 255 de cadena pesada después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ es de un 0 % a un 2,5 % tal como se mide con LC-MS;

- una formulación farmacéutica líquida en la que la tasa de oxidación de Met 255 de cadena pesada después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de un 75 ± 5 % en una condición cerrada es de un 0 % a un 2,5 % tal como se mide con LC-MS;

Variantes de Carga

- una formulación farmacéutica líquida que muestra un pico ácido de un 20 % a un 35 % tal como se mide con IEC-HPLC después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$;

- una formulación farmacéutica líquida que muestra un pico ácido de un 20 % a un 35 % tal como se mide con IEC-HPLC después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de

un 75 ± 5 % en una condición cerrada;

- una formulación farmacéutica líquida que muestra un pico básico de un 33 % a un 40 % tal como se mide con IEC-HPLC después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;

- una formulación farmacéutica líquida que muestra un pico básico de un 33 % a un 40 % tal como se mide con IEC-HPLC después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de un 75 ± 5 % en una condición cerrada;

Afinidad de Unión a TNF- α

- una formulación farmacéutica líquida que tiene una afinidad de unión a TNF- α de un 80 % a un 120 % tal como se mide con ELISA después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$; y

- una formulación farmacéutica líquida que tiene una afinidad de unión a TNF- α de un 80 % a un 120 % tal como se mide con ELISA después de 12 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una condición cerrada.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica puede tener una viscosidad de 0,5 cp a 10,0 cp tal como se mide después de 1 mes de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. En otra realización de la presente invención, la formulación farmacéutica puede tener una viscosidad de 0,5 cp a 5,0 cp tal como se mide después de 6 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Método para la Preparación de Formulación Farmacéutica Líquida Estable

La formulación farmacéutica líquida estable de la presente invención

se puede preparar usando cualquier método conocido que no se limite a un método en particular. Por ejemplo, la formulación farmacéutica líquida estable se puede preparar por adición de un tampón a una solución que contiene un tensioactivo y un azúcar o su derivado a la vez que se ajusta el pH de la solución, y a continuación añadiendo un anticuerpo a la solución mezclada. Como alternativa, la formulación farmacéutica líquida se puede preparar mediante la preparación de una solución que contiene algunos excipientes en la etapa final de un proceso de purificación, de continuación añadiendo el componente restante a la solución. Por ejemplo, la formulación farmacéutica líquida se puede preparar mediante la preparación de una solución que contiene un anticuerpo, un tampón y un azúcar o su derivado, y a continuación añadiendo un tensioactivo a la solución.

Además, el método para la preparación de la formulación puede comprender o no comprender una etapa de liofilización.

Cuando el método de preparación no comprende una etapa de liofilización, por ejemplo, la formulación farmacéutica líquida preparada de acuerdo con la presente invención se puede tratar mediante esterilización, y a continuación se puede colocar inmediatamente en un recipiente cerrado.

Cuando el método de preparación comprende la etapa de liofilización, por ejemplo, la formulación farmacéutica líquida preparada de acuerdo con la presente invención se puede liofilizar o liofilizar y almacenar, y a continuación los componentes retirados o modificados mediante liofilización y/o almacenamiento se pueden suplementar o reemplazar, preparando de ese modo la formulación farmacéutica líquida de acuerdo con la presente invención. Como alternativa, solamente los componentes de la formulación farmacéutica

líquida de la presente invención, excluyendo componentes que se pueden retirar o modificar mediante liofilización y/o almacenamiento, se pueden liofilizar o liofilizar y almacenar, y a continuación los componentes excluidos se pueden añadir a la misma, preparando de ese modo la formulación farmacéutica líquida de acuerdo con la presente invención.

Método de Uso de Formulación Farmacéutica Líquida Estable

La formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención se puede usar para tratar enfermedades en las que la actividad de TNF- α actúa como un factor perjudicial. Los ejemplos de enfermedades en las que la actividad de TNF- α actúa como un factor perjudicial incluyen, pero no se limitan a, septicemia, enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, rechazo de injerto, cáncer maligno, trastornos pulmonares, trastornos intestinales, trastornos cardíacos, y similares.

En una realización de la presente invención, las enfermedades en las que la actividad de TNF- α actúa como un factor perjudicial se pueden seleccionar entre artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn en adultos, enfermedad de Crohn pediátrica, psoriasis, y artritis psoriásica.

La formulación farmacéutica líquida estable de acuerdo con la presente invención se puede proporcionar como una forma de una sola dosificación, una forma de dosificación múltiple, o una forma para auto-inyección subcutánea.

Las concentraciones de otros componentes, incluyendo el anticuerpo, en la formulación farmacéutica líquida, son como se han descrito anteriormente, y el volumen total de la formulación farmacéutica líquida puede

ser de 0,2 a 2,0 ml.

La dosis y el momento de administración de la formulación farmacéutica líquida puede variar dependiendo del tipo de enfermedad, la gravedad y transcurso de la enfermedad, la salud y la respuesta a un tratamiento por parte del paciente, y el criterio del médico que prescribe, y no se limita a una dosis y un momento de administración en particular. Por ejemplo, uno o varios productos que contienen la formulación farmacéutica líquida se pueden administrar una dosis de 1 a 10 mg/kg basándose en la concentración del anticuerpo, y a continuación la misma o diferentes dosis se pueden administrar a intervalos de una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, dos meses o tres meses.

