

FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS ANTI-IL-33

REFERENCIA A UN LISTADO DE SECUENCIAS

Esta solicitud incorpora por referencia el Listado de Secuencias presentado en formato legible por computadora como el archivo 10516WO01-Sequence.txt, creado el 20 de febrero de 2020 y que contiene 13 659 bytes.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al campo de las formulaciones de anticuerpos terapéuticos. Más específicamente, la presente invención se refiere al campo de las formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente a la interleucina 33 humana.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La interleucina 33 (IL-33) es un ligando para ST2, un miembro de la superfamilia de receptores de tipo toll/interleucina-1 que se asocia con una proteína accesoria, IL-1RAcP (para revisiones, ver, por ejemplo, Kakkar y Lee, *Nature Reviews – Drug Discovery* 7(10):827-840 (2008), Schmitz y otros, *Immunity* 23:479-490 (2005); Liew y otros, *Nature Reviews – Immunology* 10:103-110 (2010); documentos US 2010/0260770; US 2009/0041718). Tras la activación de ST2/IL-1RAcP por IL-33, se desencadena una cascada de señalización a través de moléculas en la vía descendente tales como MyD88 (factor de diferenciación mieloide 88) y TRAF6 (factor 6 asociado al receptor de TNF), lo que lleva a la activación de NFκB (factor nuclear κB), entre otros. La señalización de IL-33 se ha implicado como factor en una variedad de enfermedades y trastornos. (Liew y otros, *Nature Reviews - Immunology* 10:103-110 (2010)).

Las macromoléculas terapéuticas (por ejemplo, anticuerpos) deben formularse de una manera que no solo haga que las moléculas sean adecuadas para la administración a los pacientes, sino que también mantenga su estabilidad durante el almacenamiento. Por ejemplo, los anticuerpos terapéuticos en solución líquida son propensos a la degradación, agregación y/o modificaciones químicas no deseadas a menos que la solución se formule adecuadamente. La estabilidad de un anticuerpo en una formulación líquida depende no solo de los tipos de excipientes usados en la formulación, sino también de las cantidades y proporciones de los excipientes entre sí. Además, deben tenerse en cuenta otras consideraciones además de la estabilidad al preparar una formulación líquida de anticuerpos. Ejemplos de tales consideraciones adicionales

incluyen la viscosidad de la solución y la concentración de anticuerpo que puede adaptarse a una formulación dada. Por tanto, al formular un anticuerpo terapéutico, se debe tener mucho cuidado para lograr una formulación que permanezca estable, contenga una concentración adecuada de anticuerpo y posea una viscosidad adecuada así como otras propiedades que permitan que la formulación se administre convenientemente a los pacientes.

Los anticuerpos contra la interleucina 33 humana (hIL-33) son un ejemplo de macromoléculas de interés terapéutico que requieren una formulación adecuada.

Aunque los anticuerpos anti-hIL-33 son conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, el documento WO 2014/164959), sigue existiendo la necesidad de formulaciones farmacéuticas que comprendan anticuerpos anti-hIL-33 que sean suficientemente estables y adecuadas para la administración a los pacientes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan formulaciones farmacéuticas líquidas estables que comprenden un anticuerpo anti-IL-33 y uno o más excipientes, así como kits que comprenden tales formulaciones y usos de estos.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la interleucina 33 humana (hIL-33); (ii) un tampón; (iii) un aminoácido; (iv) un estabilizador térmico; y (v) un codisolvente orgánico. En algunas modalidades, el tampón es acetato o histidina a una concentración de 1 mM a 40 mM. En algunas modalidades, el tampón es acetato o histidina a una concentración de 1 mM a 20 mM. En algunas modalidades, el aminoácido es arginina o ácido glutámico a una concentración de 30 mM a 110 mM. En algunas modalidades, el estabilizador térmico es sacarosa a una concentración de 1 % p/v a 20 % p/v. En algunos casos, el estabilizador térmico es sacarosa a una concentración de 1 % p/v a 10 % p/v. En algunos casos, el codisolvente orgánico es un tensioactivo a una concentración de 0,01 % p/v a 0,15 % p/v. En algunas modalidades, el tensioactivo es polisorbato 80. En algunas modalidades, el anticuerpo está presente en una concentración de 1 mg/ml a 200 mg/ml. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una concentración de 15 mg/ml a 150 mg/ml.

En varias modalidades de las formulaciones, el anticuerpo comprende las regiones determinantes de la complementariedad (HCDR1-HCDR2-HCDR3) de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y las regiones determinantes de la complementariedad (LCDR1-LCDR2-

LCDR3) de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En algunos casos, el anticuerpo comprende las regiones HCDR1-HCDR2-HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 4-6-8, respectivamente, y las regiones LCDR1-LCDR2-LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 12-14-16, respectivamente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada de IgG humana. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada es del isotipo IgG1. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada es del isotipo IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml del anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33; (ii) acetato de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) clorhidrato de arginina de aproximadamente 60 mM a aproximadamente 80 mM; (iv) sacarosa de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) polisorbato 80 de aproximadamente 0,06 % p/v a aproximadamente 0,1 % p/v. En algunos casos, la formulación tiene un pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 5,6.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 15 mg/ml $\pm$ 1,5 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 14 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 1 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,016 % p/v. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 75 mg/ml $\pm$ 5 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 14 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 1 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,016 % p/v. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 14 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 1 %

p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,016 % p/v. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 15 mg/ml $\pm$ 1,5 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 75 mg/ml $\pm$ 5 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v. En algunos casos, el pH de la formulación es de 5,2 a 5,4. En algunas modalidades, el pH de la formulación es de aproximadamente 5,3. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 15 mg/ml $\pm$ 1,5 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 14 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 1 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,04 % p/v. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 75 mg/ml $\pm$ 8 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 14 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 1 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,04 % p/v. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml del anticuerpo; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 14 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 1 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,04 % p/v. En algunos casos, el pH de la formulación es de 5,2 a 5,4. En algunas modalidades, el pH de la formulación es de aproximadamente 5,3.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la interleucina 33 humana (hIL-33) en una concentración de 15 $\pm$ 1,5 mg/ml a 150 $\pm$ 15 mg/ml, en donde el anticuerpo comprende una HCVR que comprende las regiones HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 4, 6 y 8,

respectivamente, y las regiones LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 12, 14 y 16, respectivamente.; (ii) acetato 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina 70 mM $\pm$ 14 mM; (iv) sacarosa a 5 % p/v $\pm$ 1 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,016 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,1 a 5,5. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la interleucina 33 humana (hIL-33) en una concentración de 15 $\pm$ 1,5 mg/ml a 150 $\pm$ 15 mg/ml, en donde el anticuerpo comprende una HCVR que comprende las regiones HCDR1, HCDR2 y HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 4, 6 y 8, respectivamente, y las regiones LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 12, 14 y 16, respectivamente; (ii) acetato 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina 70 mM $\pm$ 7 mM; (iv) sacarosa a 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,1 a 5,5. En algunos casos, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada de IgG humana. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada es del isotipo IgG1. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada es del isotipo IgG4.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la interleucina 33 humana (hIL-33) en una concentración de 15 $\pm$ 1,5 mg/ml a 150 $\pm$ 15 mg/ml, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; (ii) acetato 10 mM $\pm$ 2 mM; (iii) clorhidrato de arginina 70 mM $\pm$ 14 mM; (iv) sacarosa a 5 % p/v $\pm$ 1 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,016 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,1 a 5,5. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la interleucina 33 humana (hIL-33) en una concentración de 15 $\pm$ 1,5 mg/ml a 150 $\pm$ 15 mg/ml, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; (ii) acetato 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina 70 mM $\pm$ 7 mM; (iv) sacarosa a 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y

(iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,1 a 5,5.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable contiene al menos 90 % de la forma nativa del anticuerpo después de dos meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina por cromatografía líquida de ultrarresolución por exclusión por tamaño (SE-UPLC). En algunos casos, la formulación contiene al menos 95 % de la forma nativa del anticuerpo después de dos meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo después de dos meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina por SE-UPLC.

En algunos casos, la formulación contiene al menos 95 % de la forma nativa del anticuerpo después de nueve meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable contiene al menos 97,5 % de la forma nativa del anticuerpo después de nueve meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo después de nueve meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 95 % de la forma nativa del anticuerpo después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable contiene al menos 97,5 % de la forma nativa del anticuerpo después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 95 % de la forma nativa del anticuerpo después de 18 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable contiene al menos 97,5 % de la forma nativa del anticuerpo después de 18 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo después de 18 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC.

En algunos casos, la formulación contiene al menos 95 % de la forma nativa del anticuerpo después de nueve meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable contiene al menos 97,5 % de la forma nativa del anticuerpo después de nueve meses

de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo después de nueve meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 95 % de la forma nativa del anticuerpo después de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable contiene al menos 97,5 % de la forma nativa del anticuerpo después de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo después de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 95 % de la forma nativa del anticuerpo después de 18 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable contiene al menos 97,5 % de la forma nativa del anticuerpo después de 18 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación contiene al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo después de 18 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende no más del 2 % de especies de alto peso molecular (HMW) después de dos meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de dos meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 0,6 % de especies de HMW después de dos meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina por SE-UPLC.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende no más del 2 % de especies de HMW después de nueve meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de nueve meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 0,5 % de especies de HMW después de nueve meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende no más del 2 % de especies de HMW después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En

algunos casos, la formulación comprende no más del 0,5 % de especies de HMW después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende no más del 2 % de especies de HMW después de 18 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de 18 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 0,5 % de especies de HMW después de 18 meses de almacenamiento a -20 °C, según se determina por SE-UPLC.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende no más del 2 % de especies de HMW después de nueve meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de nueve meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 0,7 % de especies de HMW después de nueve meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende no más del 2 % de especies de HMW después de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 0,7 % de especies de HMW después de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable comprende no más del 2 % de especies de HMW después de 18 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de 18 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 0,7 % de especies de HMW después de 18 meses de almacenamiento a 2-8 °C, según se determina por SE-UPLC.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica presenta una viscosidad de menos de aproximadamente 15 cPoise, menos de aproximadamente 12 cPoise, o menos de aproximadamente 10 cPoise, cuando se mide a 20 °C.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable está contenida en un frasco de vidrio, una jeringa o un dispositivo de gran volumen o inyector de bolo. En algunas modalidades, la jeringa comprende un émbolo recubierto con fluorocarbono. En

algunas modalidades, la jeringa es una jeringa de bajo contenido de tungsteno. En algunas modalidades, la jeringa contiene hasta 2500 ppb de tungsteno. En algunas modalidades, la jeringa contiene aproximadamente 250-750 ppb de tungsteno. En algunas modalidades, la jeringa es una jeringa precargada. En algunas modalidades, la jeringa es una jeringa precargada con aguja preinstalada.

En otro aspecto, se proporciona un dispositivo de administración tipo pluma o autoinyector que contiene una formulación farmacéutica líquida estable, en cualquiera de las modalidades analizadas anteriormente o en la presente. En algunos casos, el dispositivo de administración es un dispositivo de administración tipo pluma desechable. En algunos casos, el dispositivo de administración es un dispositivo de administración tipo pluma reutilizable.

En otro aspecto, se proporciona un recipiente que contiene una formulación farmacéutica líquida estable, en cualquiera de las modalidades analizadas anteriormente o en la presente.

En otro aspecto, se proporciona un dispositivo de administración con sistema de seguridad que contiene una formulación farmacéutica líquida estable, en cualquiera de las modalidades analizadas anteriormente o en la presente. En algunas modalidades, el dispositivo de administración con sistema de seguridad incluye una cámara de seguridad configurada para extenderse mediante una operación manual. En algunas modalidades, el dispositivo de administración con sistema de seguridad incluye una cámara de seguridad configurada para extenderse automáticamente después de la inyección de la formulación farmacéutica líquida estable.

En otro aspecto, se proporciona un kit que comprende (i) un recipiente que contiene la formulación farmacéutica líquida estable como se analizó anteriormente o en la presente, y (ii) un etiquetado para el uso de la formulación farmacéutica. En algunas modalidades, el etiquetado indica la administración subcutánea de la formulación farmacéutica. En algunas modalidades, el etiquetado indica la administración intravenosa de la formulación farmacéutica.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una forma farmacéutica unitaria que comprende una formulación farmacéutica líquida estable como se analizó anteriormente o en la presente, en donde el anticuerpo anti-IL-33 está presente en una cantidad de 1 mg a 500 mg. En algunos casos, el anticuerpo anti-IL-33 está presente en una cantidad de aproximadamente 150 mg. En algunos casos, el anticuerpo anti-IL-33 está presente en una cantidad de aproximadamente 300 mg. En algunas modalidades de la

forma farmacéutica unitaria, la formulación está contenida en una jeringa. En algunos casos, la jeringa es una jeringa precargada.

En diversas modalidades, cualquiera de las características o componentes de las modalidades analizadas anteriormente o en la presente pueden combinarse, y tales combinaciones están incluidas dentro del alcance de la presente descripción. Cualquier valor específico explicado anteriormente o en la presente puede combinarse con otro valor relacionado explicado anteriormente o en la presente descripción para citar un rango con los valores que representan los extremos superior e inferior del rango, y tales rangos están incluidos dentro del alcance de la presente descripción. Cada uno de los valores analizados anteriormente o en la presente puede expresarse con una variación del 1 %, 5 %, 10 % o 20 %. Por ejemplo, una concentración de 10 mM puede expresarse como 10 mM $\pm$ 0,1 mM (variación del 1 %), 10 mM $\pm$ 0,5 mM (variación del 5 %), 10 mM $\pm$ 1 mM (variación del 10 %) o 10 mM $\pm$ 2 mM (variación del 20 %).

Otras modalidades serán evidentes a partir de una revisión de la descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra la viscosidad dependiente del pH de un anticuerpo anti-IL-33 (mAb1) a 150 mg/ml.

La Figura 2 muestra la viscosidad de un anticuerpo anti-IL-33 (mAb1) a 150 mg/ml con diferentes concentraciones de modificadores de la viscosidad.

La Figura 3 muestra el efecto de varios modificadores de la viscosidad sobre la estabilidad de un anticuerpo anti-IL-33 (mAb1) incubado a 37 °C durante 34 días. Para mayor claridad, los puntos en el extremo derecho de la figura 3 están ordenados, de arriba a abajo: F13, F4, F12, F3, F2, F7, F1, F5, F8, F6 y F9.

La Figura 4A ilustra el impacto de los parámetros de la formulación sobre la viscosidad de un anticuerpo anti-IL-33 (mAb1).

La Figura 4B ilustra el impacto de los parámetros de la formulación sobre la formación de variantes de alto peso molecular (HMW) de un anticuerpo anti-IL-33 (mAb1).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir la presente invención, se debe entender que esta invención no se limita a los métodos particulares ni a las condiciones experimentales que se describen, ya que estos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en la presente tiene el propósito de describir modalidades

particulares solamente, y no pretende ser limitativa, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que entiende comúnmente una persona experta en la técnica a la que pertenece esta invención. Como se usa en la presente, la expresión "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor o rango de valores numéricos descritos en particular, significa que el valor puede variar con respecto al valor descrito en no más de 1 %. Por ejemplo, como se usa en la presente, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque cualquier método y material similares o equivalentes a los descritos en la presente pueden usarse en la práctica o en las pruebas de la presente invención, ahora se describen métodos y materiales ilustrativos. Todas las patentes, solicitudes y publicaciones que no son patentes mencionadas en esta descripción se incorporan en la presente por referencia en su totalidad.

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Como se usa en la presente, la expresión "formulación farmacéutica" significa una combinación de al menos un ingrediente activo (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-33, etc. que puede ejercer un efecto biológico en un ser humano o un animal no humano), y al menos un ingrediente inactivo que, cuando se combina con el ingrediente activo y/o uno o más ingredientes inactivos adicionales, es adecuado para la administración terapéutica a un ser humano o un animal no humano. El término "formulación", como se usa en la presente, significa "formulación farmacéutica" a menos que se indique específicamente lo contrario. La presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido terapéutico. De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, el polipéptido terapéutico es un anticuerpo que se une específicamente a la interleucina 33 humana (hIL-33) o un fragmento de unión a antígeno de este. Más específicamente, la presente invención incluye formulaciones farmacéuticas que comprenden: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33; (ii) un tampón; (iii) un estabilizador térmico; (iv) un tensioactivo (también codisolvente orgánico o estabilizador de interfase); y (v) un modificador de la viscosidad. Pueden incluirse componentes adicionales en las formulaciones de la presente invención si dichos componentes no interfieren significativamente con la viscosidad y estabilidad de la formulación. Los componentes y

formulaciones ilustrativos específicos que se incluyen en la presente invención se describen en detalle a continuación.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden, en determinadas modalidades, ser formulaciones fluidas. Como se usa en la presente, la expresión "formulación fluida" significa una mezcla de al menos dos componentes que existe predominantemente en el estado fluido de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 45 °C. Las formulaciones fluidas incluyen, entre otras, formulaciones líquidas. Las formulaciones fluidas pueden ser de viscosidad baja, moderada o alta en dependencia de sus constituyentes particulares.

ANTICUERPOS QUE SE UNEN ESPECÍFICAMENTE A IL-33 HUMANA

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender un anticuerpo humano, o un fragmento de unión a antígeno de este, que se une específicamente a hIL-33. Como se usa en la presente, el término "hIL-33" se refiere a una proteína IL-33 humana.

