

FORMULACIÓN ESTABLE DE ANTICUERPO DE INTEGRINA

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a formulaciones estables de una molécula de anticuerpo, en las que el anticuerpo se estabiliza con excipientes mínimos. Las formulaciones divulgadas son compatibles tanto con la forma liofilizada como líquida y también son adecuadas para la ruta de administración intravenosa y/o subcutánea.

10

ANTECEDENTES

En las últimas dos décadas, la tecnología del ADN recombinante ha conducido a la comercialización de muchas proteínas, particularmente, productos terapéuticos de anticuerpos. La eficacia de estos anticuerpos terapéuticos depende principalmente de la estabilidad, la ruta de administración y sus formas de dosificación y concentraciones. Esto, a su vez, requiere que los anticuerpos terapéuticos se formulen apropiadamente para conservar la estabilidad y la actividad de un anticuerpo terapéutico.

20

Las formulaciones para cada ruta de administración y formas de dosificación pueden ser únicas y, por lo tanto, tener requisitos específicos. Las formas de dosificación sólidas, tales como los polvos liofilizados, son generalmente más estables que las formulaciones líquidas (acuosas). Sin embargo, la

reconstitución de la formulación liofilizada requiere un sobrellenado del vial significativo, cuidado en el manejo e implica un alto coste de producción en relación con una formulación líquida. Si bien las formulaciones líquidas son ventajosas en estos casos y, por lo general, se prefieren para las terapias de

5 proteínas inyectables (en términos de conveniencia para el usuario final y facilidad de preparación para el fabricante), esta forma puede no ser siempre factible dada la susceptibilidad de las proteínas a la desnaturalización, agregación y oxidación bajo tensiones tales como temperatura, cambios de pH, agitación, etc. Todos estos factores de tensión podrían resultar en la pérdida de

10 actividad biológica de una proteína/anticuerpo terapéutico. En particular, las formulaciones líquidas de alta concentración son susceptibles a degradación y/o agregación. No obstante, las formulaciones de alta concentración pueden ser deseables para la ruta de administración subcutánea o intravenosa, ya que se reduce la frecuencia de administración y el volumen de inyección. Por otro lado,

15 el programa de tratamiento y la dosificación específicos pueden requerir una formulación de baja concentración y preferir la ruta de administración intravenosa para un suministro más predecible y una biodisponibilidad completa del fármaco terapéutico.

20 Por lo tanto, diseñar una formulación que sea estable a concentraciones altas o bajas de la proteína/anticuerpo terapéutico, que ayude en diferentes rutas de administración (intravenosa o subcutánea) y que sea adecuada en forma liofilizada o líquida, plantea un importante desafío de desarrollo. Adicionalmente, cada proteína o anticuerpo con sus características y propiedades de degradación

únicas agrega complejidad al desarrollo de una formulación estable y puede demandar una formulación específica.

Una formulación estable de una proteína o anticuerpo terapéutico implica la
5 adición de una amplia variedad de estabilizantes/excipientes que incluyen aminoácidos, azúcares, polioles, tensioactivos, sales, polímeros, aminas, antioxidantes, quelantes, etc. Muchas de las proteínas/anticuerpos terapéuticos aprobados por la FDA contienen más de una categoría de estabilizadores.

- 10 Una combinación de formulación con mayor concentración de proteína y/o estabilizadores puede aumentar la viscosidad de la formulación, lo que a su vez aumenta el tiempo de inyección y el dolor en el lugar de la inyección y también plantea dificultades durante el procesamiento de la sustancia de fármaco. Por tanto, es necesario desarrollar una formulación mejorada, tanto en forma
15 liofilizada como líquida, que contenga un número o concentración mínimos de excipientes, pero que estabilice el fármaco en un amplio rango de su concentración.

RESUMEN

20

La presente invención divulga una formulación farmacéutica estable de un anticuerpo que comprende tampón, polietilenglicol (PEG) y tensioactivo, en la que dicha formulación carece de azúcar(es).