En una realización de la presente invención, la formulación farmacéutica líquida estable puede no estar sometida a una etapa de reconstitución, una etapa de dilución, o ambas, antes de sus.

Método de Tratamiento y Método de Estabilización

La presente invención también proporciona un método para tratar a un paciente que tiene una enfermedad en la que la actividad de TNF- α actúa como factor perjudicial, el método comprendiendo la administración al paciente de una formulación farmacéutica líquida estable que contiene: (A) un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno; (B) un tensioactivo; (C) un azúcar o su derivado; y (D) un tampón.

La presente invención también proporciona un método para estabilizar un anticuerpo en una formulación farmacéutica líquida, el método comprendiendo la preparación de una formulación farmacéutica líquida estable que contiene: (A) un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno; (B) un

tensioactivo; (C) un azúcar o su derivado; y (D) un tampón.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el anticuerpo (A) puede comprender un anticuerpo que se une a TNF- α .

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el anticuerpo (A) puede comprender infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab, o una mezcla de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el anticuerpo (A) puede comprender un anticuerpo monoclonal de IgG de ser humano-ratón quimérico.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el anticuerpo (A) o el fragmento de unión a antígeno del mismo puede comprender: una región variable de cadena ligera que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno (A) puede comprender: una región variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; y una región variable de cadena pesada que

tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el anticuerpo (A) puede comprender: una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; y una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno (A) puede estar contenido a una concentración de 10 a 200 mg/ml.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el tensioactivo (B) puede comprender polisorbato, poloxámero, o una mezcla de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el tensioactivo (B) puede comprender polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, o una mezcla de dos o más de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el tensioactivo (B) puede comprender polisorbato 80.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el tensioactivo (B) puede estar contenido a una concentración de un 0,02 a un 0,1 % (p/v).

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el azúcar (C) puede comprender un monosacárido, un disacárido, un oligosacárido, un polisacárido, o una mezcla de dos o más de los mismos, y el derivado de azúcar (C) puede comprender alcohol de azúcar, ácido de azúcar, o una mezcla de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de

estabilización, el azúcar o su derivado (C) pueden comprender sorbitol, manitol, trehalosa, sacarosa, o una mezcla de dos o más de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el azúcar o su derivado (C) puede estar contenido a una concentración de un 1 a un 10 % (p/v).

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el tampón (D) puede comprender acetato o histidina.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, el tampón (D) puede tener una concentración de 1 a 50 mM.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede tener un pH de 4,0 a 5,5.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de ácido aspártico, lisina, arginina, o mezclas de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na₂SO₄, NaSCN, K₂SO₄, o mezclas de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de un agente quelante.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar libre de un conservante.

En una realización del método de tratamiento o del método de

estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede contener adicionalmente un vehículo acuoso, un antioxidante, o una mezcla de dos o más de los mismos.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede tener una viscosidad de 0,5 cp a 10 cp tal como se mide después de 1 mes de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, o una viscosidad de 0,5 cp a 5 cp tal como se mide después de 6 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede contener: (A) un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, que comprende una región variable de cadena ligera que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; (B) un tensioactivo; (C) un azúcar o su derivado; y (D) un tampón que comprende acetato o histidina.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede contener: (A) de 90 a 145 mg/ml de un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, que

comprende una región variable de cadena ligera que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena pesada que comprende un dominio CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, un dominio CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y un dominio CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; (B) de un 0,02 a un 0,1 % (p/v) de un tensioactivo; (C) de un 1 a un 10 % (p/v) de un azúcar o su derivado; y (D) de 1 a 50 mM de un tampón que comprende acetato o histidina.

En una realización del método de tratamiento, la formulación farmacéutica líquida estable se puede administrar por vía subcutánea.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable puede estar sometida a una etapa de reconstitución, una etapa de dilución, o ambas, antes de su uso.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la formulación farmacéutica líquida estable se puede cargar en una jeringa precargada antes de su uso.

En una realización del método de tratamiento o del método de estabilización, la jeringa precargada se puede incluir en un auto-inyector antes de su uso.

Producto

La presente invención también proporciona un producto que

comprende: la formulación farmacéutica líquida estable; y un recipiente para recibir la formulación farmacéutica líquida estable en un estado cerrado.

La formulación farmacéutica líquida estable es tal como se ha descrito anteriormente.

En una realización de la presente invención, el recipiente puede estar formado por un material tal como vidrio, un polímero (plástico), un metal o similares, pero no se limita a los mismos. En una realización de la presente invención, el recipiente es un frasco, un vial, un cartucho, una jeringa (jeringa precargada, auto-jeringa), o un tubo, pero no se limita a los mismos. En una realización de la presente invención, el recipiente puede ser un vial de vidrio o polímero, o una jeringa precargada de vidrio o polímero.

Las formas del producto específicas del vial, cartucho, jeringa precargada o auto-jeringa que se han mencionado anteriormente, y métodos para cargar la formulación farmacéutica líquida estable en el vial, cartucho, jeringa precargada o auto-jeringa, pueden estar rápidamente disponibles o pueden ser puestas en práctica por cualquier persona con experiencia en el campo técnico al que pertenece la presente invención. Por ejemplo, los documentos de Patente de Estados Unidos N.^{os} 4.861.335 y 6.331.174, etc., desvelan la forma específica del producto de una jeringa precargada y un método de carga. Por ejemplo, los documentos de Patente de Estados Unidos N.^{os} 5.085.642 y 5.681.291, etc., desvelan la forma específica del producto de una auto-jeringa y método de montaje. El vial, cartucho, jeringa precargada o auto-jeringa que se han descrito anteriormente que se usan en la presente invención pueden ser de un producto disponible en el mercado, o un producto fabricado por separado teniendo en cuenta las propiedades físicas de la

formulación farmacéutica líquida estable, una zona en la que se va a administrar la formulación, la dosis de la formulación, y similares.