El término "anticuerpo", como se usa en la presente, generalmente se refiere a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como sus multímeros (por ejemplo, IgM); sin embargo, las moléculas de inmunoglobulina que consisten únicamente en cadenas pesadas (es decir, que carecen de cadenas ligeras) también están incluidas en la definición del término "anticuerpo". Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente como HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en la presente como LCVR o V_L) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones V_H y V_L también se pueden subdividir en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones de marco (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el terminal amino hasta el terminal carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

En determinadas modalidades de la invención, los anticuerpos anti-IL-33 de la invención son anticuerpos humanos. La expresión "anticuerpo humano", como se usa en la presente, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los

anticuerpos humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas mediante mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y en la CDR3 en particular. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se usa en la presente, no pretende incluir anticuerpos en donde las secuencias de CDR que derivan de la línea germinal de otras especies de mamíferos, como ratón, se injertaron en secuencias de marco humanas. En varias modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 es un anticuerpo IgG humano. En varias modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 es un anticuerpo humano de isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, o isotipo mixto. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 es un anticuerpo IgG1 humano. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 es un anticuerpo IgG4 humano. En cualquiera de las modalidades analizadas anteriormente o en la presente, el anticuerpo anti-IL-33 puede comprender una cadena ligera kappa humana. En cualquiera de las modalidades analizadas anteriormente o en la presente, el anticuerpo anti-IL-33 puede comprender una cadena ligera lambda humana.

En algunas modalidades, los anticuerpos de la invención pueden ser anticuerpos humanos recombinantes. La expresión "anticuerpo humano recombinante", como se usa en la presente, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados mediante el uso de un vector de expresión recombinante transfectado en una célula huésped, anticuerpos aislados de una colección de anticuerpos humanos combinatorios recombinantes, anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para los genes de inmunoglobulina humana (ver, por ejemplo, Taylor y otros (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o los anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el empalme de secuencias de genes de inmunoglobulina humana a otras secuencias de ADN. Tales anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En determinadas modalidades, sin embargo, tales anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para las secuencias de Ig humanas, mutagénesis somática *in vivo*) y, por ello, las secuencias de los aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque derivan de secuencias V_H y V_L de la línea germinal humana y se relacionan con ellas, es posible que no existan de manera natural en el repertorio de la línea germinal de

anticuerpos humanos *in vivo*.

Los términos "porción de unión al antígeno" o "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción del anticuerpo" o "fragmento del anticuerpo"), como se usa en la presente, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a hIL-33.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en la presente, se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a hIL-33 está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos que no son hIL-33).

El término "se une específicamente", o similar, significa que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica se puede caracterizar por una constante de disociación de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M o mayor. Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmones superficiales y similares. Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a hIL-33 puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, como moléculas IL-33 de otras especies (ortólogas). En el contexto de la presente invención, se considera que los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) que se unen a hIL-33 así como uno o más antígenos adicionales se "unen específicamente" a hIL-33. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otros productos químicos y/o materiales celulares.

En el documento WO 2014/164959 se describen ejemplos de anticuerpos anti-hIL-33 que pueden incluirse en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, cuya descripción se incorpora como referencia en su totalidad.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, el anticuerpo anti-hIL-33, o un fragmento de unión a antígeno de este, comprende regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada HCDR1-HCDR2-HCDR3, respectivamente, que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 4-6-8. De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, el anticuerpo anti-hIL-33, o un fragmento de unión a antígeno de este, comprende regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera LCDR1-LCDR2-LCDR3, respectivamente, que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 12-14-16.

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-hIL-33, o un fragmento de unión a antígeno de este, comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-hIL-33, o un fragmento de unión a antígeno de este, comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-hIL-33, o un fragmento de unión a antígeno de este, comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2/10. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 comprende una HCVR/LCVR que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 2/10, respectivamente, y una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 comprende una HCVR/LCVR que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 2/10, respectivamente, y una región constante de cadena pesada de IgG4 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 comprende una HCVR/LCVR que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 2/10, respectivamente, y una región constante de cadena pesada de IgG humana. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 comprende una HCVR/LCVR que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 2/10, respectivamente, y una región constante de cadena pesada de IgG1 o IgG4 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-IL-33 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20. Un anticuerpo anti-IL-33 con una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 se denomina en la presente mAb1. Este anticuerpo tiene una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20.

La cantidad de anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de este, contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción puede variar en función de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como de las circunstancias y propósitos particulares para los que se pretende usar las formulaciones. En determinadas modalidades, las formulaciones farmacéuticas pueden contener de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 500 mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente 5 mg/ml a aproximadamente 400 mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente 5 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de anticuerpo; de

aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 180 mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml; de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; o de aproximadamente 140 mg/ml a aproximadamente 160 mg/ml de anticuerpo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden ser formulaciones líquidas que comprenden aproximadamente 1 mg/ml; aproximadamente 2 mg/ml; aproximadamente 5 mg/ml; aproximadamente 10 mg/ml; aproximadamente 15 mg/ml; aproximadamente 20 mg/ml; aproximadamente 25 mg/ml; aproximadamente 30 mg/ml; aproximadamente 35 mg/ml; aproximadamente 40 mg/ml; aproximadamente 45 mg/ml; aproximadamente 50 mg/ml; aproximadamente 55 mg/ml; aproximadamente 60 mg/ml; aproximadamente 65 mg/ml; aproximadamente 70 mg/ml; aproximadamente 75 mg/ml; aproximadamente 80 mg/ml; aproximadamente 85 mg/ml; aproximadamente 90 mg/ml; aproximadamente 95 mg/ml; aproximadamente 100 mg/ml; aproximadamente 105 mg/ml; aproximadamente 110 mg/ml; aproximadamente 115 mg/ml; aproximadamente 120 mg/ml; aproximadamente 125 mg/ml; aproximadamente 130 mg/ml; aproximadamente 131 mg/ml; aproximadamente 132 mg/ml; aproximadamente 133 mg/ml; aproximadamente 134 mg/ml; aproximadamente 135 mg/ml; aproximadamente 140 mg/ml; aproximadamente 145 mg/ml; aproximadamente 150 mg/ml; aproximadamente 155 mg/ml; aproximadamente 160 mg/ml; aproximadamente 165 mg/ml; aproximadamente 170 mg/ml; aproximadamente 175 mg/ml; aproximadamente 180 mg/ml; aproximadamente 185 mg/ml; aproximadamente 190 mg/ml; aproximadamente 195 mg/ml; o aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de este, que se une específicamente a hIL-33. En determinadas modalidades, las formulaciones farmacéuticas son formulaciones líquidas que pueden contener $5 \pm 0,75$ mg/ml hasta $150 \pm 22,5$ mg/ml de anticuerpo; $7,5 \pm 1,125$ mg/ml hasta 140 ± 21 mg/ml de anticuerpo; $10 \pm 1,5$ mg/ml hasta $130 \pm 19,5$ mg/ml de anticuerpo; $12,5 \pm 1,875$ mg/ml hasta 120 ± 18 mg/ml de anticuerpo; $15 \pm 2,25$ mg/ml hasta $110 \pm 16,5$ mg/ml de anticuerpo; $17,5 \pm 2,625$ mg/ml hasta 100 ± 15 mg/ml de anticuerpo; 20 ± 3 mg/ml hasta $90 \pm 13,5$ mg/ml de anticuerpo; $22,5 \pm 3,375$ mg/ml hasta 80 ± 12 mg/ml de anticuerpo; $25 \pm 3,75$ mg/ml hasta $70 \pm 10,5$ mg/ml de anticuerpo; $27,5 \pm 4,125$ mg/ml hasta 60 ± 9 mg/ml de anticuerpo; $30 \pm 4,5$ mg/ml hasta $50 \pm 7,5$ mg/ml de anticuerpo; $25 \pm 3,75$ mg/ml de anticuerpo; o $50 \pm 7,5$ mg/ml. En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas contienen de $15 \pm 0,15$ mg/ml a $150 \pm 1,5$ mg/ml del

anticuerpo anti-IL-33. En algunos casos, las formulaciones farmacéuticas contienen 75 mg/ml $\pm$ 3,75 mg/ml del anticuerpo anti-IL-33. En algunos casos, las formulaciones farmacéuticas contienen 150 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml del anticuerpo anti-IL-33.

Bioequivalentes

La presente invención abarca anticuerpos que tienen secuencias de aminoácidos que varían con respecto a las de las moléculas ilustrativas descritas en la presente, pero que retienen la capacidad de unirse a hIL-33. Tales moléculas variantes pueden comprender una o más adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos cuando se comparan con la secuencia de origen, pero presentan actividad biológica que es esencialmente equivalente a la de los anticuerpos analizados en la presente.

La presente invención incluye las moléculas de unión a antígeno que son bioequivalentes a cualquiera de los anticuerpos ilustrativos que se exponen en la presente. Dos anticuerpos se consideran bioequivalentes si, por ejemplo, son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya velocidad y grado de absorción no muestran una diferencia significativa cuando se administran en la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, ya sea dosis unitarias o dosis múltiples. Algunos anticuerpos se considerarán equivalentes o alternativas farmacéuticas si son equivalentes en el grado de su absorción pero no en su velocidad de absorción y, sin embargo, se pueden considerar bioequivalentes debido a que tales diferencias en la velocidad de absorción son intencionales y se reflejan en el etiquetado, no son esenciales para lograr concentraciones eficaces del fármaco en el cuerpo, por ejemplo, en el uso crónico, y no se consideran significativas desde el punto de vista médico para el producto farmacéutico estudiado en cuestión.

En una modalidad, dos anticuerpos son bioequivalentes si no hay diferencias clínicamente significativas en cuanto a su seguridad, pureza y potencia.

En una modalidad, dos anticuerpos son bioequivalentes si un paciente puede cambiar una o más veces entre el producto de referencia y el producto biológico sin un aumento esperado del riesgo de efectos adversos, que incluyen un cambio clínicamente significativo en la inmunogenicidad, o una efectividad disminuida, en comparación con el tratamiento continuado sin dicho cambio.

La bioequivalencia se puede demostrar mediante métodos *in vivo* e *in vitro*. Las medidas de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos, en donde la concentración del anticuerpo o sus metabolitos se mide en sangre, plasma, suero u otro fluido biológico en función del tiempo; (b) una prueba *in vitro* que se correlaciona con y es razonablemente predictiva de los datos de

biodisponibilidad *in vivo* en humanos; (c) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos en donde el efecto farmacológico agudo adecuado del anticuerpo (o su objetivo) se mide como una función del tiempo; y (d) en un ensayo clínico bien controlado que establece la seguridad, eficacia, o biodisponibilidad o bioequivalencia de una proteína de unión al antígeno.

EXCIPIENTES DE LA FORMULACIÓN y pH

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción comprenden uno o más excipientes. El término "excipiente", como se usa en la presente, significa cualquier agente no terapéutico agregado a la formulación para proporcionar una consistencia, viscosidad o efecto estabilizador deseados.

En determinadas modalidades, la formulación farmacéutica de la invención comprende al menos un aminoácido (por ejemplo, arginina, histidina o ácido glutámico). En algunas modalidades, el aminoácido es arginina. En algunas modalidades, la arginina se proporciona en forma de clorhidrato de arginina. En algunas modalidades, el aminoácido es una combinación de arginina y ácido glutámico. En algunos casos, el aminoácido (por ejemplo, arginina) actúa como un modificador de la viscosidad para las formulaciones de anticuerpos anti-IL-33.

La cantidad del aminoácido contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede variar en función de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como de las circunstancias y propósitos particulares para los que se pretende usar las formulaciones. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 200 mM de un aminoácido; de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 150 mM; de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 125 mM de un aminoácido; de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 100 mM de un aminoácido; de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM de un aminoácido; de aproximadamente 60 mM a aproximadamente 80 mM de un aminoácido; o de aproximadamente 65 mM a aproximadamente 75 mM de un aminoácido. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender aproximadamente 1 mM; 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; aproximadamente 55 mM; aproximadamente 60 mM; aproximadamente 65 mM; aproximadamente 70 mM; aproximadamente 75 mM; aproximadamente 80 mM; aproximadamente 85 mM;

aproximadamente 90 mM; aproximadamente 95 mM; aproximadamente 100 mM; aproximadamente 105 mM; aproximadamente 110 mM; aproximadamente 115 mM; aproximadamente 120 mM; o aproximadamente 125 mM de un aminoácido (por ejemplo, arginina). En algunas modalidades, las formulaciones contienen aproximadamente 70 mM de un aminoácido (por ejemplo, arginina).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender uno o más carbohidratos, por ejemplo, uno o más azúcares. El azúcar puede ser un azúcar reductor o un azúcar no reductor. Los "azúcares reductores" incluyen, por ejemplo, azúcares con un grupo cetona o aldehído y contienen un grupo hemiacetal reactivo, que permite que el azúcar actúe como agente reductor. Los ejemplos específicos de azúcares reductores incluyen fructosa, glucosa, gliceraldehído, lactosa, arabinosa, manosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa y maltosa. Los azúcares no reductores pueden comprender un carbono anomérico que es un acetal y no es sustancialmente reactivo con aminoácidos o polipéptidos para iniciar una reacción de Maillard. Los ejemplos específicos de azúcares no reductores incluyen sacarosa, trehalosa, sorbosa, sucralosa, melezitosa y rafinosa. Los ácidos de azúcar incluyen, por ejemplo, ácidos sacáricos, gluconato y otros polihidroxiazúcares y sales de estos. En algunas modalidades, el azúcar es sacarosa. En algunos casos, el azúcar (por ejemplo, sacarosa) actúa como estabilizador térmico para el anticuerpo anti-IL-33.

La cantidad de azúcar (por ejemplo, sacarosa) contenida en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención variará dependiendo de las circunstancias específicas y los propósitos previstos para los que se usan las formulaciones. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 20 % de azúcar; aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 20 % de azúcar; aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % de azúcar; aproximadamente 2 % a aproximadamente 15 % de azúcar; aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 % de azúcar; aproximadamente 3 % a aproximadamente 7 % de azúcar; o aproximadamente 4 % a aproximadamente 6 % de azúcar. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender aproximadamente 0,5 %; aproximadamente 1,0 %; aproximadamente 1,5 %; aproximadamente 2,0 %; aproximadamente 2,5 %; aproximadamente 3,0 %; aproximadamente 3,5 %; aproximadamente 4,0 %; aproximadamente 4,5 %; aproximadamente 5,0 %; aproximadamente 5,5 %; aproximadamente 6,0 %; aproximadamente 6,5 %; aproximadamente 7,0 %; aproximadamente 7,5 %; aproximadamente 8,0 %; aproximadamente 8,5 %; aproximadamente 9,0 %;

aproximadamente 9,5 %; aproximadamente 10,0 %; aproximadamente 15 %; o aproximadamente 20 % de azúcar (por ejemplo, sacarosa). En algunas modalidades, las formulaciones contienen aproximadamente un 5 % de azúcar (por ejemplo, sacarosa).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender uno o más codisolventes orgánicos (o estabilizador de interfase) en un tipo y en una cantidad que estabiliza el anticuerpo anti-IL-33 en condiciones de manipulación o agitación bruscas, tales como, por ejemplo, agitación orbital. En algunas modalidades, el codisolvente orgánico es un tensioactivo. Como se usa en la presente, el término "tensioactivo" significa una sustancia que reduce la tensión superficial de un fluido en el que se disuelve y/o reduce la tensión de la interfase entre el aceite y el agua. Los tensioactivos pueden ser iónicos o no iónicos. Ejemplos de tensioactivos no iónicos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, alquil poli(óxido de etileno), alquil poliglucósidos (por ejemplo, octil glucósido y decil maltósido), alcoholes grasos tales como alcohol cetílico y alcohol oleílico, cocamida MEA, cocamida DEA y cocamida TEA. Los tensioactivos no iónicos específicos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, polisorbato 20, polisorbato 28, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81 y polisorbato 85; poloxámeros tales como poloxámero 188 (también conocido como Pluronic F68), poloxámero 407; polietilenglicol; o polietilenglicol (PEG). El polisorbato 20 también se conoce como TWEEN 20, monolaurato de sorbitán y monolaurato de polioxietilensorbitán. En algunas modalidades, el tensioactivo es polisorbato 80.

La cantidad del tensioactivo contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede variar en función de las propiedades específicas que se desean de las formulaciones, así como de las circunstancias y propósitos particulares para los que se pretende usar las formulaciones. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 5 % de tensioactivo; de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 0,15 % de tensioactivo; de aproximadamente 0,04 % a aproximadamente 0,12 %; de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 0,11 % de tensioactivo; de aproximadamente 0,06 % a aproximadamente 0,1 % de tensioactivo; o de aproximadamente 0,07 % a aproximadamente 0,09 % de tensioactivo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden comprender aproximadamente 0,05 %; aproximadamente 0,06 %; aproximadamente 0,07 %; aproximadamente 0,08 %;

aproximadamente 0,09 %; aproximadamente 0,10 %; aproximadamente 0,11 %; aproximadamente 0,12 %; aproximadamente 0,13 %; aproximadamente 0,14 %; aproximadamente 0,15 %; aproximadamente 0,16 %; aproximadamente 0,17 %; aproximadamente 0,18 %; aproximadamente 0,19 %; aproximadamente 0,20 %; aproximadamente 0,21 %; aproximadamente 0,22 %; aproximadamente 0,23 %; aproximadamente 0,24 %; aproximadamente 0,25 %; aproximadamente 0,26 %; aproximadamente 0,27 %; aproximadamente 0,28 %; aproximadamente 0,29 %; o aproximadamente 0,30 % de tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 80). En algunas modalidades, las formulaciones contienen aproximadamente 0,08 % de tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 80). Cada uno de los porcentajes indicados anteriormente corresponde a un por ciento de peso/volumen (p/v).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender un tampón o un sistema tampón, que sirve para mantener un pH estable y para ayudar a estabilizar el anticuerpo anti-IL-33. En algunas modalidades, el tampón o sistema tampón comprende al menos un tampón que tiene un rango de tamponado que se solapa total o parcialmente con el rango de pH de 4,9 a 5,7. En determinadas modalidades, el tampón comprende un tampón de histidina. En determinadas modalidades, el tampón es un tampón de acetato. En determinadas modalidades, el tampón (por ejemplo, acetato) está presente en una concentración de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; aproximadamente 3 mM a aproximadamente 18 mM; aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; o aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM. En algunas modalidades, el tampón (por ejemplo, acetato) está presente en una concentración de 5,3 mM $\pm$ 0,3 mM, 5,3 mM $\pm$ 0,2 mM o 5,3 mM $\pm$ 0,1 mM. En algunas modalidades, los tampones están presentes en una concentración de aproximadamente 4,6 mM; aproximadamente 4,7 mM; aproximadamente 4,8 mM; aproximadamente 4,9 mM; aproximadamente 5,0 mM; aproximadamente 5,1 mM; aproximadamente 5,2 mM; aproximadamente 5,3 mM; aproximadamente 5,4 mM; aproximadamente 5,5 mM; aproximadamente 5,6 mM; aproximadamente 5,7 mM; aproximadamente 5,8 mM; aproximadamente 5,9 mM; o aproximadamente 6,0 mM.