En particular, la invención divulga una formulación farmacéutica estable de un anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ que comprende tampón, sal de PEG, aminoácido libre y tensioactivo y en la que dicha formulación carece de azúcar(es). El anticuerpo en dicha formulación es estable y mantiene al menos el 97 % del contenido monomérico del anticuerpo en la formulación incluso después de almacenamiento de cuatro semanas a 40 °C o a 25 °C.

La invención también divulga un método para controlar variantes de carga y agregados del anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ en una formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ al formular el anticuerpo en un tampón que comprende PEG, sal, aminoácidos y componentes tensioactivos.

La combinación de PEG, sal y aminoácido libre imparte estabilidad coloidal al anticuerpo $\alpha 4\beta 7$.

La combinación divulgada de PEG, sal, aminoácido y tensioactivo estabiliza el anticuerpo en concentraciones desde aproximadamente 60 mg/ml hasta aproximadamente 200 mg/ml.

La combinación de PEG, sal, aminoácido libre y surfactante inhibe la formación de agregados de alto peso molecular del anticuerpo. Adicionalmente, la combinación particular inhibe la formación del contenido de variantes de carga (variantes ácidas/básicas) en el anticuerpo.

En particular, el cambio en el contenido de variantes ácidas del anticuerpo para la formulación de vedolizumab de alta concentración (al menos 150 mg/ml) es menor que el 5 %, específicamente menor que el 2 %, incluso cuando las muestras de anticuerpos se someten a condiciones aceleradas de 40 °C durante 5 2 semanas.

Las formulaciones líquidas divulgadas son compatibles con el proceso de liofilización y no se observaron cambios en los atributos de calidad (agregados/variantes ácidas/básicas) incluso después de la liofilización.

10

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

15 El término “aproximadamente” se refiere a un rango de valores que son similares al valor de referencia establecido e incluye un rango de valores que se encuentran dentro del 20 % o menos del valor de referencia establecido.

20 El término “anticuerpo” se refiere a una glicoproteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, o una porción de unión a antígeno de las mismas. El “anticuerpo”, como se utiliza en el presente documento, abarca anticuerpos completos o cualquier fragmento de unión a antígeno (es decir, “porción de unión a antígeno”) o proteína de fusión de los mismos.

El término formulación “estable” se refiere a la formulación en la que el anticuerpo conserva su estabilidad física y/o estabilidad química y/o actividad biológica durante el almacenamiento.

5

El término “inicial” se refiere a los datos en el punto de tiempo cero a la temperatura respectiva. Los datos representados como '0' W en los ejemplos son el contenido inicial del anticuerpo.

- 10 Los estudios de estabilidad proporcionan evidencia de la calidad de un anticuerpo bajo la influencia de varios factores ambientales durante el transcurso del tiempo. El “Q1A: Pruebas de Estabilidad de Nuevos Fármacos y Productos” de ICH establece que los datos de los estudios de estabilidad acelerados se pueden utilizar para evaluar el efecto de las excursiones a corto plazo más altas
- 15 o más bajas que las condiciones de almacenamiento indicadas en la etiqueta que pueden ocurrir durante el envío de los anticuerpos.

- Están disponibles varios métodos analíticos para medir la degradación física y química del anticuerpo en las formulaciones farmacéuticas. Un anticuerpo
- 20 “conserva su estabilidad física” en una formulación farmacéutica si no muestra sustancialmente signos de agregación, precipitación y/o desnaturalización luego del examen visual del color y/o claridad, o medido por dispersión de luz UV o por cromatografía de exclusión por tamaño. Se dice que un anticuerpo “conserva su estabilidad química” en una formulación farmacéutica cuando no muestra o

muestra una formación mínima de variantes del producto que pueden incluir variantes como resultado de la modificación química del anticuerpo de interés, tales como desaminación, oxidación, etc. Métodos analíticos tales como la cromatografía de intercambio iónico y la cromatografía iónica hidrófoba se
5 pueden utilizar para investigar las variantes del producto químico.