En una realización de la presente invención, el interior del recipiente puede no estar revestido con aceite de silicona. Si está revestido con aceite de silicona, la estabilidad de la formulación se puede reducir. El recipiente puede ser un recipiente de una sola dosis o de múltiples dosis.

En una realización de la presente invención, el producto puede comprender adicionalmente instrucciones que proporcionan un método para usar la formulación farmacéutica líquida estable, un método para almacenar la formulación, o ambos. El método para usar la formulación incluye un método para tratar una enfermedad en la que la actividad de TNF- α actúa como un factor perjudicial, y puede incluir la vía de administración, la dosis de la formulación, y el momento de la administración.

En una realización de la presente invención, el producto puede comprender otros utensilios necesarios (por ejemplo, una aguja, a jeringa, etc.) desde un punto de vista comercial y desde un punto de vista del usuario.

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá con referencia a los ejemplos. Sin embargo, se debe entender que estos ejemplos son sumamente para fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplos

El anticuerpo usado en los ejemplos experimentales fue infliximab purificado a partir de la Remsima disponible en el mercado (fabricada por Celltrion).

La estabilidad física, estabilidad química y actividad biológica de las

formaciones farmacéuticas líquidas usadas en los siguientes ejemplos experimentales se midieron usando los siguientes métodos.

- Turbidez

La absorbancia a 600 nm se midió usando un espectrofotómetro de UV-Vis.

- Contenido del componente principal

El contenido del componente principal (% del pico principal) se midió usando cromatografía líquida de alta resolución por exclusión de tamaño (HPLC).

- Contenido de componentes de alto peso molecular

El contenido de los componentes de alto peso molecular (% antes del pico) se midió usando cromatografía líquida de alta resolución por exclusión de tamaño (HPLC).

- Contenido de componentes de bajo peso molecular

El contenido de los componentes de bajo peso molecular (% después del pico) se midió usando cromatografía líquida de alta resolución por exclusión de tamaño (HPLC).

- Contenido de inmunoglobulina G intacta (% de IgG intacta)

El contenido de inmunoglobulina G intacta (%) se midió usando Electroforesis por Capilaridad No Reducida-Dodecil Sulfato Sódico (NR CE-SDS).

- Contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (% de HC + LC intactas)

El contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (%) se midió usando Electroforesis por Capilaridad Reducida-Dodecil Sulfato Sódico (R CE-

SDS).

- Número de partículas sub-visibles

Ejemplos Experimentales 1 a 4: el número de partículas sub-visibles se midió usando Formación de Imágenes por Micro Flujo (MFI).

Ejemplo Experimental 5: el número de partículas sub-visibles se midió usando un contador de partículas del líquido con la pantalla miento de luz (modelo: HIAC 9703).

- Oxidación

La oxidación (%) de Met 255 de cadena pesada se midió con formación de mapas de péptidos usando cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS).

- Variantes de cambio

Los picos ácidos y básicos (%) se midieron mediante Cromatografía de Intercambio Iónico-Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (IEC-HPLC).

- Afinidad de unión a TNF- α

La afinidad de unión a TNF- α (%) se midió con el Ensayo de InmunoAbsorción Unido a Enzimas (ELISA).

- Viscosidad

Usando un sistema de flujo de micro-capilaridad (tasa de cizallamiento aparente: 10^3 a 10^5 s⁻¹) equipado con una celda de flujo (tipo de sensor B05 profundidad de la celda de 50 μ m), la viscosidad se midió en una jeringa de 500 μ l a 25 °C $\pm$ 0,1 °C.

Ejemplo Experimental 1: Comparación de Alcohol de Azúcar con NaCl;
Comparación de Tampón de Acetato/Histidina con Tampón de Citrato/Fosfato;
Comparación de pH 4-5,5 con pH 6-7

Para la preparación de las formulaciones farmacéuticas líquidas que se van a usar en el Ejemplo Experimental 1, cada tampón se preparó con el fin de tener un pH deseado, y a éste se añadió sorbitol o NaCl. A continuación, un anticuerpo se añadió a esto y se añadió un tensioactivo, preparando de ese modo las muestras que se muestran en la Tabla 1 que sigue a continuación. El contenido específico de cada componente se muestra en la Tabla 1 que sigue a continuación. La concentración del tampón se refiere la concentración molecular/aniónica del compuesto correspondiente. El volumen total fue 1 ml.