FORMULACIONES ILUSTRATIVAS

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 (por ejemplo, mAb1); (ii) un tampón (por ejemplo, acetato); (iii) un aminoácido (por ejemplo,

arginina); (iv) un estabilizador térmico (por ejemplo, sacarosa); y (v) un codisolvente orgánico (por ejemplo, polisorbato 80).

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 (por ejemplo, mAb1) a una concentración de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml; (ii) un tampón (por ejemplo, acetato) a una concentración de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; (iii) un aminoácido (por ejemplo, arginina) a una concentración de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 110 mM; (iv) un estabilizador térmico (por ejemplo, sacarosa) a una concentración de aproximadamente 1 % p/v a aproximadamente 10 % p/v; y (v) un codisolvente orgánico (por ejemplo, polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,01 % p/v a aproximadamente 0,15 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 (por ejemplo, mAb1) a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) un tampón (por ejemplo, acetato) a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) un aminoácido (por ejemplo, arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) un estabilizador térmico (por ejemplo, sacarosa) a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) un codisolvente orgánico (por ejemplo, polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) un tampón (por ejemplo, acetato) a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) un aminoácido (por ejemplo, arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) un estabilizador térmico (por ejemplo, sacarosa) a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) un codisolvente orgánico (por ejemplo, polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG1; (ii) un tampón (por ejemplo, acetato) a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) un aminoácido (por ejemplo, arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) un estabilizador térmico (por ejemplo, sacarosa) a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) un codisolvente orgánico (por ejemplo, polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG4; (ii) un tampón (por ejemplo, acetato) a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) un aminoácido (por ejemplo, arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) un estabilizador térmico (por ejemplo, sacarosa) a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) un codisolvente orgánico (por ejemplo, polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) un tampón (por ejemplo, acetato) a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) un aminoácido (por ejemplo, arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) un estabilizador térmico (por ejemplo, sacarosa) a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) un codisolvente orgánico (por ejemplo, polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG1; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG4; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena

ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 90 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 3 % p/v a aproximadamente 7 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,11 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 65 mM a aproximadamente 75 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 4 % p/v a aproximadamente 6 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,07 % p/v a aproximadamente 0,09 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG1; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 65 mM a aproximadamente 75 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 4 % p/v a aproximadamente 6 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,07 % p/v a aproximadamente 0,09 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG4; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) arginina (por

ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 65 mM a aproximadamente 75 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 4 % p/v a aproximadamente 6 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,07 % p/v a aproximadamente 0,09 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 65 mM a aproximadamente 75 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 4 % p/v a aproximadamente 6 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,07 % p/v a aproximadamente 0,09 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 10 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 70 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,08 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG1; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 10 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 70 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,08 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, en donde el anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada del isotipo IgG4; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 10 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 70 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,08 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a una concentración de aproximadamente 10 mM; (iii) arginina (por ejemplo, clorhidrato de arginina) a una concentración de aproximadamente 70 mM; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v; y (v) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,08 % p/v.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml $\pm$ 1,5 mg/ml; -(ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 75 mg/ml $\pm$ 5 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región constante de cadena pesada de IgG4 humana a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región constante de cadena pesada de IgG4 humana a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml $\pm$ 1,5 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región constante de cadena pesada de IgG4 humana a una concentración de aproximadamente 75 mg/ml $\pm$ 5 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una región constante de cadena pesada de IgG4 humana a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml $\pm$ 1,5 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a

aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 75 mg/ml $\pm$ 5 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-33 y comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) clorhidrato de arginina a aproximadamente 70 mM $\pm$ 7 mM (iv) sacarosa a aproximadamente 5 % p/v $\pm$ 0,5 % p/v; y (iv) polisorbato 80 a aproximadamente 0,08 % $\pm$ 0,008 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,3 $\pm$ 0,1.

Otros ejemplos no limitantes de las formulaciones farmacéuticas abarcadas por la presente invención se exponen en otra parte de la presente, incluidos los ejemplos de trabajo presentados más adelante.

ESTABILIDAD Y VISCOSIDAD DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención presentan altos niveles de estabilidad. El término "estable", como se usa en la presente en referencia a las formulaciones farmacéuticas, significa que los anticuerpos dentro de las formulaciones farmacéuticas retienen un grado aceptable de la estructura y/o función y/o actividad biológica después del almacenamiento durante un período de tiempo definido. Una formulación puede ser estable incluso aunque el anticuerpo contenido en ella no mantenga el 100 % de su estructura y/o función y/o actividad biológica después del almacenamiento durante un período de tiempo definido. En determinadas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de la estructura y/o función y/o actividad biológica de un

anticuerpo después del almacenamiento durante un período de tiempo definido puede considerarse "estable".

La estabilidad se puede medir, entre otras, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo nativo que queda en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura determinada. El porcentaje de anticuerpo nativo se puede determinar mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de exclusión por tamaño de alta resolución[SE-HPLC]), entre otras. Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa en la presente, significa que al menos 90 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. En determinadas modalidades, al menos aproximadamente el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de la forma nativa del anticuerpo se puede detectar en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura determinada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad puede ser al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 36 meses o más. La temperatura a la que se puede almacenar la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4°-8 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta más de aproximadamente

90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC.

Se pueden usar otros métodos para evaluar la estabilidad de las formulaciones de la presente invención tales como, por ejemplo, calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar la estabilidad térmica, agitación controlada para determinar la estabilidad mecánica y absorbancia a aproximadamente 350 nm o aproximadamente 405 nm para determinar la turbidez de la solución. Por ejemplo, una formulación de la presente invención puede considerarse estable si, después de 6 meses o más de almacenamiento de aproximadamente 5 °C a aproximadamente 25 °C, el cambio en OD₄₀₅ de la formulación es menor que aproximadamente 0,05 (por ejemplo, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, o menos) con respecto a la OD₄₀₅ de la formulación en t = 0.

También se puede usar la medición de la afinidad de unión del anticuerpo a su diana para evaluar la estabilidad. Por ejemplo, una formulación de la presente invención puede considerarse estable si, después del almacenamiento a, por ejemplo, -80 °C, -30 °C, -20 °C, 5 °C, 25 °C, 37 °C, 45 °C, etc., durante un período de tiempo definido (por ejemplo, 14 días a 9 meses), el anticuerpo anti-IL-33 contenido en la formulación se une a hIL-33 con una afinidad que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento. La afinidad de unión se puede determinar mediante cualquier método, como por ejemplo, ELISA o resonancia de plasmones. La actividad biológica puede determinarse mediante un ensayo de actividad de IL-33, tal como al poner en contacto una célula que expresa IL-33 con la formulación que comprende el anticuerpo anti-IL-33. La unión del anticuerpo a dicha célula puede medirse directamente, por ejemplo mediante análisis FACS. Alternativamente, la actividad de la vía descendente del sistema de IL-33 puede medirse en presencia del anticuerpo y compararse con la actividad del sistema de IL-33 en ausencia del anticuerpo.

La estabilidad se puede medir, entre otras, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo que forma un agregado dentro de la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura definida, en

donde la estabilidad es inversamente proporcional al por ciento de agregado que se forma. El porcentaje de anticuerpo agregado se puede determinar, entre otras, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño [SE-HPLC] o cromatografía líquida de ultra resolución de exclusión por tamaño [SE-UPLC]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esa frase en la presente, significa que como máximo el 6 % del anticuerpo está en forma agregada detectado en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. En determinadas modalidades, un grado aceptable de estabilidad significa que como máximo aproximadamente 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se puede detectar en un agregado en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura determinada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad puede ser de al menos 2 semanas, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 36 meses o más. La temperatura a la que se puede almacenar la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4-8 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de nueve meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente 2 %, 1,75 %, 1,5 %, 1,25 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de seis meses de almacenamiento a 25 °C, menos de aproximadamente 2 %, 1,75 %, 1,5 %, 1,25 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta de forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 45 °C, menos de aproximadamente 4 %, 3,5 %, 3 %, 2,5 %, 2 %, 1,5 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta de forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -20 °C, -30 °C o -80 °C menos de aproximadamente 2 %, 1,9 %, 1,75 %, 1,5 %, 1,25 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta de forma agregada.

1,8 %, 1,7 %, 1,6 %, 1,5 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en forma agregada.

La estabilidad se puede medir, entre otras, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo que migra en una fracción más ácida durante el intercambio iónico ("forma ácida") que en la fracción principal de anticuerpo ("forma de carga principal"), en donde la estabilidad es inversamente proporcional a la fracción de anticuerpo en forma ácida. Si bien no se desea estar limitados por la teoría, la desamidación del anticuerpo puede hacer que el anticuerpo se cargue más negativamente y, por lo tanto, se vuelva más ácido en relación con el anticuerpo no desamidado (ver, por ejemplo, Robinson, N., Protein Deamidation, *PNAS*, 16 de abril, 2002, 99(8): 5283-5288). El porcentaje de anticuerpo "acidificado" puede determinarse mediante cromatografía de intercambio iónico (por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico [CEX-HPLC] o cromatografía líquida de ultrarresolución de intercambio catiónico [CEX-UPLC]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esa frase en la presente, significa que como máximo el 52 % del anticuerpo está en una forma más ácida detectada en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura definida. En determinadas modalidades, un grado aceptable de estabilidad significa que como máximo aproximadamente 52 %, 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se puede detectar en forma ácida en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura determinada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad puede ser de al menos 2 semanas, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 36 meses o más. La temperatura a la que se puede almacenar la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4-8 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -80 °C, -30 °C o -20 °C menos de aproximadamente 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en forma ácida.

14 %, 13 %, 12 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo está en una forma más ácida. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de nueve meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo está en una forma más ácida. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 25 °C, menos de aproximadamente 30 %, 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo está en una forma más ácida. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 37 °C, menos de aproximadamente 37 %, 36 %, 35 %, 34 %, 33 %, 32 %, 31 %, 30 %, 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo está en una forma más ácida. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 45 °C, menos de aproximadamente 52 %, 51 %, 50 %, 49 %, 48 %, 47 %, 46 %, 45 %, 44 %, 43 %, 42 %, 41 %, 40 %, 39 %, 38 %, 37 %, 36 %, 35 %, 34 %, 33 %, 32 %, 31 %, 30 %, 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en una forma más ácida.

En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 2 %, no más del 1,9 %, no más del 1,8 %, no más del 1,7 %, no más del 1,6 % o no más del 1,5 % de especies de HMW, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de 24 meses de almacenamiento a -80 °C, -30 °C o -20 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 1 %, no más del 0,9 %, no más del 0,8 %, no más del 0,7 %, no más del 0,6 % o no más del 0,5 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de nueve meses de almacenamiento a -80 °C, -30 °C o -20 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 1 %, no más del 0,9 %, no más del 0,8 %, no más del 0,7 % o no más del 0,6 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de dos

meses de almacenamiento a 5 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 2 %, no más del 1,8 %, no más del 1,6 %, no más del 1,4 %, no más del 1,2 % o no más del 1,0 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de dos meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 6 %, no más del 5,5 %, no más del 5,4 %, no más del 5,3 %, no más del 5,2 % o no más del 5,1 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de dos meses de almacenamiento a 40 °C y 75 % de humedad relativa. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 1 %, no más del 0,9 %, no más del 0,8 % o no más del 0,7 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de nueve meses de almacenamiento a 2-8 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 3 %, no más del 2,8 %, no más del 2,6 %, no más del 2,4 %, no más del 2,2 % o no más del 2,0 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de 24 meses de almacenamiento a 2-8 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 2 %, no más del 1,8 %, no más del 1,6 %, no más del 1,5 %, no más del 1,4 % o no más del 1,3 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de seis meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 1 %, no más del 0,9 %, no más del 0,8 % o no más del 0,7 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de seis meses de almacenamiento a 2-8 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende no más del 1 %, no más del 0,9 %, no más del 0,8 %, no más del 0,7 %, no más del 0,6 % o no más del 0,5 % de especies de HMW, según se mide por SE-UPLC después de tres meses de almacenamiento a 2-8 °C.

En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 97,5 % o al menos 97,9 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de 24 meses de almacenamiento a -80 °C, -30 °C o -20 °C.

En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de nueve meses de almacenamiento a -80 °C, -30 °C o -20 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de dos meses de almacenamiento a 5 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 98,5 % o al menos 98,8 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de dos meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 % o al menos 94,1 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de dos meses de almacenamiento a 40 °C y 75 % de humedad relativa. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de nueve meses de almacenamiento a 2-8 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 97,5 % o al menos 97,6 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de 24 meses de almacenamiento a 2-8 °C. En determinadas modalidades, una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 98,4 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de seis meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa. En determinadas modalidades,

una composición farmacéutica o formulación farmacéutica "estable" de la presente invención comprende al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de la forma nativa del anticuerpo, según se mide por cromatografía líquida de ultrarresolución de exclusión por tamaño (SE-UPLC) después de tres o seis meses de almacenamiento a 2-8 °C.

Las referencias a la estabilidad de las formulaciones farmacéuticas "después" de un período de tiempo específico tienen la intención de significar que la medición de un parámetro de estabilidad (por ejemplo, % de la forma nativa, % de las especies de HMW o % de la forma ácida) se toma al final o aproximadamente al final del período de tiempo específico, y no se pretende que signifique que la formulación farmacéutica mantenga necesariamente el mismo grado de estabilidad para el parámetro medido después de eso. Por ejemplo, la referencia a una estabilidad particular después de 9 meses significa que la medición de la estabilidad se tomó exacta o aproximadamente a los 9 meses después del inicio del estudio. Los métodos adicionales para evaluar la estabilidad de un anticuerpo en la formulación se demuestran en los Ejemplos presentados más adelante.

En forma fluida, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden, en determinadas modalidades, presentar niveles de viscosidad bajos a moderados. "Viscosidad", como se usa en la presente, puede ser "viscosidad cinemática" o "viscosidad absoluta". La "viscosidad cinemática" es una medida del flujo resistivo de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos de igual volumen se colocan en viscosímetros capilares idénticos y se dejan fluir por gravedad, un fluido viscoso tarda más que un fluido menos viscoso en fluir a través del capilar. Por ejemplo, si un fluido tarda 200 segundos en completar su flujo y otro fluido tarda 400 segundos, el segundo fluido es dos veces más viscoso que el primero en una escala de viscosidad cinemática. La "viscosidad absoluta", a veces denominada viscosidad dinámica o simple, es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido (viscosidad absoluta = viscosidad cinemática x densidad). La dimensión de la viscosidad cinemática es L^2/T donde L es una longitud y T es un tiempo. Comúnmente, la viscosidad cinemática se expresa en centistokes (cSt). La unidad SI de viscosidad cinemática es mm^2/s , que es 1 cSt. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad SI de viscosidad absoluta es el miliPascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s.

Como se usa en la presente, un bajo nivel de viscosidad, en referencia a una formulación fluida de la presente invención, presentará una viscosidad absoluta de menos de aproximadamente 20 cPoise (cP) a 20 °C. Por ejemplo, se considerará que una

formulación fluida de la invención tiene "baja viscosidad" si, cuando se mide con el uso de técnicas de medición de viscosidad estándar, la formulación presenta una viscosidad absoluta de aproximadamente 19 cP, aproximadamente 18 cP, aproximadamente 17 cP, aproximadamente 16 cP, aproximadamente 15 cP, aproximadamente 14 cP, aproximadamente 13 cP, aproximadamente 12 cP, aproximadamente 11 cP, aproximadamente 10 cP, aproximadamente 9 cP, aproximadamente 8 cP, aproximadamente 7 cP, aproximadamente 6 cP, aproximadamente 5 cP, aproximadamente 4 cP o menos. Como se usa en la presente, un nivel moderado de viscosidad, en referencia a una formulación fluida de la presente invención, presentará una viscosidad absoluta de entre aproximadamente 30 cP y aproximadamente 20 cP. Por ejemplo, se considerará que una formulación fluida de la invención tiene una "viscosidad moderada" si cuando se mide con el uso de técnicas de medición de viscosidad estándar, la formulación presenta una viscosidad absoluta de aproximadamente 30 cP, aproximadamente 29 cP, aproximadamente 28 cP, aproximadamente 27 cP, aproximadamente 26 cP, aproximadamente 25 cP, aproximadamente 24 cP, aproximadamente 23 cP, aproximadamente 22 cP, aproximadamente 21 cP o aproximadamente 20 cP. Cada uno de estos valores se refiere a una medición realizada a 20 °C.

Como se ilustra en los ejemplos siguientes, la presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que la combinación de los excipientes reivindicados con un anticuerpo anti-IL-33 produce una formulación que es estable y tiene una viscosidad deseable.