El término “monómero”, como se utiliza en el presente documento, describe anticuerpos que consisten en dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas. El contenido de monómero de una composición de anticuerpos se analiza
10 normalmente mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Según el principio de separación de SEC, las moléculas grandes o las moléculas con alto peso molecular (HMW) eluyen primero, seguidas por las moléculas más pequeñas o de menor peso. En un perfil SEC típico para una composición de anticuerpos, los agregados que pueden incluir dímeros, multímeros, etc., se
15 eluyen primero, seguidos por el monómero, y las variantes o degradantes del anticuerpo recortado se pueden eluir en último lugar. En algunas circunstancias, el pico agregado o los picos degradantes pueden no eluirse como picos separados del valor de referencia, sino como un hombro o picos anchos anormales. Para mantener la actividad apropiada de un anticuerpo, en particular
20 de un anticuerpo terapéutico, es deseable reducir la formación de agregados o fragmentación de productos y por lo tanto controlar el contenido de monómero a un valor objetivo. La capacidad para inhibir la formación de contenido agregado y degradante, medida en varios puntos de tiempo durante los estudios de estabilidad, puede indicar la idoneidad de la formulación candidata para el

anticuerpo de interés. La columna TSK-GEL G3000SWXL (7,8 mM x 30 cm) de TOSCH se puede utilizar sobre HPLC de agua para realizar SEC.

El término “pico principal”, como se utiliza en el presente documento, se refiere al pico que eluye en abundancia (pico principal) durante una cromatografía de intercambio catiónico. El pico que se eluye antes que el pico principal, durante una cromatografía de intercambio catiónico, con una carga que es ácida en relación con el pico principal se denomina pico de variante ácida. El pico que se eluye después que el pico principal, durante una cromatografía de intercambio catiónico, con una carga que es relativamente básica que el pico principal se denomina pico de variante básica. El contenido del pico principal se puede determinar mediante cromatografía de intercambio iónico (IEC). Hay dos modos de IEC disponibles, a saber, cromatografía de intercambio catiónico y aniónico. Las moléculas con carga positiva se unen a las resinas de intercambio aniónico, mientras que las moléculas con carga negativa se unen a las resinas de intercambio catiónico. En un perfil cromatográfico de intercambio catiónico típico de una composición de anticuerpo, las variantes ácidas se eluyen primero, seguidas por el pico principal y, a continuación, por último, se eluirán las variantes básicas. Las variantes ácidas son el resultado de modificaciones de anticuerpos, tales como la desamidación de residuos de asparagina. Las variantes básicas son el resultado de la eliminación incompleta de los residuo(s) de lisina de terminal C. En general, en un anticuerpo está presente un residuo de lisina en el extremo del terminal C de la cadena pesada y ligera. Una molécula de anticuerpo que contiene lisina tanto en la cadena pesada como en la liviana

se denomina variante K2, la molécula de anticuerpo que contiene un residuo de lisina en cualquiera de las cadenas pesada y liviana se denomina variante K1 y la molécula de anticuerpo que no la contiene es la molécula K0. La enzima carboxipeptidasa B (enzima CP-B) actúa sobre los residuos de lisina de terminal

5 C presentes en las variantes K2 y K1 y, por lo tanto, los convierte en moléculas K0. Según las circunstancias del caso, el análisis IEC se puede realizar para muestras digeridas con la enzima carboxipeptidasa B (CP-B). En un estudio de estabilidad típico, se espera que una formulación estable conduzca a una reducción en la formación de variantes de carga (variantes ácidas y básicas)

10 durante el estudio y, por lo tanto, minimice cualquier reducción en el contenido del pico principal.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables se refieren a los aditivos o portadores que pueden contribuir a la estabilidad del anticuerpo en la

15 formulación. Los excipientes pueden abarcar estabilizadores y modificadores de la tonicidad. Los ejemplos de estabilizadores y modificadores de la tonicidad incluyen, pero no se limitan a, sales, tensioactivos y derivados y combinaciones de los mismos.