Tabla 1

	Contenido de anticuerpo (mg/ml)	Tensioactivo	Alcohol de azúcar o NaCl	Tampón	pH
Ejemplo 1	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0
Ejemplo 2	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Histidina 10 mM	5,5
Ejemplo 3	100	Polisorbato 20 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Histidina 10 mM	5,5
Ejemplo Comparativo 1	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	NaCl 140 mM	Acetato sódico 10 mM	4,0
Ejemplo Comparativo 2	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	NaCl 140 mM	Citrato sódico 10 mM	5,0

Ejemplo Comparativo 3	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Citrato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo Comparativo 4	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	NaCl 140 mM	Histidina 10 mM	5,5
Ejemplo Comparativo 5	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	NaCl 140 mM	Fosfato sódico 10 mM	6,0
Ejemplo Comparativo 6	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Fosfato sódico 10 mM	6,0
Ejemplo Comparativo 7	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	NaCl 140 mM	Fosfato sódico 10 mM	7,0
Ejemplo Comparativo 8	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Fosfato sódico 10 mM	7,0

Las formulaciones farmacéuticas líquidas preparadas de acuerdo con los Ejemplos 1 a 3 y los Ejemplos Comparativos 1 a 8 se almacenaron durante 2 semanas a una temperatura de 40 ± 2 °C y una humedad relativa de un 75 ± 5 %. Como resultado, todas las formulaciones que contenían NaCl (Ejemplos Comparativos 1, 2, 4, 5 y 7) mostraban precipitación y una forma similar a la de la gelatina. Además, el Ejemplo Comparativo 3, que contenía sorbitol, pero que contenía citrato sódico, y el Ejemplo Comparativo 8 que contenía sorbitol, pero que contenía fosfato sódico, también mostraban una forma similar a la de la gelatina.

Entre las formulaciones que contenían sorbitol, solamente las

formulaciones de los Ejemplos 1, 2 y 3 y el Ejemplo Comparativo 6 no mostraban una forma similar a la de la gelatina. Las formulaciones se midieron para su estabilidad después de 0, 2 y 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 5 ± 3 °C y su estabilidad después de 2 y 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40 ± 2 °C y una humedad relativa de un 75 ± 5 %. Los resultados de la medición se muestran en las Tablas 2 a 9 que siguen a continuación.

Turbidez

Tabla 2

	Después de 0 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 4 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 40 ± 2 °C	Después de 4 semanas a 40 ± 2 °C
Ejemplo 1	0,0082	0,0060	0,0087	0,0364	0,0263
Ejemplo 2	0,0099	0,1550	0,0082	0,0291	0,0562
Ejemplo 3	0,0112	0,0059	0,0082	0,0358	0,0643
Ejemplo Comparativo 6	0,0120	0,0228	0,0138	0,1127	0,3113

Como se puede observar en la Tabla 2 que se ha mencionado anteriormente la formulación del Ejemplo 1, que tiene un pH de 4 y que contiene acetato como el tampón, fue la mejor en términos de turbidez, y en particular, mostró una absorbancia de 0,0300 o inferior después de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C. Además, se puede observar que las formulaciones del Ejemplo 2 y 3, que tienen un pH de 5,5 y que contienen histidina como el

tampón, también mostraron una absorbancia de 0,0700 o inferior después de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C.

Sin embargo, se puede observar que la formulación del Ejemplo Comparativo 6, que tiene un pH de 6 y que contiene fosfato como el tampón, mostró un aumento significativo de la turbidez después de 2 y 4 semanas de almacenamiento a 40 °C.

Contenido de componentes de alto peso molecular

Tabla 3

	Después de 0 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 4 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 40 ± 2 °C	Después de 4 semanas a 40 ± 2 °C
Ejemplo 1	0,4	0,8	0,6	0,8	0,7
Ejemplo 2	0,6	1,1	0,9	1,6	1,4
Ejemplo 3	0,6	1,1	0,8	1,4	1,3
Ejemplo Comparativo 6	0,8	1,5	1,2	2,4	2,3

Como se puede observar en la Tabla 3 que se ha mencionado anteriormente la formulación del Ejemplo 1 mostró el contenido más bajo del componente de alto peso molecular en todas las condiciones. En particular, la formulación del Ejemplo 1 mostró un contenido del componente de alto peso molecular de un 1,0 % o inferior después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40 °C. Además, se puede observar que las formulaciones de los Ejemplos 2 y 3 mostraron un contenido del componente de alto peso

molecular de un 1,5 % o inferior después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40 °C.

Contenido de inmunoglobulina G intacta (% de IgG intacta)

Tabla 4

	Después de 0 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 4 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 40 ± 2 °C	Después de 4 semanas a 40 ± 2 °C
Ejemplo 1	97,7	98,8	98,0	96,9	94,5
Ejemplo 2	97,4	98,7	98,2	97,4	94,6
Ejemplo 3	97,2	98,9	97,8	97,4	94,4
Ejemplo Comparativo 6	97,2	98,6	98,3	97,1	93,6

Como se puede observar en la Tabla 4 que se ha mencionado anteriormente los contenidos de inmunoglobulina intacta en las formulaciones de los Ejemplos 1 a 3 después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40 °C fueron de un 94,0 % o más, que era superior a los del Ejemplo Comparativo 6.

Contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (% de HC + LC intactas)

Tabla 5

	Después de 0 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 2 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 4 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 2 semanas a $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 4 semanas a $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$
Ejemplo 1	99,5	99,6	99,5	99,2	98,3
Ejemplo 2	99,5	99,6	99,4	99,3	98,0
Ejemplo 3	99,6	99,6	99,4	99,3	98,3
Ejemplo Comparativo 6	99,6	99,6	99,4	99,3	97,6

Como se puede observar en la Tabla 5 que se ha mencionado anteriormente los contenidos de la cadena pesada y ligera intactas en las formulaciones de los Ejemplos 1 a 3 después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ fueron de un 98,0 % o más, que era superior a los del Ejemplo Comparativo 6.