RECIPIENTES Y MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar contenidas dentro de cualquier recipiente adecuado para el almacenamiento de productos farmacéuticos y otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de un recipiente de plástico o vidrio sellado y esterilizado que tiene un volumen definido tal como un frasco, ampolla, jeringa, cartucho, botella o bolsa intravenosa. Se pueden usar diferentes tipos de frascos para contener las formulaciones de la presente invención, que incluyen, por ejemplo, frascos de vidrio o plástico transparentes y opacos (por ejemplo, ámbar). Asimismo, se puede usar cualquier tipo de jeringa para contener y/o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica está contenida en una jeringa precargada. En algunas modalidades, la

formulación farmacéutica está contenida en una jeringa precargada con aguja preinstalada.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar contenidas en jeringas con un contenido de "tungsteno normal" o jeringas con un "bajo contenido de tungsteno". Como apreciarán las personas del oficio de nivel medio, el proceso de fabricación de jeringas de vidrio generalmente implica el uso de una varilla de tungsteno caliente que funciona para perforar el vidrio creando así un agujero desde el cual se pueden extraer y expulsar líquidos de la jeringa. Este proceso da como resultado la deposición de pequeñas cantidades de tungsteno en la superficie interior de la jeringa. El lavado posterior y otras etapas de procesamiento se pueden usar para reducir la cantidad de tungsteno en la jeringa. Como se usa en la presente, el término "contenido normal de tungsteno" significa que la jeringa contiene más de 500 partes por mil millones (ppb) de tungsteno. El término "bajo contenido de tungsteno" significa que la jeringa contiene menos de 500 ppb de tungsteno. Por ejemplo, una jeringa con bajo contenido de tungsteno, de acuerdo con la presente invención, puede contener menos de aproximadamente 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 o menos ppb de tungsteno.

Los émbolos de caucho que se usan en las jeringas, y los tapones de caucho que se usan para cerrar las aberturas de los frascos, pueden estar recubiertos para evitar la contaminación del contenido medicinal de la jeringa o frasco y/o para preservar su estabilidad. Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, de acuerdo con determinadas modalidades, pueden estar contenidas dentro de una jeringa que comprende un émbolo recubierto, o dentro de un frasco que está sellado con un tapón de caucho recubierto. Por ejemplo, el émbolo o el tapón pueden estar recubiertos con una película de fluorocarbono. Los ejemplos de tapones o émbolos recubiertos adecuados para su uso con frascos y jeringas que contienen las formulaciones farmacéuticas de la presente invención se mencionan, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos núm. 4,997,423; 5,908,686; 6,286,699; 6,645,635; y 7,226,554, cuyos contenidos se incorporan en la presente como referencia en su totalidad. Los tapones y émbolos de caucho recubiertos ilustrativos particulares que se pueden usar en el contexto de la presente invención están disponibles en el mercado con el nombre comercial "FluroTec®", disponible a través de West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA). De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de una jeringa con bajo contenido de tungsteno que comprende un émbolo recubierto con fluorocarbono. En

algunas modalidades, el recipiente es una jeringa, como una jeringa Ompi EZ-Fill™ o una jeringa BD Neopak™. En algunos casos, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml con un pistón iWest de 1 ml, una aguja de pared delgada 27G y un protector de aguja FM30 o un protector de aguja BD260. En algunos casos, la jeringa es una jeringa de vidrio de 2,25 ml con un pistón West NovaPure™ de 1-3 ml, una aguja de pared delgada 27G y un protector de aguja FM30 o un protector de aguja BD260. En varias modalidades, la jeringa es una jeringa de 0,5 ml, 0,6 ml, 0,7 ml, 0,8 ml, 0,9 ml, 1,0 ml, 1,1 ml, 1,2 ml, 1,3 ml, 1,4 ml, 1,5 ml, 1,6 ml, 1,7 ml, 1,8 ml, 1,9 ml, 2,0 ml, 2,1 ml, 2,2 ml, 2,3 ml, 2,4 ml, 2,5 ml, 2,6 ml, 2,7 ml, 2,8 ml, 2,9 ml, 3,0 ml, 3,5 ml, 4,0 ml, 4,5 ml, 5,0 ml, 5,5 ml, 6,0 ml, 6,5 ml, 7,0 ml, 7,5 ml, 8,0 ml, 8,5 ml, 9,0 ml, 9,5 ml o 10 ml (por ejemplo, una jeringa de vidrio).

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente por vías parenterales tales como inyección (por ejemplo, vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o administración percutánea, mucosal, nasal, pulmonar y/u oral. Se pueden usar numerosos dispositivos de administración tipo pluma de inyección o autoinyector reutilizables para administrar de manera subcutánea las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RN), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar algunos. Los ejemplos de dispositivos de administración tipo pluma de inyección y/o autoinyectores desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, pluma SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), el FLEXPEN™ (Novo Nordisk), y el KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.), y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL), por nombrar algunos. En algunos casos, la formulación farmacéutica está contenida en una jeringa específicamente adaptada para su uso con un autoinyector. Las inyecciones subcutáneas se pueden administrar con una aguja de calibre 20-30 o una aguja de calibre 25-30. En algunos casos, las inyecciones subcutáneas se pueden administrar con una aguja de calibre 25. En algunos casos, las

inyecciones subcutáneas se pueden administrar con una aguja de calibre 27. En algunos casos, las inyecciones subcutáneas se pueden administrar con una aguja de calibre 29. Otro tipo de dispositivo de administración puede incluir un sistema de seguridad. Dichos dispositivos pueden ser relativamente económicos y funcionar para extender manual o automáticamente una cámara de seguridad sobre una aguja una vez que se completa la inyección. Los ejemplos de sistemas de seguridad pueden incluir el dispositivo ERIS de West Pharmaceutical o el dispositivo UltraSafe de Becton Dickinson. Además, también se contempla en la presente el uso de un dispositivo de gran volumen ("LVD"), o inyector de bolo, para administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. En algunos casos, el inyector de bolo o LVD puede configurarse para inyectar un producto farmacéutico a un paciente. Por ejemplo, un inyector de bolo o LVD puede configurarse para administrar un volumen "grande" de producto farmacéutico (típicamente de aproximadamente 2 ml a aproximadamente 10 ml).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden estar contenidas en una forma farmacéutica unitaria. El término "forma farmacéutica unitaria", como se usa en la presente, se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada como dosis unitaria para el paciente que se va a tratar, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo, diluyente o excipiente farmacéutico requerido. En varias modalidades, la forma farmacéutica unitaria está contenida dentro de un recipiente como se analiza en la presente. Los niveles de dosificación reales del ingrediente activo (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-33) en las formulaciones de la presente invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un determinado paciente, composición y modo de administración, sin efectos adversos para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos que incluyen la actividad de las composiciones particulares de la presente invención empleadas, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto particular que se emplea, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, estado, salud general e historial médico previo del paciente que está siendo tratado, y factores similares bien conocidos en la técnica médica. El término "diluyente" como se usa en la presente se refiere a una solución adecuada para alterar o lograr una concentración o concentraciones ilustrativas o apropiadas como se describe en la presente.

En varias modalidades, la forma farmacéutica unitaria contiene una cantidad del ingrediente activo (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-33) destinada a un solo uso. En varias modalidades, la cantidad del ingrediente activo en la forma farmacéutica unitaria es de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5000 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1000 mg, y de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 350 mg, de aproximadamente 125 mg a aproximadamente 175 mg, de aproximadamente 275 mg a aproximadamente 325 mg, o rangos o intervalos de estos. También se pretende que sean parte de esta invención los rangos intermedios a las cantidades mencionadas anteriormente, por ejemplo, de aproximadamente 135 mg a aproximadamente 165 mg o de 285 mg a 315 mg. Por ejemplo, se pretende que se incluyan los rangos de valores que utilizan una combinación de cualquiera de los valores mencionados anteriormente (o valores contenidos dentro de los rangos mencionados anteriormente) como límites superior y/o inferior. En una modalidad particular, la formulación a menudo se suministra como un líquido en una forma farmacéutica unitaria. En algunas modalidades, la forma farmacéutica unitaria contiene aproximadamente 150 mg. En algunas modalidades, la forma farmacéutica unitaria contiene aproximadamente 300 mg. En algunas modalidades, una forma farmacéutica unitaria de acuerdo con la presente invención es adecuada para la administración subcutánea a un paciente. La presente invención también incluye métodos para preparar una forma farmacéutica unitaria. En una modalidad ilustrativa, un método para preparar una forma farmacéutica unitaria de dosificación incluye combinar la formulación de cualquiera de las modalidades anteriores en un recipiente adecuado (por ejemplo, los recipientes analizados en la presente).

USOS TERAPÉUTICOS DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención son útiles, entre otras cosas, para el tratamiento, la prevención y/o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de IL-33. En particular, las formulaciones farmacéuticas de la invención son útiles, entre otras cosas, para el tratamiento, la prevención y/o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado o mediado por la expresión, señalización o actividad de IL-33, o que se puede tratar mediante el bloqueo de la interacción entre IL-33 y un ligando de IL-33 (por ejemplo, ST2) o la inhibición de otro modo de la actividad y/o señalización de IL-33.

Los métodos terapéuticos de la presente invención comprenden administrar a un sujeto cualquier formulación que comprenda un anticuerpo anti-hIL-33 como se describe en la presente. El sujeto al que se administra la formulación farmacéutica puede ser, por ejemplo, cualquier ser humano o animal no humano que necesite dicho tratamiento, prevención y/o mejora, o que se beneficiaría de cualquier otra manera de la inhibición o atenuación de IL-33 y/o la actividad mediada por IL-33. Por ejemplo, el sujeto puede ser un individuo al que se le diagnostica, o que se considera que corre el riesgo de padecer cualquiera de las enfermedades o trastornos mencionados anteriormente. La presente invención incluye además el uso de cualquiera de las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente en la fabricación de un medicamento para el tratamiento, la prevención y/o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de IL-33, que incluyen cualquiera de las enfermedades, trastornos y afecciones ilustrativas mencionadas anteriormente.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona kits que comprenden una formulación farmacéutica (por ejemplo, un recipiente con la formulación o una forma farmacéutica unitaria), como se analiza en la presente, y un empaque o etiquetado (por ejemplo, un prospecto) con instrucciones para usar la formulación farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, como se analizó anteriormente. En algunos casos, las instrucciones proporcionan el uso de una forma farmacéutica unitaria, como se analiza en la presente, para el tratamiento de una enfermedad o trastorno.

Las secuencias analizadas en la presente y mostradas en el listado de secuencias adjunto corresponden a mAb1, un anticuerpo completamente humano con una región constante de cadena pesada de IgG4, que se usa en los siguientes Ejemplos. Las identidades de las secuencias se muestran a continuación.

Tabla de secuencia (SEQ ID NO)

HCVR		HCDR1		HCDR2		HCDR3		Cadena pesada	
ADN	Proteína	ADN	Proteína	ADN	Proteína	ADN	Proteína	ADN	Proteína
1	2	3	4	5	6	7	8	17	18
LCVR		LCDR1		LCDR2		LCDR3		Cadena ligera	
ADN	Proteína	ADN	Proteína	ADN	Proteína	ADN	Proteína	ADN	Proteína
9	10	11	12	13	14	15	16	19	20

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se establecen para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción y divulgación completa de cómo hacer y usar los métodos y las composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es o está cerca de la atmosférica.

Ejemplo 1: Efecto del tampón y el pH sobre la estabilidad de un anticuerpo anti-IL-33

El efecto del tampón y el pH sobre la estabilidad térmica de mAb1 se examinó en formulaciones líquidas mediante la incubación de mAb1 a 5 mg/ml y 45 °C durante 28 días en una serie de sistemas tampón en diferentes rangos de pH. Se estudiaron los siguientes pH y sistemas tampón: acetato (pH 4,5 a 5,5), L-histidina (pH 5,5 a 6,5) y fosfato (pH 6,0 a 7,0). Con base en los resultados del análisis de SE-UPLC, se observó la máxima estabilidad de la proteína cuando mAb1 se formuló entre pH 6,0 y pH 6,5 en tampón de L-histidina. Con base en los resultados del análisis de CEX-UPLC, se observó la máxima estabilidad de la proteína cuando mAb1 se formuló entre pH 5,0 y pH 6,0 en tampón de L-histidina o acetato. Estos análisis también revelaron que la formación de especies de HMW y variantes de carga fueron las principales vías de degradación. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Efecto del tampón y el pH sobre la estabilidad de mAb1 a 5 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días

Formulación		mAb1 a 5 mg/ml, tampón 20 mM						
Volumen de llenado		0,2 ml						
Contenedor/Cierre		Placa CZ de 96 pocillos con tapa C4						
pH/tampón	Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	% de proteína total recuperada por SE-UPLC ^a	Cambio de pureza por SE-UPLC ^b			Cambio en variantes cargadas por CEX-UPLC ^b		
			% HM W	% Na-tivo	% LM W	% Ácido	% Principal	% Básico
pH 4,5, acetato	0,00	104	1,2	-2,2	1,0	16,3	-20,9	4,6
pH 5,0, acetato	0,00	103	2,3	-2,7	0,4	17,7	-19,9	2,2
pH 5,5, acetato	0,00	103	1,7	-1,9	0,2	20,2	-21,1	0,8
pH 5,5, L-histidina	0,00	103	2,0	-2,6	0,6	18,7	-20,3	2,8
pH 6,0, L-histidina	0,00	104	1,2	-1,4	0,2	21,1	-22,3	1,3
pH 6,5, L-histidina	0,00	103	1,2	-1,3	0,1	26,8	-22,1	-4,7
pH 6,0, fosfato	0,00	104	3,3	-3,5	0,2	25,1	-20,9	-4,3
pH 6,5, fosfato	0,01	101	3,6	-3,8	0,2	32,6	-32,2	-0,4
pH 7,0, fosfato	0,11	101	2,6	-3,0	0,5	45,2	-42,2	-3,0

^a El % de recuperación de proteína total se definió como: área del pico total determinada a partir de SE-UPLC en el día 28/área del pico total determinada por SE-UPLC en el día 0 * 100 %.

^b Informado como un cambio en la pureza con respecto al material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 97,2$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 56,5$ % del pico principal por CEX-UPLC en todas las formulaciones.

El efecto del pH y el tampón sobre la estabilidad térmica de mAb1 se examinó en formulaciones líquidas mediante la incubación de mAb1 a 150 mg/ml y 37 °C durante 28 días en una serie de tampones de acetato y L-histidina con un pH de 4,5, 5,0 y 6,0 en presencia de sacarosa al 5 % como estabilizador térmico. Según los resultados del análisis de SE-UPLC para las especies de peso molecular y el análisis de CEX-UPLC para las variantes de carga, la agregación (es decir, la formación de especies de HMW) y la formación de variantes de carga fueron las principales vías de degradación. La estabilidad de mAb1 en pH 5,0 y 6,0 en tampón de L-histidina y pH 5,0 en tampón de acetato es comparable, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2: Efecto del pH y el tampón sobre la estabilidad de mAb1 a 150 mg/ml incubado a 37 °C durante 28 días

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, L-histidina 10 mM o acetato 10 mM, sacarosa al 5 %						
Volumen de llenado	0,3 ml						
Contenedor/Cierre	Frasco de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 ml con tapón de caucho butílico recubierto FluroTec® 4432/50						
pH/tampón	% de proteína total recuperada por SE-UPLC ^a	Cambio de pureza por SE-UPLC ^b			Cambio en variantes cargadas por CEX-UPLC ^b		
		% HMW	% Nativo	% LMW	% Ácido	% Principal	% Básico
pH 6,0 L-histidina	100	1,4	-1,8	0,4	7,8	-8,2	0,4
pH 5,0 L-histidina	97	1,5	-2,0	0,5	5,3	-8,0	2,7
pH 5,0 Acetato	100	1,6	-2,1	0,5	6,0	-8,7	2,7
pH 4,5 Acetato	95	4,3	-5,8	1,5	8,4	-12,5	4,0

^a El % de recuperación de proteína total se definió como: área del pico total determinada a partir de SE-UPLC en el día 28/área del pico total determinada por SE-UPLC en el día 0 * 100 %.

^b Informado como un cambio en la pureza con respecto al material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 89,1$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 64,8$ % del pico principal por CEX-UPLC en todas las formulaciones.

Ejemplo 2: Efecto de los tensioactivos y estabilizadores térmicos sobre la estabilidad de un anticuerpo anti-IL-33

Los efectos de dos tensioactivos, polisorbato 20 al 0,1 % y polisorbato 80 al 0,1 %, sobre la estabilidad térmica de mAb1 a 5 mg/ml se examinaron primero en formulaciones líquidas mediante el uso de un lote de material de investigación. Los resultados del estudio de estabilidad térmica se resumen en la Tabla 3. Cuando se incubó a 45 °C, la adición de polisorbato 20 o polisorbato 80 tuvo un impacto adverso en la estabilidad térmica de mAb1 en relación con una formulación de control que carecía de tensioactivo. Se observaron aumentos en las especies de alto peso molecular y variantes de carga. La adición de polisorbato 80 al 0,1 % provocó un aumento relativo menor en las especies de HMW y la formación de formas variantes de carga, en comparación con la adición de polisorbato 20 al 0,1 %.

Se realizó un estudio adicional para investigar la concentración de polisorbato 80 mediante el uso de un lote de material de investigación representativo a una concentración de mAb1 de 50 mg/ml. Las concentraciones de polisorbato 80 incluidas en el estudio fueron 0 %, 0,01 %, 0,02 %, 0,04 %, 0,06 %, 0,08 % y 0,1 %. Los resultados se resumen en las Tablas 4 y 5. Cuando se agitó durante 60 minutos, se observó un aumento del 0,8 % en el porcentaje relativo de HMW para la muestra que no contenía polisorbato 80 (Tabla 4). La inspección de los cromatogramas de SE-UPLC mostró que este aumento se debió a la formación de un pico de agregado de orden superior que no estaba presente en el material de partida. La adición de $\geq 0,02$ % de polisorbato 80 previno la formación de esta especie agregada después de agitar durante 60 minutos. Cuando se incubó a 45 °C durante 28 días, la estabilidad térmica de mAb1 no se vio afectada por las concentraciones de polisorbato estudiadas (Tabla 5).

mAb1 a 5 mg/ml en una formulación líquida presentó una estabilidad mejorada cuando se formuló con sacarosa al 5 % y se incubó en condiciones aceleradas, como se muestra en la Tabla 3. Después de la incubación a 45 °C durante 28 días, la cantidad relativa de especies de HMW aumentó en un 0,7 % en la formulación que contenía un 5 % de

sacarosa en comparación con un aumento del 1,2 % en la formulación de control sin sacarosa.