20 El término azúcar/es como se utiliza en el presente documento incluye azúcares y alcoholes de azúcar/polioles. Los azúcares pueden denominarse monosacáridos, disacáridos y polisacáridos. Los ejemplos de azúcares incluyen, pero no se limitan a, sacarosa, trehalosa, glucosa, dextrosa, rafinosa y otros.

Ejemplos de alcoholes de azúcar o polioles incluyen, pero no se limitan a, manitol, sorbitol y otros.

El tensioactivo se refiere a excipientes farmacéuticamente aceptables utilizados
5 para proteger las formulaciones de proteínas contra diversas condiciones de
tensión, como agitación, cizallamiento, exposición a altas temperaturas, etc. Los
tensioactivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ésteres de ácidos grasos
de polioxietilensorbitán como Tween 20™ o Tween 80™, copolímero de
polioxietileno-polioxipropileno (por ejemplo, Poloxámero, Pluronic),
10 dodecilsulfato de sodio (SDS) y similares o una combinación de los mismos.

El término “aminoácido libre”, como se utiliza en el presente documento, se
refiere al aminoácido que se incluye en la formulación y no es parte del
componente de tampón. Un aminoácido puede estar presente en su forma D y/o
15 L. El aminoácido puede estar presente como cualquier sal adecuada, por
ejemplo, una sal de clorhidrato, tal como arginina-HCl.

Los ejemplos de sales incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio, cloruro de
potasio, cloruro de magnesio, tiocianato de sodio, tiocianato de amonio, sulfato
20 de amonio, cloruro de amonio, cloruro de calcio, cloruro de zinc y/o acetato de
sodio.

El término “antioxidante” se refiere a un agente que inhibe la oxidación de otras
moléculas y no forma parte del componente tampón. Los ejemplos de

antioxidantes en el presente documento incluyen citrato, ácido lipoico, ácido úrico, glutatión, tocoferol, caroteno, licopeno, cisteína, metionina, compuestos de fosfonato, por ejemplo, ácido etidrónico, desferoxamina y malato.

- 5 Ciertos aspectos y realizaciones específicos de la invención se describen más completamente con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos no se deben interpretar como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

10 Descripción detallada de las realizaciones

- Muchas de las formulaciones de anticuerpos aprobadas contienen azúcar como estabilizador. Específicamente, los azúcares no reductores tales como sacarosa, trehalosa, manitol, sorbitol se utilizan comúnmente y en gran medida como
- 15 estabilizadores en muchas de las formulaciones de anticuerpos aprobadas y estos excipientes se utilizan tanto en formulaciones liofilizadas como líquidas. Sin embargo, se sabe que los azúcares, particularmente la sacarosa, se degradan por hidrólisis durante el almacenamiento. La hidrólisis de la molécula de sacarosa se puede deber a cambios en la temperatura o el pH.
- 20 Adicionalmente, los productos hidrolizados de sacarosa conducen a la glicación de la proteína presente en la formulación. A pesar de esto, el azúcar/sacarosa desempeña una función importante en la estabilización y liofilización de la formulación de proteína/anticuerpo y, por lo tanto, en gran medida todas las

formulaciones incluyen azúcar/sacarosa y se ha vuelto difícil excluir el azúcar/sacarosa y al mismo tiempo desarrollar una formulación estable.

Sin embargo, la presente invención divulga una formulación de anticuerpo,
5 específicamente una formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, que se estabiliza por PEG y sin la presencia de ningún azúcar o alcohol de azúcar.

La presente invención divulga una formulación farmacéutica estable de un anticuerpo que comprende tampón, PEG, sal y tensioactivo, en la que la
10 formulación carece de azúcar.

En una realización, la invención divulga una formulación farmacéutica estable de un anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ que comprende tampón, PEG, sal y tensioactivo, en la que la formulación carece de azúcar y antioxidante.

15

En la realización anterior de la invención, la concentración de PEG presente en la formulación de anticuerpo es al menos 3 %. Preferiblemente, la concentración de PEG es 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 % y 10 %.