Tasa de oxidación (Met 255 de cadena pesada)

Tabla 6

	Después de 0 semanas a $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 4 semanas a $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$
Ejemplo 1	2,2	2,4
Ejemplo 2	2,0	2,5
Ejemplo 3	2,1	2,5

Ejemplo Comparativo 6	2,2	4,1
------------------------------	-----	-----

Como se puede observar en la Tabla 6 que se ha mencionado anteriormente las tasas de oxidación de la Met 255 de cadena pesada en las formulaciones de los Ejemplos 1 a 3 después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40 °C fueron de un 2,5 % o inferior, que fueron menores que las del Ejemplo Comparativo 6.

Variantes de carga (picos ácidos)

Tabla 7

	Después de 0 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 4 semanas a 5 ± 3 °C	Después de 2 semanas a 40 ± 2 °C	Después de 4 semanas a 40 ± 2 °C
Ejemplo 1	20,5	20,5	20,5	27,0	33,5
Ejemplo 2	20,6	20,8	20,6	27,9	34,5
Ejemplo 3	20,3	20,9	20,8	27,5	34,4
Ejemplo Comparativo 6	20,4	20,9	20,9	30,3	38,6

Como se puede observar en la Tabla 7, los picos ácidos de las formulaciones de los Ejemplos 1 a 3 después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40 °C fueron de un 35 % o inferior, que fue inferior que el del Ejemplo Comparativo 6. Esto indica que las formulaciones de los Ejemplos 1 a 3 son formulaciones estables en las que la

desamidación, que es una causa principal de aumento de los picos ácidos, se produce en menor medida.

Variantes de carga (picos básicos)

Tabla 8

	Después de 0 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 2 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 4 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 2 semanas a $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 4 semanas a $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$
Ejemplo 1	40,6	40,1	40,2	37,4	34,4
Ejemplo 2	40,5	39,8	39,8	36,3	33,1
Ejemplo 3	40,4	39,6	39,8	36,5	33,3
Ejemplo Comparativo 6	40,4	39,8	40,0	35,1	30,9

Como se puede observar en la Tabla 8 que se ha mencionado anteriormente los picos básicos de las formulaciones de los Ejemplos 1 a 3 después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ fueron de un 33 % o más, que era superior a los del Ejemplo Comparativo 6.

Número de partículas sub-visibles ($\geq 1.00\text{ }\mu\text{m}$, $< 100,00\text{ }\mu\text{m}$)

Tabla 9

	Después de 0 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 4 semanas a $5 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$	Después de 4 semanas a $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$
Ejemplo 1	1527	7645	7005
Ejemplo 2	4405	14257	29500

Ejemplo 3	4525	1493	26923
Ejemplo Comparativo 6	13282	6688	2319386

Como se puede observar en la Tabla 9, el número de partículas sub-visibles ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) en las formulaciones de los Ejemplos 1 a 3 después de 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40°C fue 30.000 hoy inferior, que era más pequeño que el del Ejemplo Comparativo 6.

Ejemplo Experimental 2: Efecto del Aminoácido

Para la preparación de las formulaciones farmacéuticas líquidas que se van a usar en el Ejemplo Experimental 2, un tampón que comprende acetato sódico se preparó con el fin de tener un pH deseado, y a esto se añadió sorbitol. A continuación, un anticuerpo se añadió a esto y se añadieron un tensioactivo y aminoácido/taurina, preparando de ese modo las muestras que se muestran en la Tabla 10 que sigue a continuación. La concentración de cada componente se muestra en la Tabla 10 que sigue a continuación. La concentración del tampón se requiera la concentración del anión acetato. El volumen total fue 1 ml.

Tabla 10

	Contenido de anticuerpo (mg/ml)	Tensioactivo	Alcohol de azúcar o NaCl	Tampón	pH	Aminoácido/ taurina¹⁾
Ejemplo 1	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	-
Ejemplo de Referencia 1	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-alanina
Ejemplo de Referencia 2	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-asparagina
Ejemplo de Referencia 3	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-glutamina
Ejemplo de Referencia 4	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	Ácido L- glutámico
Ejemplo de Referencia 5	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-glicina

Ejemplo de Referencia 6	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-isoleucina
Ejemplo de Referencia 7	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-leucina
Ejemplo de Referencia 8	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-metionina
Ejemplo de Referencia 9	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-fenilalanina
Ejemplo de Referencia 10	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-prolina
Ejemplo de Referencia 11	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-serina
Ejemplo de Referencia 12	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-treonina

Ejemplo de Referencia 13	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-triptófano
Ejemplo de Referencia 14	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-tirosina
Ejemplo de Referencia 15	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	Valina
Ejemplo de Referencia 16	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	Taurina
Ejemplo Comparativo 9	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-ácido aspártico
Ejemplo Comparativo 10	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-histidina
Ejemplo Comparativo 11	100	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 4 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	4,0	L-lisina

Ejemplo	100	Polisorbato 80	Sorbitol 4 %	Acetato	4,0	L-arginina
Comparativo		0,05 % (p/v)	(p/v)	sódico		
12				10 mM		

¹⁾ Aminoácido o taurina se añadió en una cantidad de un 5 % (p/v) o inferior.

Las formulaciones de los Ejemplos Comparativos 9, 10, 11 y 12, que contenían ácido aspártico, histidina, lisina y arginina, respectivamente, se hicieron sólidas después de 24 horas de almacenamiento a 50 ± 2 °C.