Tabla 3: Efecto de los tensioactivos sobre la estabilidad de mAb1 a 5 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días

Formulación		mAb1 a 5 mg/ml, L-histidina 20 mM, pH 6,0							
Volumen de llenado		0,2 ml							
Contenedor/Cierre		Placa CZ de 96 pocillos con tapa C4							
Co-disolvente/ Surfactante	Turbidez (aumen- to de DO a 405 nm)	pH	% de proteína total recupe- rada por SE-UPLC	Cambio de pureza por SE-UPLC ^a			Cambio en las variantes de carga por CEX-UPLC ^{a,b}		
				% HMW	% Nati- vo	% LMW	% Áci- do	% Prin- cipal	% Bási- co
Sin codisolvente/ tensioactivo	0,00	6,0	104	1,2	-1,4	0,2	2,6	-3,9	1,4
Sacarosa al 5 % (p/v), sin codisolvente/ tensioactivo	0,00	6,0	110	0,7	-0,9	0,1	3,8	-5,4	1,6
Sacarosa al 5 % (p/v), polisorbato 20 a 0,1 % (p/v)	0,01	5,9	107	16,6	-16,7	0,2	1,9	-25,0	23,0
Sacarosa al 5 % (p/v), polisorbato 80 a 0,1 % (p/v)	0,01	5,9	109	11,5	-11,9	0,4	5,6	-11,8	6,2

^a Informado como un cambio en la pureza con respecto al material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 97,2$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 57,6$ % del pico principal por CEX-UPLC en las cuatro formulaciones.

^b Los datos se analizaron en el punto de tiempo del día 14 en este estudio porque los cromatogramas de CEX para las formulaciones que contienen polisorbato 20 y polisorbato 80 no pudieron integrarse en el punto de tiempo del día 28 debido a la severa degradación de cada muestra.

Tabla 4: Efecto de la concentración de polisorbato 80 sobre la estabilidad de mAb1 a 50 mg/ml después de la agitación (120 minutos de agitación con vórtex)

Formulación		mAb1 a 50 mg/ml, L-histidina 10 mM, pH 6,0, sacarosa al 5 % (p/v)								
Volumen de llenado		0,4 ml								
Contenedor/ Cierre		frasco de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 ml con un tapón de caucho butílico recubierto FluorTec® 4432/50								
Polisorbato 80	Color y apariencia	Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	pH	% de proteína total recuperada por RP-UPLC	Cambio de pureza por SE-UPLC ^a			Cambio en las variantes de carga por CEX-UPLC ^a		
					% H M W	% Nativo	% LM W	% Ácido	% Principal	% Básico
Sin polisorbato 80	Aprobado	0,01	6,0	96	0,8	-0,8	0,0	-0,2	0,7	-0,5
0,02 % (p/v)	Aprobado	0,00	6,1	97	0,0	0,0	0,0	-0,8	0,8	0,0
0,04 % (p/v)	Aprobado	0,01	6,0	102	0,0	0,0	0,0	0,7	-0,5	-0,1
0,06 % (p/v)	Aprobado	0,01	6,1	99	0,0	0,0	0,0	-0,2	0,2	0,1
0,08 % (p/v)	Aprobado	0,00	6,0	95	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,1 % (p/v)	Aprobado	0,00	6,0	99	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	-0,1

^a Informado como un cambio en la pureza con respecto al material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene 97,9 % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 68,7$ % del pico principal por CEX-UPLC en las seis formulaciones.

Tabla 5: Efecto de la concentración de polisorbato 80 sobre la estabilidad de mAb1 a 50 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días

Formulación			mAb1 a 50 mg/ml, L-histidina 10 mM, pH 6,0, sacarosa al 5 % (p/v)							
Volumen de llenado			0,4 ml							
Contenedor/Cierre			frasco de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 ml con un tapón de caucho butílico recubierto FluorTec® 4432/50							
Polisorbato 80	Color y apariencia	Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	pH	% de proteína total recuperada por RP-UPLC	Cambio de pureza por SE-UPLC ^a			Cambio en las variantes de carga por CEX-UPLC ^a		
					% HMW	% Nativo	% LMW	% Ácido	% Principal	% Básico
Sin PS-80	Aprobado	0,01	6,1	96	3,4	-4,9	1,5	31,7	-32,3	0,6
0,02 % (p/v)	Aprobado	0,01	6,1	96	3,5	-5,0	1,5	31,1	-31,6	0,5
0,04 % (p/v)	Aprobado	0,01	6,1	101	3,5	-5,0	1,5	32,4	-32,9	0,5
0,06 % (p/v)	Aprobado	0,01	6,1	99	3,4	-5,1	1,6	31,6	-32,3	0,8
0,08 % (p/v)	Aprobado	0,01	6,1	96	3,4	-5,0	1,7	30,1	-31,2	1,0
0,1 % (p/v)	Aprobado	0,01	6,1	98	3,6	-5,2	1,6	30,4	-31,0	0,6

^a Informado como un cambio en la pureza con respecto al material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene 97,9 % del pico nativo por SE-UPLC y ≥ 68,7 % del pico principal por CEX-UPLC en las seis formulaciones.

Ejemplo 3: Efecto de los modificadores de la viscosidad sobre la estabilidad de un anticuerpo anti-IL-33

El mAb1 puede estar contenido en una jeringa precargada (PFS) y administrarse a través de un dispositivo de administración, como un autoinyector. La viscosidad se correlaciona con la facilidad de inyección a través de una jeringa precargada (PFS). Mantener una viscosidad razonablemente baja es ventajoso para el desarrollo de un dispositivo de administración, como un autoinyector.

Se examinó el efecto del pH sobre la viscosidad de mAb1 a 150 mg/ml en tampón de L-histidina 10 mM. Como se muestra en la Figura 1, la viscosidad de mAb1 depende en gran medida del pH en el rango de pH de 4,8 a 6,7. Cuanto menor sea el pH, menor será la viscosidad de mAb1. El efecto de los excipientes sobre la viscosidad de la formulación también se examinó en la formulación líquida de mAb1 con los siguientes posibles modificadores de la viscosidad, acetato de sodio, clorhidrato de L-arginina, L-glutamato de sodio y cloruro de magnesio hasta 200 mM. La formulación base contenía mAb1 a 150 mg/ml, acetato 27 mM y sacarosa al 5 % a pH 5,3. Los resultados se muestran en la Figura 2. Todos estos excipientes a 25-150 mM redujeron la viscosidad de mAb1 a 150 mg/ml en 2-5 cP a pH 5,3.

El efecto de los modificadores de la viscosidad sobre la estabilidad de mAb1 a 150 mg/ml también se examinó mediante la incubación de las formulaciones a 37 °C durante 34 días. La formación de especies de HMW fue la principal vía de degradación, y los resultados se ilustran en la Figura 3. En comparación con la formulación de control, que no contenía ningún modificador de la viscosidad, la adición de cloruro de magnesio o acetato de sodio promovió la formación de HMW después de una incubación a 37 °C. Por otro lado, el clorhidrato de L-arginina y el L-glutamato sódico no afectaron negativamente a la estabilidad de mAb1. En cambio, el clorhidrato de L-arginina 75 mM mejoró la estabilidad de mAb1 contra la formación de HMW.

Con base en el efecto reductor de la viscosidad y el impacto sobre la estabilidad térmica, se seleccionó el clorhidrato de L-arginina como el modificador de la viscosidad para las formulaciones de mAb1.

Ejemplo 4: Impacto de los parámetros de formulación sobre la viscosidad y la estabilidad

Se aplicó un diseño experimental personalizado para comprender el efecto de cada componente de la formulación, así como el pH y la interacción de los parámetros sobre la estabilidad y viscosidad de mAb1. Los parámetros de formulación en este estudio incluyen la concentración de proteína (135-165 mg/ml), concentración de sacarosa (5-9 %), concentración de clorhidrato de L-arginina (0-75 mM) y el pH. El tensioactivo permanece constante a 0,1 % para todas las formulaciones de este estudio.

La viscosidad de las formulaciones permaneció sin cambios antes y después de 28 días de incubación a 40 °C/75 % de HR.

La viscosidad en función de los principales parámetros de la formulación se analizó mediante un modelo de ajuste con el uso de JMP 12 con la personalidad de mínimos cuadrados estándar y énfasis en el aprovechamiento del efecto. Los principales factores

que influyen en la viscosidad de la formulación son la concentración de mAb1, el pH y la concentración de clorhidrato de L-arginina, como se ilustra en la Figura 4A.

También se investigó la estabilidad de las formulaciones después de 28 días de incubación a 40 °C/75 % de HR. No se observaron diferencias significativas para 14 formulaciones después de una incubación a 40 °C/75 % de RH durante 28 días en cuanto al color y la apariencia, la turbidez, el cambio en el pH, la recuperación de proteína o el cambio en las variantes de carga. El principal atributo indicador de estabilidad fue la formación de especies de HMW.

La tasa de formación de HMW en función de los principales parámetros de la formulación se analizó mediante un modelo de ajuste con el uso de JMP 12 con la personalidad de mínimos cuadrados estándar y énfasis en el aprovechamiento del efecto. Los principales factores que influyeron en la formación de HMW fueron el pH, la concentración de clorhidrato de L-arginina y la concentración de sacarosa, como se ilustra en la Figura 4B.

La selección de la composición de la formulación se basó en minimizar la viscosidad de la formulación y la tasa de formación de HMW mediante el uso de la función de deseabilidad de JMP12. Los análisis multiparamétricos se utilizaron para producir una composición que contenía sacarosa al 5 % y clorhidrato de L-arginina 70 mM a pH 5,3 con una concentración de anticuerpo (mAb1) de 150 mg/ml. Esta formulación minimizó la viscosidad de la formulación así como la formación de HMW. Mientras tanto, redujo la sensibilidad de la variación de la viscosidad y la estabilidad con relación a la variación de la composición del excipiente.

Ejemplo 5: Efecto de la concentración de tensioactivo sobre la estabilidad del anticuerpo anti-IL-33

El polisorbato 80 se identificó como un tensioactivo estabilizador en los estudios analizados en el Ejemplo 2 anterior. La formulación base para este estudio fue mAb1 a 150 mg/ml, tampón de acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v) y clorhidrato de L-arginina 70 mM. Las concentraciones de polisorbato 80 en la evaluación inicial fueron 0,01 %, 0,02 %, 0,04 %, 0,05 %, 0,06 %, 0,08 % y 0,1 %. Los resultados se resumen en la Tabla 6. Después de 48 horas de agitación orbital a 250 rpm, se observaron aumentos en el porcentaje relativo de HMW para la muestra que contenía niveles más bajos de polisorbato 80. La adición de polisorbato 80 $\geq$ 0,055 % previno la formación de esta especie agregada después de 48 horas de agitación orbital.

Tabla 6: Efecto de la concentración de polisorbato 80 sobre la estabilidad de mAb1 a 150 mg/ml después de 48 h de agitación orbital

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, tampón de acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM			
Volumen de llenado		2,5 ml			
Contenedor/ Cierre		Frasco de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 ml con un tapón de caucho butílico recubierto FluorTec® 4432/50			
Color y apariciencia	% de proteína total recuperada por SEC-UPLC	% de polisorbato 80 medido por CAD	Cambio de pureza por SE-UPLC ^a		
			% HMW	% Nativo	% LMW
Aprobado	100	0,021	23,5	-23,5	0,0
Aprobado	100	0,033	4,1	-4,1	0,0
Aprobado	99	0,055	0,1	-0,1	0,0
Aprobado	100	0,063	0,0	0,0	0,0
Aprobado	99	0,070	0,0	0,0	0,0
Aprobado	99	0,087	0,0	0,0	0,0
Aprobado	99	0,102	0,0	0,0	0,0

^a Informado como un cambio en la pureza con respecto al material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene un 98,6 % del pico nativo por SE-UPLC.

El rango aceptable de polisorbato 80 en la formulación de mAb1 a 150 mg/ml se examinó adicionalmente mediante el estudio de la estabilidad con agitación así como de la estabilidad térmica. Con la misma formulación base, las concentraciones de polisorbato 80 en este estudio de rango fueron 0,02 %, 0,05 %, 0,08 % y 0,12 %. Las formulaciones se sometieron a 48 horas de agitación orbital a 250 rpm y estrés térmico a 40 °C/75 % de HR durante un mes. Los resultados de la agitación orbital confirmaron que el polisorbato 80 $\geq$ 0,05 % impidió la formación de esta especie agregada después de 48 horas de agitación orbital (véase la Tabla 7). La estabilidad térmica de mAb1 no se vio afectada por las concentraciones de polisorbato estudiadas (véase la Tabla 7). Estos resultados indicaron que 0,05 - 0,12 % de polisorbato 80 proporcionaron suficiente estabilización para evitar la formación de agregados bajo estrés por agitación sin afectar adversamente la estabilidad de la formulación. Se seleccionó una concentración objetivo de 0,08 % de polisorbato 80 para la formulación de mAb1 a 150 mg/ml con base en estos resultados.

Tabla 7: Efecto de la concentración de polisorbato 80 sobre la estabilidad de mAb1 a 150 mg/ml después de 48 h de agitación orbital

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, tampón de acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM						
Volumen de llenado	2,5 ml						
Contenedor/Cierre	Frasco de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 ml con un tapón de caucho butílico recubierto FluorTec® 4432/50						
Polisorbato 80	Color y apariencia	Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	pH	% de proteína total recuperada por SEC-UPLC	Cambio de pureza por SE-UPLCa		
					% HMW	% Nativo	% LMW
Estrés: 48 h de agitación orbital a 250 rpm							
0,02 % (p/v)	Aprobado	0,01	5,4	100	6,4	-6,4	0,0
0,05 % (p/v)	Aprobado	0,00	5,4	100	0,1	-0,1	0,0
0,08 % (p/v)	Aprobado	0,00	5,4	100	0,0	-0,1	0,1
0,12 % (p/v)	Aprobado	0,00	5,4	99	0,0	0,0	0,1
Estrés: 40 °C/75 % de RH durante un mes							
0,02 % (p/v)	Aprobado	0,01	5,4	99	2,9	-3,5	0,6
0,05 % (p/v)	Aprobado	0,00	5,4	98	3,0	-3,7	0,7
0,08 % (p/v)	Aprobado	0,01	5,4	98	2,9	-3,6	0,7
0,12 % (p/v)	Aprobado	0,01	5,4	99	3,0	-3,6	0,7

^a Informado como un cambio en la pureza con respecto al material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene 97,7 % del pico nativo por SE-UPLC.

Ejemplo 6: Estabilidad del principio activo del anticuerpo anti-IL-33 formulado en líquido

Se está llevando a cabo un estudio de estabilidad de almacenamiento a largo plazo que está en curso para evaluar la estabilidad durante 36 meses de almacenamiento a -80 °C, -30 °C y -20 °C para formulaciones de mAb1. Una composición que contiene mAb1 a 150 mg/ml era física y químicamente estable cuando se almacenó a -80 °C, -30 °C y -20 °C durante 24 meses, como se muestra en las Tablas 9 a 10. No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos controlados. Además, se ha demostrado que una composición que contiene mAb1 a 150 mg/ml es estable cuando se almacena a -80 °C, -30 °C y -20 °C durante al menos

9 meses (consulte las Tablas 11 a 13). Por último, se ha demostrado que una composición que contiene mAb1 a 15 mg/ml es estable cuando se almacena a -80 °C, -30 °C y -20 °C durante al menos 9 meses (véanse las Tablas 16 a 18). Todos los resultados recopilados hasta la fecha se muestran en las Tablas 8 a 20, a continuación.