Para las formulaciones que contienen otros aminoácidos o taurina, las estabildades después de 24 horas de almacenamiento a 5 ± 3 °C y 50 ± 2 °C se midieron, pero no se produjo diferencia significativa entre estas formulaciones y entre estas formulaciones y la formulación del Ejemplo 1.

Ejemplo Experimental 3: Concentración de Proteína; Concentración de Tensioactivo; y el Tipo de Azúcar

Para la preparación de las formulaciones farmacéuticas líquidas que se van a usar en el Ejemplo Experimental 3, un tampón que comprende acetato sódico se preparó con el fin de tener un pH deseado, y a esto se añadieron sorbitol, manitol, trehalosa o sacarosa. A continuación, un anticuerpo se añadió a esto y se añadió un tensioactivo, preparando de ese modo las muestras que se muestran en la Tabla 11 que sigue a continuación. El contenido de cada componente se muestra en la Tabla 11 que sigue a continuación. La concentración del tampón se refiere a la concentración del anión acetato. El volumen total fue 1 ml.

Tabla 11

	Contenido de anticuerpo (mg/ml)	Tensioactivo	Azúcar	Tampón	pH
Ejemplo 4	125	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo 5	110	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo 6	90	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo 7	145	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo 8	110	Polisorbato 80 0,02 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo 9	110	Polisorbato 80 0,1 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo 10	110	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Manitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0
Ejemplo 11	110	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Trehalosa 10 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0

Ejemplo	110	Polisorbato 80	Sacarosa 10 %	Acetato sódico	5,0
12		0,05 % (p/v)	(p/v)	10 mM	

Las formulaciones se midieron para sus estabilidades después de 0, 2 y 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 5 ± 3 °C y para sus estabilidades después de 2 y 4 semanas de almacenamiento a una temperatura de 40 ± 2 °C y una humedad relativa de un 75 ± 5 %. Los resultados de la medición se muestran en las Tablas 12 a 17 que siguen a continuación.

Concentración de Proteína

Contenido de componentes de alto peso molecular

Tabla 12

	Contenido de anticuerpo (mg/ml)	Después de 0 semanas	Después de 2 semanas a 5 °C	Después de 4 semanas a 5 °C	Después de 2 semanas a 40 °C	Después de 4 semanas a 40 °C
Ejemplo 6	90	1,0	1,1	1,1	0,8	0,8
Ejemplo 5	110	1,1	1,1	1,2	1,0	1,0
Ejemplo 4	125	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2
Ejemplo 7	145	1,2	1,2	1,3	1,3	1,3

Como se puede observar en la Tabla 12 que se ha mencionado anteriormente el contenido del componente de alto peso molecular aumentó a

medida que aumentaba la concentración del anticuerpo. Sin embargo, a una concentración de anticuerpo que variaba de 90 a 145 mg/ml, el contenido de los componentes de alto peso molecular después de 4 semanas de almacenamiento a 5 °C y 40 °C fue generalmente bajo.

Concentración de Tensioactivo

Número de partículas sub-visibles ($\geq 1.00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabla 13

	Tensioactivo	Después de 0 semanas	Después de 2 semanas a 40 °C	Después de 4 semanas a 40 °C
Ejemplo 8	Polisorbato 80 0,02 % (p/v)	590	9235	5581
Ejemplo 5	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	6076	3957	6458
Ejemplo 9	Polisorbato 80 0,1 % (p/v)	997	2678	1672

Como se puede observar en la Tabla 13 que se ha mencionado anteriormente a una concentración de tensioactivo que varía de un 0,02 a un 0,1 % (p/v), el número de partículas sub-visibles ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C fue 10.000 o inferior.

El tipo de Azúcar

Contenido de un componente principal (pico principal)

Tabla 14

	Azúcar	Después de 0 semanas	Después de 2 semanas a 40 °C	Después de 4 semanas a 40 °C
Ejemplo 5	Sorbitol 5 % (p/v)	98,9	98,5	98,1
Ejemplo 10	Manitol 5 % (p/v)	98,9	98,6	98,2
Ejemplo 11	Trehalosa 10 % (p/v)	98,9	98,6	98,2
Ejemplo 12	Sacarosa 10 % (p/v)	98,9	98,6	98,1

Como se puede observar en la Tabla 14 que se ha mencionado anteriormente las formulaciones que contienen sorbitol, manitol, trehalosa o sacarosa como un azúcar mostraron un contenido de componente principal de un 98 % o superior después de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C.

Variantes de carga (picos ácidos)

Tabla 15

	Azúcar	Después de 0 semanas	Después de 2 semanas a 40 °C	Después de 4 semanas a 40 °C
Ejemplo 5	Sorbitol 5 % (p/v)	19,6	27,2	33,9

Ejemplo 10	Manitol 5 % (p/v)	19,7	27,2	33,7
Ejemplo 11	Trehalosa 10 % (p/v)	19,6	27,3	34,0
Ejemplo 12	Sacarosa 10 % (p/v)	19,7	27,3	33,8

Como se puede observar en la Tabla 15 que se ha mencionado anteriormente las formulaciones que contienen sorbitol, manitol, trehalosa o sacarosa como un azúcar presentaban un pico ácido de un 35 % o inferior después de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C.

Número de partículas sub-visibles ($\geq 1.00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabla 16

	Azúcar	Después de 0 semanas	Después de 2 semanas a 40 °C	Después de 4 semanas a 40 °C
Ejemplo 5	Sorbitol 5 % (p/v)	6076	3957	6458
Ejemplo 10	Manitol 5 % (p/v)	1055	865	4595
Ejemplo 11	Trehalosa 10 % (p/v)	2803	1572	3554
Ejemplo 12	Sacarosa 10 % (p/v)	1246	2416	11230

Número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabla 17

	Azúcar	Después de 0 semanas	Después de 2 semanas a 40 °C	Después de 4 semanas a 40 °C
Ejemplo 5	Sorbitol 5 % (p/v)	128	11	115
Ejemplo 10	Manitol 5 % (p/v)	36	37	84
Ejemplo 11	Trehalosa 10 % (p/v)	42	13	56
Ejemplo 12	Sacarosa 10 % (p/v)	40	42	118

Como se puede observar en las Tablas 16 y 17 que se han mencionado anteriormente en las poblaciones que contienen sorbitol, manitol, trehalosa o sacarosa como un azúcar, el número de partículas sub-visibles ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C fue 15.000 o inferior, y el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 4 semanas de almacenamiento a 40 °C fue 200 o inferior.

Ejemplo Experimental 4: El Tipo de Tensioactivo y el Efecto del Agente Quelante

Para la preparación de las formulaciones farmacéuticas líquidas que se van a usar en el Ejemplo Experimental 4, un tampón que comprende acetato

sódico se preparó con el fin de tener un pH deseado, y a esto se añadió sorbitol. A continuación, un anticuerpo se añadió a esto y un tensioactivo o una mezcla de un tensioactivo y un agente quelante se añadió, preparando de ese modo las muestras que se muestran en la Tabla 18 que sigue a continuación. El contenido de cada componente se muestra en la Tabla 18 que sigue a continuación. La concentración del tampón se refiere a la concentración de anión acetato. El volumen total fue 1 ml.

Tabla 18

	Contenido de anticuerpo (mg/ml)	Tensioactivo	Azúcar	Tampón	pH	Agente quelante (EDTA)
Ejemplo 13	120	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0	-
Ejemplo 14	120	Polisorbato 20 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0	-
Ejemplo 15	120	Poloxámero 188 0,8 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0	-
Ejemplo Comparativo 13	120	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0	0,05 mg/ml

Ejemplo Comparativo 14	120	Polisorbato 20 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0	0,05 mg/ml
Ejemplo Comparativo 15	120	Poloxámero 188 0,8 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 10 mM	5,0	0,05 mg/ml

Las formulaciones que se muestran en la Tabla 18 que se ha mencionado anteriormente se midieron para sus estabilidades después de 0, 3 y 6 semanas de almacenamiento a una temperatura de 5 ± 3 °C, una temperatura de 25 ± 2 °C y una temperatura relativa de 60 ± 5 °C, and a temperatura of 40 ± 2 °C y una humedad relativa de un 75 ± 5 % en una condición cerrada. Los resultados de la medición se muestran en las Tablas 19 y 20 que siguen a continuación.

El Tipo de Tensioactivo

Número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabla 19

	Tensioactivo	Después de 0 semanas a 5 °C	Después de 3 semanas a 5 °C	Después de 6 semanas a 5 °C	Después de 3 semanas a 25 °C	Después de 6 semanas a 25 °C	Después de 3 semanas a 40 °C	Después de 6 semanas a 40 °C
Ejemplo 13	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	50	149	46	34	182	249	55

Ejemplo 14	Polisorbato							
	20	581	309	103	54	90	185	279
	0,05 % (p/v)							
Ejemplo 15	Poloxámero							
	188	208	67	86	172	56	344	2050
	0,8 % (p/v)							

Como se puede observar en la Tabla 19 que se ha mencionado anteriormente en la formulación del Ejemplo 13, que contiene polisorbato 80 como un tensioactivo, el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 6 semanas de almacenamiento a 40°C fue 100 o inferior (el más bajo), y en la formulación del Ejemplo 15, que contenía poloxámero 188 como un tensioactivo, el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) después de 6 semanas de almacenamiento a 40°C fue 2.000 o más (el más elevado).

Efecto del Agente Quelante (EDTA)

Tasa de oxidación (Met 255 de cadena pesada)

Tabla 20

	Agente quelante (EDTA)	Después de 0 semanas a 5°C	Después de 3 semanas a 5°C	Después de 6 semanas a 5°C	Después de 3 semanas a 40°C	Después de 6 semanas a 40°C
Ejemplo 13	-	1,9	1,9	1,9	2,3	2,5
Ejemplo 14	-	2,0	1,9	1,9	2,2	2,4

Ejemplo 15	-	1,9	1,9	1,9	2,3	2,5
Ejemplo Comparativo 13	0,05 mg/ml	1,9	1,8	1,8	2,9	3,3
Ejemplo Comparativo 14	0,05 mg/ml	2,3	1,8	2,0	2,8	3,3
Ejemplo Comparativo 15	0,05 mg/ml	1,8	1,9	1,9	2,8	3,4

Como se puede observar en la Tabla 20 que se ha mencionado anteriormente en las formulaciones de los Ejemplos Comparativos 13 a 15, que contienen un agente quelante (EDTA), la tasa de oxidación de Met 255 de cadena pesada después de 6 semanas de almacenamiento a 40 °C aumentó en comparación con la de las formulaciones de los Ejemplos 13 a 15, que no contienen agente quelante (EDTA).