Tabla 8: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 150 mg/ml almacenado a -80 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 27 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		0,6 ml								
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
		Duración del almacenamiento a -80 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,2	5,2	5,2	5,2	5,3	5,3	5,2	5,2	5,3
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	102	103	102	104	105	105	103	101
Pureza por SE-UPLC	% HMW	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
	% Nativo	98,0	98,1	98,0	98,0	97,9	98,1	98,0	98,0	98,1
	% LMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,4	0,5	0,5	0,4
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	29,4	29,7	29,4	29,4	29,8	29,7	29,5	30,0	29,3
	% Principal	66,1	65,6	65,8	65,8	65,6	65,7	64,6	65,1	65,9
	% Básico	4,5	4,7	4,8	4,8	4,7	4,6	5,9	4,9	4,8

Tabla 9: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 150 mg/ml almacenado a -30 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 27 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		0,6 ml								
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
		Duración del almacenamiento a -30 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,2	5,2	5,2	5,2	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	103	104	104	103	106	107	104	104
Pureza por SE-UPLC	% HMW	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	1,6
	% Nativo	98,0	98,1	98,0	98,0	97,9	98,1	98,0	98,0	98,0
	% LMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5	0,4
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	29,4	29,6	29,5	29,4	29,7	29,8	29,5	29,6	29,5
	% Principal	66,1	65,8	65,8	65,8	65,6	65,6	64,7	65,6	65,7
	% Básico	4,5	4,7	4,7	4,8	4,7	4,6	5,9	4,9	4,8

Tabla 10: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 150 mg/ml almacenado a -20 °C

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, acetato 27 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado	0,6 ml								
Contenedor/Cierre	Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
	Duración del almacenamiento a -20 °C (meses)								
Ensayo	0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
pH	5,2	5,2	5,3	5,2	5,3	5,3	5,2	5,2	5,3
% de proteína recuperada por SEC-UPLC	100	103	104	105	107	108	110	108	107
Pureza por SE-UPLC	% HMW	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6
	% Nativo	98,0	98,1	98,0	98,0	97,9	98,1	98,0	98,0
	% LMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,4	0,5	0,4
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	29,4	29,5	29,5	29,7	29,8	29,4	29,3	29,7
	% Principal	66,1	65,8	65,7	65,6	65,5	65,9	64,7	65,6
	% Básico	4,5	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	6,0	4,8

Tabla 11: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 150 mg/ml almacenado a -80 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,0 ml								
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
		Duración del almacenamiento a -80 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00		
pH		5,3	5,2	5,2	5,2	5,3	5,2	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	108	105	100	98	105	100		
Pureza por MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,4	NR	96,1	96,0	NR	97,2	NR		
	% de especies de LMW	2,5	NR	3,8	3,9	NR	2,7	NR		
	% de especies de HMW	0,1	NR	0,1	0,1	NR	0,1	NR		
Pureza por MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,2	NR	94,8	94,8	NR	94,2	NR		
	% de especies de LMW	2,2	NR	1,7	2,1	NR	2,4	NR		
	% NGHC	1,7	NR	1,8	1,6	NR	1,7	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
	% Nativo	99,2	99,2	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3		

	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,1	19,0	21,4	20,0	19,6	19,7	17,6		
	% Principal	66,8	66,6	66,0	67,8	67,8	67,1	70,1		
	% Básico	14,1	14,4	12,6	12,2	12,6	13,2	12,3		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,3	NR	31,2	32,2	NR	30,4	NR		
	% Principal	56,3	NR	56,0	55,8	NR	57,1	NR		
	% Básico	12,4	NR	12,9	12,1	NR	12,6	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		116	NR	NR	NR	NR	101	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 12: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 150 mg/ml almacenado a -30 °C

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado	2,0 ml									
Contenedor/Cierre	Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona									
	Duración del almacenamiento a -30 °C (meses)									
Ensayo	0	1	3	6	9	12	18	24	36	
Color y apariencia	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado			
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00			
pH	5,3	5,2	5,2	5,2	5,3	5,2	5,3			
% de proteína recuperada por SEC-UPLC	100	108	107	101	99	106	99			
Pureza por	% de	97,4	NR	96,0	95,9	NR	97,2	NR		

MCE en condiciones no reductoras	pureza del pico principal									
	% de especies de LMW	2,5	NR	4,0	4,0	NR	2,7	NR		
	% de especies de HMW	0,1	NR	0,1	0,1	NR	0,1	NR		
Pureza por MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,2	NR	94,3	94,6	NR	94,1	NR		
	% de especies de LMW	2,2	NR	2,1	1,9	NR	2,6	NR		
	% NGHC	1,7	NR	1,7	1,7	NR	1,7	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
	% Nativo	99,2	99,1	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3		
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,1	19,2	21,2	20,9	19,4	19,7	17,6		
	% Principal	66,8	66,3	66,2	66,9	68,0	67,1	69,9		
	% Básico	14,1	14,5	12,6	12,3	12,6	13,2	12,5		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,3	NR	30,5	30,8	NR	30,9	NR		
	% Principal	56,3	NR	57,1	57,0	NR	57,0	NR		
	% Básico	12,4	NR	12,4	12,3	NR	12,1	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		116	NR	NR	NR	NR	149	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 13: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 150 mg/ml almacenado a -20 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,0 ml								
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
		Duración del almacenamiento a -20 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00		
pH		5,3	5,2	5,2	5,3	5,3	5,2	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	108	108	100	99	106	100		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,4	NR	96,0	96,1	NR	97,2	NR		
	% de especies de LMW	2,5	NR	3,9	3,8	NR	2,7	NR		
	% de especies de HMW	0,1	NR	0,0	0,1	NR	0,2	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,2	NR	94,3	95,1	NR	95,1	NR		
	% de especies de LMW	2,2	NR	2,3	1,9	NR	2,0	NR		
	% NGHC	1,7	NR	1,8	1,7	NR	1,7	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
	% Nativo	99,2	99,2	99,2	99,3	99,3	99,3	99,3		

	% LMW	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,1	19,2	21,0	20,0	19,4	19,6	17,6		
	% Principal	66,8	66,4	66,3	67,8	68,0	67,5	69,9		
	% Básico	14,1	14,4	12,7	12,2	12,6	13,0	12,5		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,3	NR	31,7	31,8	NR	30,8	NR		
	% Principal	56,3	NR	56,1	56,1	NR	56,5	NR		
	% Básico	12,4	NR	12,1	12,2	NR	12,8	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		116	NR	NR	NR	NR	125	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 14: Estabilidad en investigación del principio activo mAb10 formulado a 150 mg/ml - Efecto de las condiciones aceleradas

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3						
Volumen de llenado	2,0 ml						
Contenedor/Cierre	Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona						
		5 °C de almacenamiento (meses)		Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)		Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)	
Ensayo	T = 0	1	2	1	2	1	2
Color y apariencia	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,3	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
% de proteína recuperada por RP-UPLC	100	109	103	110	107	108	106

MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,4	96,3	96,4	96,1	95,7	93,8	92,7
	% de especies de LMW	2,5	3,7	3,5	3,6	3,8	5,2	5,7
	% de especies de HMW	0,1	0,1	0,1	0,4	0,5	1,0	1,6
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,2	94,2	94,8	94,5	94,5	94,1	92,1
	% de especies de LMW	2,2	2,3	2,0	2,1	2,2	2,4	3,8
	% NGHC	1,7	1,7	1,7	1,8	1,6	1,7	1,8
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,6	0,8	1,0	2,4	5,1
	% Nativo	99,2	99,1	99,2	98,8	98,8	96,6	94,1
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,9	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,1	19,0	19,6	18,9	21,9	28,7	50,0
	% Principal	66,8	66,6	67,9	66,3	64,9	55,7	36,5
	% Básico	14,1	14,3	12,6	14,8	13,2	15,5	13,5
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,3	31,7	31,6	32,2	33,0	37,7	46,2
	% Principal	56,3	55,5	56,3	54,6	53,5	46,3	35,6
	% Básico	12,4	12,8	12,1	13,3	13,5	16,0	18,2

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 15: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 150

mg/ml - Efecto de las condiciones de estrés

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3				
Volumen de llenado		2,0 ml				
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona				
		Sin estrés	Agitación orbital (horas)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		T = 0	24	48	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	101	102	99	114
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,4	NR	96,0	NR	97,4
	% de especies de LMW	2,5	NR	3,9	NR	2,5
	% de especies de HMW	0,1	NR	0,1	NR	0,1
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,2	NR	94,5	NR	94,9
	% de especies de LMW	2,2	NR	2,1	NR	2,2
	% NGHC	1,7	NR	1,7	NR	1,5
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	% Nativo	99,2	99,2	99,1	99,3	99,2
	% LMW	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3
Análisis de variantes de carga por	% Ácido	19,1	19,4	19,2	19,7	19,6
	% Principal	66,8	66,5	66,5	66,6	66,7

CEX-UPLC	% Básico	14,1	14,1	14,3	13,7	13,8
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,3	NR	31,2	NR	31,8
	% Principal	56,3	NR	56,3	NR	56,0
	% Básico	12,4	NR	12,6	NR	12,2

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 16: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 15 mg/ml almacenado a -80 °C

Formulación		mAb1 a 15 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,0 ml								
Contenedor/Cierre		Frasco de polycarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
		Duración del almacenamiento a -80 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,2	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	106	100	99	100	101	97		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	96,6	NR	96,8	96,5	NR	97,7	NR		
	% de especies de LMW	3,4	NR	3,1	3,4	NR	2,2	NR		
	% de especies de HMW	0,0	NR	0,1	0,1	NR	0,1	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,5	NR	94,9	94,9	NR	95,0	NR		
	% de especies de LMW	2,0	NR	2,0	2,2	NR	2,0	NR		
	% NGHC	1,7	NR	1,7	1,6	NR	1,6	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4		
	% Nativo	99,3	99,3	99,4	99,4	99,3	99,4	99,4		
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2		
Análisis de variantes de carga	% Ácido	19,3	19,2	20,7	20,6	19,0	19,8	17,6		
	% Principal	66,8	66,6	66,8	67,2	68,7	67,1	70,1		
	% Básico	13,9	14,1	12,5	12,2	12,3	13,1	12,3		

por CEX- UPLC										
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,0	NR	30,7	30,6	NR	31,1	NR		
	% Principal	56,9	NR	57,4	57,0	NR	56,2	NR		
	% Básico	12,1	NR	12,0	12,4	NR	12,7	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		82	NR	NR	NR	NR	NA	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 17: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 15 mg/ml almacenado a -30 °C

Formulación		mAb1 a 15 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,0 ml								
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
		Duración del almacenamiento a -30 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	106	100	100	99	102	97		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	96,6	NR	96,8	96,7	NR	97,5	NR		
	% de especies de LMW	3,4	NR	3,1	3,3	NR	2,4	NR		
	% de especies de HMW	0,0	NR	0,1	0,1	NR	0,1	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,5	NR	95,3	95,1	NR	94,5	NR		
	% de especies de LMW	2,0	NR	1,8	1,9	NR	2,1	NR		
	% NGHC	1,7	NR	1,6	1,6	NR	1,7	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4		
	% Nativo	99,3	99,3	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4		
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2		
Análisis de variantes de carga	% Ácido	19,3	19,5	20,5	20,1	19,7	19,8	17,8		
	% Principal	66,8	66,3	67,0	67,9	67,8	67,1	70,0		
	% Básico	13,9	14,2	12,5	12,0	12,5	13,1	12,3		

por CEX- UPLC										
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,0	NR	30,3	30,5	NR	31,2	NR		
	% Principal	56,9	NR	57,6	56,9	NR	55,9	NR		
	% Básico	12,1	NR	12,1	12,6	NR	12,9	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		82	NR	NR	NR	NR	NA	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 18: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 15 mg/ml almacenado a -20 °C

Formulación		mAb1 a 15 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,0 ml								
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona								
		Duración del almacenamiento a -20 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,4	5,3	5,4		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	107	100	100	99	102	98		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	96,6	NR	96,5	96,5	NR	97,8	NR		
	% de especies de LMW	3,4	NR	3,3	3,5	NR	2,2	NR		
	% de especies de HMW	0,0	NR	0,2	0,1	NR	0,1	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,5	NR	94,9	94,8	NR	94,7	NR		
	% de especies de LMW	2,0	NR	1,8	1,9	NR	2,0	NR		
	% NGHC	1,7	NR	1,7	1,8	NR	1,7	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4		
	% Nativo	99,3	99,3	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4		

	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,3	19,3	20,3	19,7	19,2	19,6	17,6		
	% Principal	66,8	66,5	67,2	68,1	68,1	67,2	69,9		
	% Básico	13,9	14,1	12,6	12,2	12,7	13,2	12,5		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,0	NR	30,3	30,9	NR	30,9	NR		
	% Principal	56,9	NR	56,9	57,1	NR	56,2	NR		
	% Básico	12,1	NR	12,8	12,0	NR	13,0	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		82	NR	NR	NR	NR	NA	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 19: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 15 mg/ml - Efecto de las condiciones aceleradas

Formulación		mAb1 a 15 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3						
Volumen de llenado		2,0 ml						
Contenedor/Cierre		Frasco de polycarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona						
			5 °C de almacenamiento (meses)		Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)		Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)	
Ensayo		T = 0	1	2	1	2	1	2
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	107	102	109	104	110	103
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	96,6	96,8	96,8	96,6	96,6	95,4	94,6
	% de especies de LMW	3,4	3,1	3,1	3,3	3,2	4,4	5,0
	% de especies de HMW	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,5	94,4	94,6	95,3	94,7	93,4	93,5
	% de especies de LMW	2,0	2,0	1,9	2,0	2,1	2,6	2,7
	% NGHC	1,7	1,8	1,7	1,7	1,6	1,8	1,7
Pureza por	% HMW	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,9	2,0

SE-UPLC	% Nativo	99,3	99,3	99,4	99,3	99,3	98,6	97,2
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,5	0,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,3	19,3	19,4	20,2	21,6	27,3	46,8
	% Principal	66,8	66,6	68,1	65,2	65,2	57,1	39,3
	% Básico	13,9	14,2	12,5	14,7	13,2	15,6	14,0
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,0	29,6	31,0	30,5	32,2	37,2	46,6
	% Principal	56,9	58,2	56,6	56,3	53,7	48,2	39,1
	% Básico	12,1	12,2	12,4	13,3	14,1	14,6	14,3

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 20: Estabilidad en investigación del principio activo mAb1 formulado a 15 mg/ml - Efecto de las condiciones de estrés

Formulación		mAb1 a 15 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3				
Volumen de llenado		2,0 ml				
Contenedor/Cierre		Frasco de policarbonato de 5 ml con tapón de rosca de polipropileno revestido con silicona				
		Sin estrés	Agitación orbital (horas)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		T = 0	24	48	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	99	99	98	115
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	96,6	NR	96,7	NR	97,7
	% de especies de LMW	3,4	NR	3,3	NR	2,2
	% de especies de HMW	0,0	NR	0,0	NR	0,1
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,5	NR	95,1	NR	94,5
	% de especies de LMW	2,0	NR	1,8	NR	2,1
	% NGHC	1,7	NR	1,7	NR	1,7
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4
	% Nativo	99,3	99,3	99,2	99,4	99,3
	% LMW	0,4	0,4	0,5	0,2	0,3
Análisis de		% Ácido	19,3	19,2	19,4	20,1

variantes de carga por CEX-UPLC	% Principal	66,8	66,9	66,5	66,8	66,6
	% Básico	13,9	14,0	14,1	13,2	13,3
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,0	NR	30,8	NR	31,0
	% Principal	56,9	NR	56,7	NR	56,8
	% Básico	12,1	NR	12,5	NR	12,3

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Ejemplo 7: Estabilidad de un producto farmacéutico de anticuerpo anti-IL-33 formulado en forma líquida

Los datos de la estabilidad en investigación en nueve meses se encuentran disponibles hasta la fecha para la formulación del producto farmacéutico de mAb1 a 15 mg/ml y 150 mg/ml en frascos de vidrio. Ambas concentraciones de anticuerpo fueron física y químicamente estables cuando se almacenaron a 2-8 °C durante 9 meses (véanse las Tablas 21 y 22). Se observó que un estudio de estabilidad adicional del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml era física y químicamente estable cuando se almacenó a 2-8 °C durante 24 meses (véase la Tabla 23). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos controlados.

Los resultados del análisis de las formulaciones del producto farmacéutico mAb1, a 15 mg/ml y 150 mg/ml, después de la incubación en condiciones aceleradas y de estrés se proporcionan en las Tablas 24 y 25, respectivamente. La formulación del producto farmacéutico mAb1 era física y químicamente estable cuando se agitó (agitación orbital a 250 rpm a temperatura ambiente) durante 48 horas. No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos controlados. Para las formulaciones del producto farmacéutico a 15 mg/ml y 150 mg/ml, cuando se incubó a 25 °C durante 1 mes, no se observaron cambios apreciables en las especies de HMW y LMW, lo que indica que las formulaciones del producto farmacéutico mAb1 pueden exponerse a períodos de tiempo cortos a temperatura ambiente. Después de la incubación durante 2 meses a 40 °C/75 % de HR, se detectó una formación apreciable de especies de HMW y variantes de carga (aumento del porcentaje relativo de especies

ácidas). Los resultados de esta condición acelerada demostraron que un aumento en las especies de HMW y la formación de variantes de carga eran las principales vías de degradación de las formulaciones del producto farmacéutico.

Además, se encuentran disponibles los datos de estabilidad en investigación durante seis meses, hasta la fecha, para la formulación del producto farmacéutico a 150 mg/ml en jeringa precargada (PFS). La estabilidad se ha probado en cinco PFS. Los datos de estabilidad se proporcionan en las Tablas 26 a 34. Se dispone de los datos de estabilidad en investigación durante tres meses para la formulación del producto farmacéutico a 75 mg/ml en frascos de vidrio (véase la Tabla 36).

Tabla 21: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 15 mg/ml en frascos de vidrio almacenado a 2-8 °C

Formulación		mAb1 a 15 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,5 ml								
Contenedor/Cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 ml con tapones West S2-451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos FluroTec® de 20 mm								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,2	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	103	100	99	100	103	98		
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	2	4	11	12	NR	13	NR		
	≥ 25 µm	0	0	0	0	NR	0	NR		
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	285	2093	1215	787	NR	1062	NR		
	≥ 10 µm	23	25	7	13	NR	7	NR		
	≥ 25 µm	7	2	0	3	NR	2	NR		
MCE en condiciones	% de pureza	96,3	96,4	96,5	96,4	NR	97,2	NR		

no reductoras	del pico principal									
	% de especies de LMW	3,6	3,6	3,5	3,6	NR	2,6	NR		
	% de especies de HMW	0,1	0,0	0,1	0,0	NR	0,2	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,5	94,2	94,9	94,1	NR	94,8	NR		
	% de especies de LMW	2,1	2,2	2,1	2,2	NR	1,9	NR		
	% NGHC	1,7	1,7	1,7	1,9	NR	1,8	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4		
	% Nativo	99,3	99,3	99,4	99,4	99,3	99,4	99,4		
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,6	19,2	20,0	19,9	19,5	20,0	18,0		
	% Principal	66,5	66,7	67,4	67,7	67,8	66,6	69,4		
	% Básico	13,9	14,1	12,6	12,4	12,7	13,4	12,6		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	30,2	30,2	30,1	30,4	NR	31,0	NR		
	% Principal	57,3	57,0	57,3	57,0	NR	55,8	NR		
	% Básico	12,5	12,9	12,6	12,5	NR	13,1	NR		
% de polisorbato 80 recuperado por CAD		0,075	0,077	0,077	0,082	NR	0,088	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		108	NR	NR	NR	NR	NR	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 22: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en frascos de vidrio almacenados a 2-8 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,5 ml								
Contenedor/Cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 ml con tapones West S2-451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos FluroTec® de 20 mm								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00		
pH		5,3	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	103	101	99	98	100	100		
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	17	16	11	28	NR	14	NR		
	≥ 25 µm	1	0	0	1	NR	2	NR		
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	231	348	652	1216	NR	1157	NR		
	≥ 10 µm	31	11	28	20	NR	16	NR		
	≥ 25 µm	8	2	3	2	NR	0	NR		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	95,6	95,6	95,6	96,0	NR	96,8	NR		
	% de especies de LMW	4,3	4,4	4,1	3,7	NR	2,8	NR		
	% de especies de HMW	0,2	0,1	0,3	0,3	NR	0,4	NR		
MCE en	% Pureza	94,2	93,9	94,4	94,4	NR	94,8	NR		

condiciones reductoras	% de especies de LMW	2,4	2,4	2,1	2,0	NR	1,9	NR		
	% NGHC	1,8	1,9	1,7	1,8	NR	1,8	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8		
	% Nativo	99,2	99,1	99,2	99,1	99,0	99,0	98,9		
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,3	19,3	20,2	20,0	19,0	19,7	17,7		
	% Principal	66,6	66,7	67,0	67,4	68,2	66,7	69,5		
	% Básico	14,1	14,0	12,8	12,6	12,9	13,5	12,9		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,4	30,9	30,8	30,8	NA	30,7	NR		
	% Principal	56,4	56,4	56,4	56,5	NA	56,1	NR		
	% Básico	12,2	12,8	12,8	12,7	NA	13,2	NR		
% de polisorbato 80 recuperado por CAD		0,084	0,087	0,084	0,092	NR	0,090	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		108	NR	NR	72	NR	115	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 23: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en frascos de vidrio almacenados a 2-8 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,10 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		0,5 ml								
Contenedor/Cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 ml con tapones West S2-451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos FluroTec® de 20 mm								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,2	5,2	5,2	5,2	5,3	5,3	5,2	5,2	5,3
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	102	103	103	101	106	107	102	100
Pureza por SE-UPLC	% HMW	1,5	1,5	1,6	1,7	1,8	1,8	1,9	2,0	2,1
	% Nativo	98,0	98,0	97,9	97,8	97,7	97,8	97,6	97,6	97,4
	% LMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,4	0,5	0,5	0,5
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	29,4	28,4	28,2	28,2	28,3	28,8	29,1	29,0	30,1
	% Principal	66,1	67,0	67,2	67,0	66,9	66,1	64,1	65,7	64,2
	% Básico	4,5	4,5	4,6	4,7	4,9	5,1	6,8	5,3	5,7

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 24: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 15 mg/ml en frascos de vidrio almacenados en condiciones aceleradas y de estrés, y frente a la agitación

Formulación		mAb1 a 15 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,5 ml								
Contenedor/ Cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 ml con tapones West S2-451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos FluroTec® de 13 mm								
			Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)			Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)			Agitación orbital (h)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	2	24	48
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	103	100	99	98	103	100	98	98
Análisis de partículas sub-visibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	2	10	8	29	NR	13	13	NR	7
	≥ 25 µm	0	0	0	0	NR	0	1	NR	0
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	285	387	906	1174	NR	2222	3474	NR	378
	≥ 10 µm	23	13	10	11	NR	18	43	NR	10
	≥ 25 µm	7	5	0	3	NR	2	3	NR	0
MCE en condicio-	% de pu-	96,3	96,1	95,8	95,5	NR	95,2	94,5	NR	96,4

nes no reduc- toras	reza del pico prin- cipal									
	% de espe- cies de LMW	3,6	3,8	4,1	4,4	NR	4,6	5,5	NR	3,5
	% de espe- cies de HMW	0,1	0,1	0,1	0,1	NR	0,2	0,1	NR	0,1
MCE en condicio- nes re- ductoras	% Pure- za	96,3	96,1	95,8	95,5	NR	95,2	94,5	NR	96,4
	% de espe- cies de LMW	3,6	3,8	4,1	4,4	NR	4,6	5,5	NR	3,5
	% NGHC	0,1	0,1	0,1	0,1	NR	0,2	0,1	NR	0,1
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,4	0,3	0,4	0,5	0,5	0,7	1,3	0,3	0,3
	% Nati- vo	99,3	99,3	99,3	99,2	99,2	98,9	97,8	99,3	99,4
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,9	0,4	0,4
Análisis de varian- tes de carga por CEX-	% Ácido	19,6	19,6	22,9	27,5	22,1	27,6	46,9	19,5	19,3
	% Prin- cipal	66,5	66,0	63,7	59,2	62,9	57,2	39,5	66,5	66,6
	%	13,9	14,4	13,4	13,3	15,0	15,2	13,6	14,0	14,0

UPLC	Bási- co									
Análisis de varian- tes de carga por iCIEF	% Ácido	30,2	30,2	32,7	36,8	NR	38,0	45,9	NR	30,2
	% Prin- cipal	57,3	55,8	53,5	49,2	NR	47,8	40,4	NR	57,4
	% Bási- co	12,5	14,0	13,9	14,0	NR	14,2	13,8	NR	12,5
% Polisorbato 80 por CAD		0,075	0,078	0,077	0,082	NR	0,078	0,075	NR	0,076

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 25: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en frascos de vidrio almacenados en condiciones aceleradas y de estrés, y frente a la agitación

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado		2,5 ml									
Contenedor/Cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 ml con tapones West S2-451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos FluroTec® de 13 mm									
			Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)			Agitación orbital (h)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	2	24	48	
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	
pH		5,3	5,2	5,2	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3	5,3	
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	104	101	100	97	102	98	101	101	
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	17	16	16	56	NR	30	46	NR	13	
	≥ 25 µm	1	0	0	2	NR	1	1	NR	0	
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	231	903	2053	2700	NR	2919	1781	NR	514	
	≥ 10 µm	31	25	13	61	NR	48	38	NR	16	
	≥ 25 µm	8	3	1	8	NR	2	2	NR	2	
MCE en condicio-	% de pure-	95,6	95,5	94,2	94,1	NR	94,1	92,1	NR	95,6	

nes no reduc- toras	za del pico prin- cipal									
	% de espe- cies de LMW	4,3	4,1	5,4	5,3	NR	5,3	6,5	NR	4,3
	% de espe- cies de HMW	0,2	0,4	0,5	0,6	NR	0,7	1,4	NR	0,1
MCE en condicio- nes reduc- toras	% Pure- za	94,2	94,5	94,0	93,4	NR	93,6	92,2	NR	94,7
	% de espe- cies de LMW	2,4	2,0	2,4	3,0	NR	2,7	3,5	NR	1,9
	% NGHC	1,8	1,7	1,8	1,7	NR	1,8	1,7	NR	1,7
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,8	1,0	1,3	1,4	2,2	3,9	0,5	0,5
	% Nati- vo	99,2	98,9	98,7	98,4	98,0	96,9	95,4	99,2	99,1
	% LMW	0,4	0,4	0,3	0,3	0,6	0,9	0,8	0,4	0,4
Análisis de varian- tes de carga por CEX- UPLC	% Ácido	19,3	19,9	21,2	28,9	23,4	28,8	48,5	19,1	19,2
	% Prin- cipal	66,6	14,6	13,3	57,7	61,4	56,1	38,0	66,7	66,7
	% Bási-	14,1	19,9	21,2	13,4	15,1	15,2	13,5	14,2	14,1

	co									
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,4	30,9	33,5	38,0	NR	38,7	46,2	NR	30,4
	% Principal	56,4	55,4	51,8	46,6	NR	45,1	38,4	NR	57,1
	% Básico	12,2	13,7	14,7	15,4	NR	16,1	15,4	NR	12,5
% Polisorbato 80 por CAD		0,084	0,086	0,083	0,090	NR	0,084	0,081	NR	0,084

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 26: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas gOmpi de 1 ml almacenadas a 2-8 °C

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado	1,05 ml									
Contenedor/Cierre	Jeringa de vidrio Nuova Ompi EZ-Fill larga de 1 ml con aguja de pared delgada 27G y protector de aguja FM30									
	Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)									
Ensayo	0	1	3	6	9	12	18	24	36	
Color y apariencia	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado			
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
pH	5,4	5,3	5,3	5,2	5,2	5,3	5,3			
% de proteína recuperada por SE-UPLC	100	101	100	99	102	102	102			
Análisis de	≥ 10 µm	283	357	582	1128	NR	1225	NR		

partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 25 µm	1	0	1	3	NR	6	NR		
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	12 982	10 541	7137	7018	NR	5375	NR		
	≥ 10 µm	29	228	57	69	NR	67	NR		
	≥ 25 µm	0	3	5	0	NR	2	NR		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,0	96,8	96,7	96,7	NR	97,4	NR		
	% de especies de LMW	2,9	2,9	3,2	3,2	NR	2,2	NR		
	% de especies de HMW	0,1	0,3	0,1	0,1	NR	0,4	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,8	94,9	94,4	94,9	NR	94,4	NR		
	% de especies de LMW	2,3	1,8	2,2	2,1	NR	2,2	NR		
	% NGHC	1,2	1,5	1,8	1,2	NR	1,6	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8		
	% Nativo	99,3	99,3	99,2	99,1	99,0	99,0	98,9		
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	20,3	19,4	20,0	20,0	19,8	18,3	19,0		
	% Principal	67,9	68,4	68,8	68,6	68,5	70,9	69,8		
	% Básico	11,8	12,2	11,3	11,4	11,7	10,8	11,1		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,2	31,0	31,3	30,2	NR	31,9	NR		
	% Principal	57,3	57,2	56,7	58,6	NR	56,1	NR		
	% Básico	11,6	11,9	12,0	11,2	NR	12,0	NR		
% Polisorbato 80 por CAD		0,079	0,080	0,081	0,091	NR	0,091	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-

dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 27: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas gOmpi de 1 ml almacenadas en condiciones aceleradas y de estrés, y frente a la agitación

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		1,05 ml								
Contenedor/ Cierre		Jeringa de vidrio Nuova Ompi EZ-Fill larga de 1 ml con aguja de pared delgada 27G y protector de aguja FM30								
			Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)			Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)			Agitación orbital (h)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	2	24	48
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00
pH		5,4	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	100	101	99	99	100	101	101	99
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	283	613	814	975	NR	1467	1584	NR	911
	≥ 25 µm	1	1	1	5	NR	23	5	NR	2
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	12 982	13 554	12 156	9523	NR	15 308	10 205	NR	15 559
	≥ 10 µm	29	253	74	69	NR	376	79	NR	357
	≥ 25 µm	0	1	0	8	NR	7	7	NR	0
MCE en condicio-	% de pure-	97,0	96,5	96,1	95,1	NR	94,5	92,3	NR	96,7

nes no reduc- toras	za del pico prin- cipal									
	% de espe- cies de LMW	2,9	3,2	3,5	4,1	NR	4,5	6,6	NR	3,0
	% de espe- cies de HMW	0,1	0,4	0,4	0,8	NR	1,0	1,1	NR	0,3
MCE en condicio- nes reduc- toras	% Pure- za	94,8	94,2	94,7	94,4	NR	93,7	91,0	NR	95,0
	% de espe- cies de LMW	2,3	2,7	2,3	2,6	NR	3,3	5,1	NR	1,9
	% NGHC	1,2	1,4	1,1	1,6	NR	1,4	2,3	NR	1,2
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,8	1,0	1,3	1,2	1,9	3,6	0,5	0,5
	% Nati- vo	99,3	99,0	98,8	98,4	98,2	97,4	95,8	99,2	99,2
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6	0,7	0,6	0,3	0,3
Análisis de varian- tes de carga por CEX- UPLC	% Ácido	20,3	20,3	23,9	28,6	26,1	32,0	54,5	20,2	19,9
	% Prin- cipal	67,9	67,0	63,9	59,1	60,5	54,0	33,6	67,7	67,9
	% Básico	11,8	12,7	12,2	12,3	13,4	13,9	11,9	12,1	12,2

Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,2	31,4	33,1	41,2	NR	39,8	57,6	NR	30,3
	% Principal	57,3	56,1	53,6	45,9	NR	43,7	26,6	NR	58,4
	% Básico	11,6	12,5	13,4	13,0	NR	16,5	15,7	NR	11,4
% Polisorbato 80 por CAD		0,079	0,081	0,081	0,089	NR	0,080	0,080	NR	0,080

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 28: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas BD Neopak de 1 ml almacenadas a 2-8 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		1,05 ml								
Contenedor/Cierre		Jeringa de vidrio BD Neopak SCF larga de 1 ml con aguja de pared delgada 27G y protector de aguja BD260								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
pH		5,4	5,3	5,3	5,2	5,2	5,3	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	100	100	99	101	102	102		
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	34	271	108	41	NR	184	NR		
	≥ 25 µm	0	2	2	0	NR	2	NR		
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	790	2673	3306	1096	NR	2602	NR		
	≥ 10 µm	2	49	5	3	NR	15	NR		
	≥ 25 µm	0	3	0	0	NR	2	NR		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	96,9	97,0	96,7	96,5	NR	97,4	NR		
	% de especies de LMW	3,0	3,0	3,2	3,3	NR	2,3	NR		
	% de especies de HMW	0,2	0,1	0,2	0,2	NR	0,4	NR		
MCE en	% Pureza	95,4	95,2	95,2	95,0	NR	94,2	NR		

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado		1,05 ml									
Contenedor/Cierre		Jeringa de vidrio BD Neopak SCF larga de 1 ml con aguja de pared delgada 27G y protector de aguja BD260									
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)									
condiciones reductoras	% de especies de LMW	1,7	1,9	1,7	1,9	NR	2,2	NR			
	% NGHC	1,2	1,1	1,5	1,6	NR	1,9	NR			
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8			
	% Nativo	99,3	99,3	99,2	99,1	99,0	99,0	98,9			
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3			
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	20,1	19,6	19,9	19,9	19,7	18,1	19,3			
	% Principal	68,1	68,1	68,6	68,6	68,5	71,1	69,6			
	% Básico	11,8	12,3	11,5	11,5	11,8	10,9	11,1			
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	30,8	30,8	30,7	30,6	NR	32,2	NR			
	% Principal	57,5	57,9	58,2	57,7	NR	55,6	NR			
	% Básico	11,7	11,4	11,2	11,6	NR	12,2	NR			
% Polisorbato 80 por CAD		0,082	0,081	0,082	0,091	NR	0,091	NR			
% de potencia relativa (bioensayo)		107	NR	NR	134	NR	NA	NR			

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 29: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas BD Neopak de 1 ml almacenadas en condiciones aceleradas y de estrés, y frente a la agitación

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		1,05 ml								
Contenedor/ Cierre		Jeringa de vidrio BD Neopak SCF larga de 1 ml con aguja de pared delgada 27G y protector de aguja BD260								
			Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)			Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)			Agitación orbital (h)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	2	24	48
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00
pH		5,4	5,3	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3	5,3	5,3
% de proteína recuperada por RP- UPLC		100	100	100	98	99	100	100	100	99
Análisis de partícu- las subvisi- bles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	34	132	140	179	NR	359	458	NR	404
	≥ 25 µm	0	2	1	3	NR	4	2	NR	0
Análisis de partícu- las por MFI (par- tícu- las/ml)	De 2 a 10 µm	790	3455	2674	2872	NR	5749	6190	NR	4523
	≥ 10 µm	2	53	13	23	NR	69	33	NR	116
	≥ 25 µm	0	5	2	3	NR	0	0	NR	0
MCE en condicio- nes no reduc-	% de pureza del pico prin-	96,9	96,4	96,0	95,3	NR	94,6	92,5	NR	97,0

toras	cipal									
	% de especies de LMW	3,0	3,3	3,6	4,3	NR	4,4	6,2	NR	3,0
	% de especies de HMW	0,2	0,3	0,4	0,5	NR	1,0	1,3	NR	0,1
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	95,4	95,2	94,3	93,9	NR	93,4	91,7	NR	95,2
	% de especies de LMW	1,7	2,0	2,5	2,8	NR	3,1	4,4	NR	1,8
	% NGHC	1,2	1,2	1,6	1,4	NR	1,7	2,0	NR	1,1
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,8	1,0	1,3	1,2	1,9	3,7	0,5	0,5
	% Nativo	99,3	99,0	98,8	98,4	98,2	97,4	95,7	99,3	99,3
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6	0,7	0,6	0,3	0,3
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	20,1	20,3	24,3	28,8	25,7	32,0	55,1	19,9	19,9
	% Principal	68,1	67,0	63,5	58,9	60,7	54,1	33,3	68,0	67,7
	% Básico	11,8	12,6	12,2	12,3	13,6	13,9	11,6	12,1	12,4
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	30,8	31,7	32,9	37,3	NR	40,1	56,7	NR	30,6
	% Principal	57,5	55,4	53,3	48,7	NR	43,1	25,8	NR	57,5
	% Básico	11,7	12,9	13,8	14,1	NR	16,8	17,5	NR	11,9
% Polisorbato 80 por CAD		0,082	0,080	0,082	0,089	NR	0,080	0,081	NR	0,081

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE

= exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 30: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas gOmpi de 2,25 ml almacenadas a 2-8 °C

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,14 ml								
Contenedor/ Cierre		Jeringa de vidrio Nuova Ompi EZ-Fill de 2,25 ml con aguja de pared delgada 27G con protector de aguja FM30								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00		
pH		5,4	5,3	5,3	5,2	5,2	5,3	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	100	100	98	100	103	102		
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	3104	790	2428	3381	NR	2406	NR		
	≥ 25 µm	2	1	11	35	NR	15	NR		
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	18 565	22 777	16 440	24 709	NR	12 492	NR		
	≥ 10 µm	146	325	107	156	NR	107	NR		
	≥ 25 µm	0	1	0	3	NR	3	NR		
MCE en condiciones no reduc-	% de pureza del pico principal	97,1	97,0	97,3	97,3	NR	97,6	NR		