Ejemplo Experimental 5: Estabilidad a Largo Plazo

Para la preparación de una formulación farmacéutica líquida que se van a usar en el Ejemplo Experimental 5, un tampón que comprende acetato sódico se preparó con el fin de tener un pH de 5,0, y a esto se añadió sorbitol. A continuación, un anticuerpo se añadió a esto y se añadió un tensioactivo, preparando de ese modo la muestra que se muestra en la Tabla 21 que sigue a continuación. El contenido de cada componente se muestra en la Tabla 21 que

sigue a continuación. La concentración del tampón se refiere a la concentración del anión acetato. El volumen total fue 1 ml.

Tabla 21

	Contenido de anticuerpo (mg/ml)	Tensioactivo	Azúcar	Tampón	pH
Ejemplo 16	120	Polisorbato 80 0,05 % (p/v)	Sorbitol 5 % (p/v)	Acetato sódico 25 mM	5,0

La formulación que se muestra en la Tabla 21 se midió para su estabilidad después de 0, 3 y 6 meses de almacenamiento a una temperatura de 5 ± 3 °C en una condición cerrada. Los resultados de la medición se muestran en las Tablas 22 a 27 que siguen a continuación.

Número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 400,00 \mu\text{m}$)

Tabla 22

	Después de 0 meses a 5 °C	Después de 3 meses a 5 °C	Después de 6 meses a 5 °C	Después de 9 meses a 5 °C	Después de 12 meses a 5 °C
Ejemplo 16	35	26	48	32	43

Como se puede observar en la Tabla 22 que se ha mencionado anteriormente el número de partículas sub-visibles ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 400,00 \mu\text{m}$)

en la formulación del Ejemplo 16 después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C fue tan pequeño como 100 o inferior.

Contenido de inmunoglobulina intacta (% de IgG intacta)

Tabla 23

	Después de 0 meses a 5 °C	Después de 3 meses a 5 °C	Después de 6 meses a 5 °C	Después de 9 meses a 5 °C	Después de 12 meses a 5 °C
Ejemplo 16	94,6	93,9	94,3	94,4	94,4

Como se puede observar en la Tabla 23 que se ha mencionado anteriormente el contenido de inmunoglobulina G intacta en la formulación del Ejemplo 16 después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C fue tan elevado como un 94 % o superior.

Contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas (% de HC+LC intactas)

Tabla 24

	Después de 0 meses a 5 °C	Después de 3 meses a 5 °C	Después de 6 meses a 5 °C	Después de 9 meses a 5 °C	Después de 12 meses a 5 °C
Ejemplo 16	99,7	99,5	99,6	99,4	99,4

Como se puede observar en la Tabla 24 que se ha mencionado anteriormente el contenido de cadena pesada y cadena ligera intactas en la formulación del Ejemplo 16 después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C

fue tan elevado como un 99 % o superior.

Contenido de componentes de alto peso molecular

Tabla 25

	Después de 0 meses a 5 °C	Después de 3 meses a 5 °C	Después de 6 meses a 5 °C	Después de 9 meses a 5 °C	Después de 12 meses a 5 °C
Ejemplo 16	0,5	0,9	0,9	0,8	0,7

Como se puede observar en la Tabla 25 que se ha mencionado anteriormente el contenido de componentes de alto peso molecular en la formulación del Ejemplo 16 después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C fue tan bajo como un 1,0 % o inferior.

Contenido de componentes de bajo peso molecular

Tabla 26

	Después de 0 meses a 5 °C	Después de 3 meses a 5 °C	Después de 6 meses a 5 °C	Después de 9 meses a 5 °C	Después de 12 meses a 5 °C
Ejemplo 16	0,0	0,1	0,1	0,1	0,3

Como se puede observar en la Tabla 26 que se ha mencionado anteriormente el contenido de componentes de bajo peso molecular en la formulación del Ejemplo 16 después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C fue tan bajo como un 0,4 % o inferior.

Afinidad de unión a TNF- α

Tabla 27

	Después de 0 meses a 5 °C	Después de 3 meses a 5 °C	Después de 6 meses a 5 °C	Después de 9 meses a 5 °C	Después de 12 meses a 5 °C
Ejemplo 16	95	98	116	101	97

Como se puede observar en la Tabla 27 que se ha mencionado anteriormente la afinidad de unión a TNF- α de la formulación del Ejemplo 16 después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C fue tan alta como un 95 % o superior.

La formulación del Ejemplo 16 se midió para su viscosidad después de 0, 0,5, 1, 2 y 3 meses de almacenamiento a una temperatura de 40 ± 2 °C en una condición cerrada y para su viscosidad después de 6 meses de almacenamiento a una temperatura de 5 ± 3 °C en una condición cerrada. Los resultados de la medición se muestran en la Tabla 28 que sigue a continuación.

Viscosidad (cP)

Tabla 28

	Después de 0 meses	Después de 0,5 meses a 40 °C	Después de 1 mes a 40 °C	Después de 6 meses a 5 °C
Ejemplo 16	4,1	5,6	8,0	4,0

Como se puede observar en la Tabla 28 que se ha mencionado anteriormente la viscosidad de la formulación del Ejemplo 16 se mantuvo a un

nivel bajo (8,0 cp) después de 1 mes de almacenamiento a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se mantuvo a un nivel bajo (4,0 cp) después de 6 meses de almacenamiento a una temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.