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,14 ml								
Contenedor/ Cierre		Jeringa de vidrio Nuova Ompi EZ-Fill de 2,25 ml con aguja de pared delgada 27G con protector de aguja FM30								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
toras	% de especies de LMW	2,9	2,9	2,6	2,6	NR	2,1	NR		
	% de especies de HMW	0,1	0,1	0,1	0,1	NR	0,3	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,5	95,3	95,4	94,7	NR	94,6	NR		
	% de especies de LMW	2,1	2,1	1,5	1,9	NR	1,9	NR		
	% NGHC	1,5	1,0	1,2	1,6	NR	1,8	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8		
	% Nativo	99,3	99,3	99,2	99,1	99,0	99,0	99,0		
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	20,2	19,4	19,8	19,7	19,3	18,5	19,1		
	% Principal	68,0	68,4	68,8	68,9	69,0	70,7	69,8		
	% Básico	11,9	12,2	11,4	11,4	11,7	10,9	11,1		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,1	NR	30,6	30,8	NR	31,2	NR		
	% Principal	57,3	NR	58,3	57,4	NR	56,8	NR		
	% Básico	11,6	NR	11,1	11,8	NR	12,0	NR		

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado	2,14 ml								
Contenedor/ Cierre	Jeringa de vidrio Nuova Ompi EZ-Fill de 2,25 ml con aguja de pared delgada 27G con protector de aguja FM30								
	Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
% Polisorbato 80 por CAD	0,080	0,081	0,082	0,091	NR	0,091	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 31: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas gOmpi de 2,25 ml almacenadas en condiciones aceleradas y de estrés, y frente a la agitación

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado		2,14 ml									
Contenedor/ Cierre		Jeringa de vidrio Nuova Ompi EZ-Fill de 2,25 ml con aguja de pared delgada 27G con protector de aguja FM30									
			Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)			Agitación orbital (h)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	2	24	48	
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	
pH		5,4	5,3	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3	5,3	5,2	
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	100	100	99	99	100	100	99	99	
Análisis de partículas	≥ 10 µm	3104	1045	1956	2270	NR	2339	1362	NR	3139	

subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 25 µm	2	1	2	11	NR	0	1	NR	11
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	18 565	21 342	12 788	13 835	NR	13 671	9727	NR	28 368
	≥ 10 µm	146	394	120	79	NR	1112	80	NR	674
	≥ 25 µm	0	0	7	3	NR	8	2	NR	0
MCE en con- diciones no reductoras	% de pure- za del pico prin- cipal	97,1	96,6	96,6	95,6	NR	94,7	92,8	NR	97,2
	% de espe- cies de LMW	2,9	3,2	3,1	3,8	NR	4,4	6,0	NR	2,7
	% de espe- cies de HMW	0,1	0,2	0,4	0,6	NR	0,9	1,2	NR	0,1
MCE en con- diciones re- ductoras	% Pureza	94,5	95,1	94,8	94,8	NR	93,4	91,8	NR	94,8
	% de espe- cies de LMW	2,1	1,9	1,8	2,3	NR	3,3	4,9	NR	2,1
	% NGHC	1,5	1,1	1,8	1,3	NR	1,6	1,4	NR	1,4
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,8	1,0	1,3	1,2	1,9	3,7	0,5	0,5
	% Nati-vo	99,3	99,0	98,8	98,4	98,2	97,4	95,7	99,3	99,3
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6	0,7	0,6	0,3	0,3
Análisis de	%	20,2	20,8	23,9	28,7	25,8	32,1	54,7	20,2	19,8

variantes de carga por CEX-UPLC	Ácido									
	% Principal	68,0	66,4	64,0	59,0	60,6	54,3	33,6	67,8	67,9
	% Básico	11,9	12,8	12,1	12,3	13,6	13,6	11,7	12,0	12,4
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,1	31,1	37,0	37,6	NR	40,3	57,4	NR	30,5
	% Principal	57,3	56,0	50,9	48,1	NR	44,5	26,8	NR	57,5
	% Básico	11,6	12,9	12,1	14,2	NR	15,3	15,8	NR	12,0
% Polisorbato 80 por CAD		0,080	0,081	0,082	0,090	NR	0,080	0,081	NR	0,080

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 32: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas BD Neopak de 2,25 ml almacenadas a 2-8 °C

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado	2,14 ml									
Contenedor/Cierre	Jeringa de vidrio BD Neopak SCF larga de 2,25 ml, aguja de pared delgada 27G y protector de aguja BD260									
	Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)									
Ensayo	0	1	3	6	9	12	18	24	36	
Color y apariencia	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado			
Turbidez (aumento de DO)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00			

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,14 ml								
Contenedor/Cierre		Jeringa de vidrio BD Neopak SCF larga de 2,25 ml, aguja de pared delgada 27G y protector de aguja BD260								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
a 405 nm)										
pH		5,4	5,3	5,3	5,2	5,2	5,2	5,3		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC		100	101	100	99	100	102	103		
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	296	363	513	560	NR	573	NR		
	≥ 25 µm	0	1	1	6	NR	5	NR		
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	3562	14 700	6832	12 464	NR	6453	NR		
	≥ 10 µm	25	176	18	20	NR	41	NR		
	≥ 25 µm	2	1	2	2	NR	5	NR		
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,8	97,0	97,5	97,2	NR	97,3	NR		
	% de especies de LMW	2,2	2,9	2,3	2,5	NR	2,3	NR		
	% de especies de HMW	0,1	0,1	0,2	0,3	NR	0,4	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,9	95,0	94,1	94,4	NR	94,8	NR		
	% de especies de LMW	1,7	2,0	2,2	2,0	NR	2,0	NR		
	% NGHC	1,6	1,4	2,0	1,7	NR	1,6	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,6	0,6	0,7	0,8	0,8		
	% Nativo	99,3	99,3	99,2	99,1	99,1	99,0	98,9		
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3		

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		2,14 ml								
Contenedor/Cierre		Jeringa de vidrio BD Neopak SCF larga de 2,25 ml, aguja de pared delgada 27G y protector de aguja BD260								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	20,2	19,9	19,9	19,8	19,2	18,2	19,3		
	% Principal	67,9	67,9	68,8	68,8	69,1	70,9	69,9		
	% Básico	12,0	12,2	11,3	11,4	11,7	10,9	10,9		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,2	30,7	30,4	30,6	NR	32,5	NR		
	% Principal	57,1	57,7	58,3	58,1	NR	55,1	NR		
	% Básico	11,7	11,6	11,3	11,3	NR	12,4	NR		
% Polisorbato 80 por CAD		0,80	0,081	0,082	0,091	NR	0,091	NR		
% de potencia relativa (bioensayo)		99	NR	NR	128	NR	NA	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 33: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas BD Neopak de 2,25 ml almacenadas en condiciones aceleradas y de estrés, y frente a la agitación

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado		2,14 ml									
Contenedor/Cierre		Jeringa de vidrio BD Neopak SCF larga de 2,25 ml, aguja de pared delgada 27G y protector de aguja BD260									
			Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)			Agitación orbital (h)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	2	24	48	
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00	
pH		5,4	5,3	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3	5,3	5,3	
% de proteína recuperada por RP- UPLC		100	100	100	100	99	100	101	100	99	
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	296	479	698	357	NR	468	609	NR	642	
	≥ 25 µm	0	0	1	2	NR	1	1	NR	1	
Análisis de partículas por MFI (partícu- las/ml)	De 2 a 10 µm	3562	11 550	7486	6464	NR	12 808	9128	NR	13 532	
	≥ 10 µm	25	154	38	36	NR	179	48	NR	243	
	≥ 25 µm	2	1	2	5	NR	5	0	NR	3	
MCE en condiciones no	% de pureza del pico	97,8	96,9	96,5	95,9	NR	95,4	93,2	NR	97,2	

reduc- toras	prin- cipal									
	% de espe- cies de LMW	2,2	3,0	3,2	3,6	NR	4,1	5,5	NR	2,7
	% de espe- cies de HMW	0,1	0,2	0,3	0,5	NR	0,5	1,3	NR	0,1
MCE en condicio- nes reduc- toras	% Pureza	94,9	94,7	94,2	93,9	NR	93,7	92,0	NR	94,9
	% de espe- cies de LMW	1,7	2,0	2,2	2,5	NR	2,8	4,3	NR	1,8
	% NGHC	1,6	1,5	1,8	2,0	NR	1,8	2,1	NR	1,7
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,8	1,0	1,3	1,2	1,9	3,6	0,5	0,5
	% Nati- vo	99,3	99,0	98,8	98,4	98,2	97,5	95,8	99,3	99,3
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6	0,7	0,6	0,3	0,2
Análisis de varian- tes de carga por CEX- UPLC	% Ácido	20,2	19,8	23,9	28,6	26,0	31,8	54,9	19,9	19,9
	% Principal	67,9	67,7	64,0	59,1	60,3	54,5	33,9	68,2	67,8
	% Bási- co	12,0	12,5	12,2	12,3	13,7	13,8	11,3	12,0	12,2
Análisis de varian- tes de carga por iCIEF	% Ácido	31,2	31,7	33,6	38,0	NR	40,1	56,4	NR	30,7
	% Prin- cipal	57,1	55,3	52,7	47,9	NR	43,1	26,4	NR	57,9
	% Bási- co	11,7	13,0	13,7	14,1	NR	16,9	17,2	NR	11,5
% Polisorbato 80 por CAD		0,80	0,081	0,082	0,090	NR	0,080	0,081	NR	0,081

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de

formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 34: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas SiOPlasma de 1 ml almacenadas a 2-8 °C

Formulación	mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado	1,05 ml								
Contenedor/Cierre	Jeringa SiOPlasma de 1 ml con aguja de pared delgada de calibre 27								
	Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
Ensayo	0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado		
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
pH	5,4	5,3	5,3	5,3	5,2	5,2	5,2		
% de proteína recuperada por SEC-UPLC	100	100	102	99	101	103	102		
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	16	14	25	18	NR	24	NR	
	≥ 25 µm	0	1	1	2	NR	2	NR	
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	241	333	295	334	NR	338	NR	
	≥ 10 µm	7	23	23	23	NR	23	NR	
	≥ 25 µm	2	5	0	2	NR	5	NR	
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,4	97,6	97,4	97,3	NR	97,7	NR	
	% de	2,5	2,3	2,5	2,6	NR	2,0	NR	

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		1,05 ml								
Contenedor/Cierre		Jeringa SiOPlasma de 1 ml con aguja de pared delgada de calibre 27								
		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)								
	especies de LMW									
	% de especies de HMW	0,1	0,1	0,1	0,1	NR	0,3	NR		
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	95,7	95,1	94,7	94,5	NR	94,1	NR		
	% de especies de LMW	1,5	1,9	2,1	2,1	NR	2,3	NR		
	% NGHC	1,0	1,3	1,4	1,7	NR	1,8	NR		
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8		
	% Nativo	99,3	99,3	99,2	99,1	99,1	99,0	98,9		
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Ácido	19,9	19,7	19,7	19,8	19,3	18,2	19,3		
	% Principal	68,1	68,1	68,8	68,7	69,0	70,9	69,6		
	% Básico	11,9	12,2	11,5	11,5	11,7	10,9	11,1		
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,2	30,7	30,4	30,6	NR	31,5	NR		
	% Principal	57,1	57,7	58,3	58,1	NR	56,7	NR		
	% Básico	11,7	11,6	11,3	11,3	NR	11,9	NR		
% Polisorbato 80 por CAD		0,081	0,081	0,081	0,091	NR	0,092	NR		

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 35: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 150 mg/ml en jeringas SiOPlasma de 1 ml almacenadas en condiciones aceleradas y de estrés, y frente a la agitación

Formulación		mAb1 a 150 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3								
Volumen de llenado		1,05 ml								
Contenedor/Cierre		Jeringa SiOPlasma de 1 ml con aguja de pared delgada de calibre 27								
			Almacenamiento a 25 °C/60 % de RH (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % de RH (meses)			Agitación orbital (h)
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	2	24	48
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00
pH		5,4	5,2	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3	5,3	5,3
% de proteína recuperada por RP-UPLC		100	100	101	99	101	101	101	100	99
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (#/ml)	≥ 10 µm	16	8	11	19	NR	14	32	NR	21
	≥ 25 µm	0	0	0	1	NR	0	1	NR	0
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	De 2 a 10 µm	241	437	774	11	NR	509	495	NR	518
	≥ 10 µm	7	31	457	23	NR	62	26	NR	8
	≥ 25 µm	2	3	774	11	NR	7	2	NR	0
MCE en condiciones	% de pureza	97,4	97,0	96,6	95,6	NR	94,7	93,1	NR	97,2

nes no reduc- toras	za del pico prin- cipal									
	% de espe- cies de LMW	2,5	2,7	3,0	3,7	NR	4,2	5,4	NR	2,7
	% de espe- cies de HMW	0,1	0,3	0,5	0,7	NR	1,1	1,5	NR	0,1
MCE en con- diciones reduc- toras	% Pure- za	95,7	94,5	94,9	94,1	NR	93,6	92,7	NR	95,6
	% de espe- cies de LMW	1,5	2,0	2,0	2,2	NR	3,0	4,2	NR	1,7
	% NGHC	1,0	1,7	1,5	1,7	NR	1,6	1,5	NR	1,0
Pureza por SE-UPLC	% HMW	0,5	0,8	1,0	1,3	1,2	1,9	3,8	0,5	0,5
	% Nati- vo	99,3	99,0	98,8	98,4	98,2	97,4	95,6	99,2	99,3
	% LMW	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6	0,7	0,6	0,3	0,3
Análisis de varian- tes de carga por CEX- UPLC	% Ácido	19,9	21,0	24,1	63,6	26,0	32,0	54,7	20,0	19,8
	% Prin- cipal	68,1	66,2	28,7	59,1	60,7	54,0	33,5	67,9	67,8
	% Bási-	11,9	12,7	24,1	63,6	13,3	14,0	11,8	12,0	12,4

	co									
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Ácido	31,2	31,7	33,6	38,0	NR	40,1	56,4	NR	30,7
	% Principal	57,1	55,3	52,7	47,9	NR	43,1	26,4	NR	57,9
	% Básico	11,7	13,0	13,7	14,1	NR	16,9	17,2	NR	11,5
% Polisorbato 80 por CAD		0,081	0,081	0,082	0,091	NR	0,081	0,082	NR	0,081

CEX = intercambio catiónico; DS = principio activo; FDG = Grupo de desarrollo de formulaciones; HMW = alto peso molecular; iCIEF = enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LMW = bajo peso molecular; MCE-SDS = electroforesis capilar con microchip-dodecil sulfato de sodio; MFI = formación de imágenes de microflujo; NR = no requerido; OD = densidad óptica; RH = humedad relativa; RP = fase inversa; SE = exclusión por tamaño; UPLC = cromatografía líquida de ultrarresolución

Tabla 36: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico mAb1 a 75 mg/ml en frascos de vidrio almacenados a 2 – 8 °C

Formulación		mAb1 a 75 mg/ml, acetato 10 mM, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 70 mM, polisorbato 80 al 0,08 % (p/v), pH 5,3									
Volumen de llenado		2,5 ml									
Contenedor/Cierre		Frascos de vidrio de borosilicato ISO 6R tipo 1 con tapones West WPS-1343 4023/50 B2-40 recubiertos FluroTec® de 20 mm									
Ensayo		Duración del almacenamiento a 2-8 °C (meses)									
		0	1	2	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado			
Turbidez (aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01			
pH		5,3	5,3	5,3	5,3	5,2	5,3	5,3			
Análisis de partículas subvisibles por HIAC (N/ml)	≥ 10 µm	4	7	6	7	3	NR	3			
	≥ 25 µm	0	1	1	2	1	NR	0			
Análisis de partículas subvisibles por	De 2 a 10 µm	238	373	398	578	677	NR	776			
	≥ 10 µm	7	13	10	7	21	NR	21			

MFI (N/ml)	≥ 25 µm	2	0	2	2	3	NR	3			
% de proteína recuperada por SE-UPLC		100	102	102	100	101	100	100			
MCE en condiciones no reductoras	% de pureza del pico principal	97,5	97,3	97,2	97,2	97,3	NR	97,4			
	% de especies de LMW	2,5	2,7	2,6	2,6	2,6	NR	2,3			
	% de especies de HMW	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	NR	0,3			
MCE en condiciones reductoras	% Pureza	94,4	93,7	94,3	94,6	94,3	NR	94,1			
	% de especies de LMW	1,8	2,0	2,0	1,9	2,1	NR	2,4			
	% NGHC	2,0	1,9	1,9	1,9	1,9	NR	1,9			
Pureza por SE-UPLC	% de especies de HMW	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6			
	% de pureza pico principal	99,3	99,3	99,3	99,3	99,2	99,1	99,2			
	% de especies de LMW	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3			
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% Región 1	20,9	20,8	21,2	20,9	20,7	19,6	19,6			
	% Región 2	69,6	69,6	69,2	69,5	69,1	71,5	70,8			
	% Región 3	9,5	9,6	9,7	9,7	10,2	8,9	9,6			
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% Región 1	35,6	35,4	34,6	34,9	33,7	NR	33,2			
	% Región 2	55,3	55,5	56,3	56,4	56,4	NR	56,6			
	% Región 3	9,2	9,2	9,1	8,8	9,9	NR	10,3			
% de potencia relativa (bioensayo)		58	NR	NR	NR	63	NR	NA			

CEX, intercambio catiónico; DS, principio activo; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HMW, alto peso molecular; iCIEF, enfoque isoelectrico capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MFI, microflujo de imágenes; Monómero, anticuerpo intacto; NA, no disponible; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultrarresolución

Los resultados de los estudios de estabilidad con almacenamiento a largo plazo, en condiciones aceleradas y de estrés indican que las formulaciones de mAb1 fueron estables durante la fabricación (operaciones de formulación, llenado/acabado y etiquetado) y pueden soportar exposiciones breves a temperatura ambiente sin comprometer la estabilidad física o química.

El alcance de la presente invención no se limita a las modalidades descritas en la presente. De hecho, varias modificaciones de la invención, además de aquellas que se describen en la presente, serán evidentes para las personas expertas en la técnica a partir de la descripción anterior. Se pretende que dichas modificaciones se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.