20 En una realización de la invención, la concentración de PEG en la formulación de anticuerpo es aproximadamente 10 %.

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención, la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ opcionalmente contiene aminoácido libre, preferiblemente aminoácidos hidrófobos o básicos.

- 5 En dicha realización anterior, el aminoácido hidrófobo es glicina y aminoácido básico es arginina.

En todas las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención, la concentración de el anticuerpo en la formulación es aproximadamente 50 mg /ml
10 a aproximadamente 200 mg/ml. Preferiblemente la concentración de el anticuerpo en la formulación es 60 mg/ml, o 80 mg/ml, o 100 mg/ml, o 120 mg/ml, o 150 mg/ml o 160 mg/ml, o 170 mg/ml o 175 mg/ml o 180 mg/ml.

En una realización, la invención divulga formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ de alta
15 concentración que comprende aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, tampón, PEG, sal, arginina y tensioactivo, y en la que la formulación es libre de azúcar y antioxidante.

En dicha realización anterior, la concentración de PEG es al menos 3 % a
20 aproximadamente 10 % y el peso en relación de peso de PEG a anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es 0,2-0,7:1 (w/w).

En una realización, la invención divulga formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ a alta concentración en la que la formulación comprende aproximadamente 160 mg/ml

de vedolizumab, tampón, al menos aproximadamente 3 % de PEG, aminoácido, sal y tensioactivo en la que el peso en relación de peso de PEG a anticuerpo es 0,2: 1 (w/w).

- 5 En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención, la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es estable y mantiene al menos 97 % de contenido monomérico del anticuerpo, incluso después de almacenamiento a 40 °C durante cuatro semanas y también el contenido agregado del anticuerpo es menor que el 2 % incluso después de almacenamiento a 40 °C durante cuatro
10 semanas.

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención, la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es estable y contiene menos del 1,5 % de especies o fragmentos de bajo peso molecular (LMW) en la formulación, incluso
15 después de almacenamiento a 40 °C durante cuatro semanas.

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención, la combinación de PEG, aminoácido, sal y tensioactivo presente en las formulaciones inhibe/reduce la formación de variantes de carga incluso después
20 de almacenamiento a 40 °C durante dos semanas.

En una realización, la invención divulga una formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ a alta concentración estable, que comprende aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, tampón de histidina-fosfato 20 mM, 26 mg/ml de arginina, 2.

92 mg/ml de cloruro de sodio, PEG al 10 % y 0,6 mg/ml de tensioactivo. La combinación divulgada de excipientes en la formulación de anticuerpo mantiene al menos 98 % de contenido monomérico de la composición de anticuerpo incluso después de almacenamiento a 40 °C durante dos semanas.

5

En una realización, la invención divulga una formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ a alta concentración estable que comprende aproximadamente 160 mg/ml de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, tampón de histidina 50 mM, 26 mg/ml de arginina, 2,92 mg/ml de cloruro de sodio, PEG al 10 % y 0,6 mg/ml de tensioactivo. La combinación divulgada de excipientes en la formulación de anticuerpo mantiene al menos 98 % de contenido monomérico de la composición de anticuerpo incluso después de almacenamiento a 40 °C durante dos semanas.

10

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención, la combinación de PEG, aminoácido y sal presente en la formulación imparte estabilidad coloidal a la formulación de anticuerpo.

15

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, la viscosidad de las formulaciones es menor que 20 cP, específicamente menor que 10 cP.

20

En una realización la invención divulga, un método para controlar la conversión del contenido de pico principal a las variantes de carga y el contenido agregado de un anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, en el que el método comprende la adición de una

composición de tampón que comprende PEG, aminoácido, sal y tensioactivo a dicha formulación de anticuerpo.

En aún otra realización, la invención divulga un método para controlar las
5 variantes de carga y el contenido agregado del anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ en una
formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, el método comprende la adición de una
composición de tampón que comprende PEG, sal, arginina y tensioactivo a la
formulación de anticuerpo, en la que la formulación controla la formación de
variantes de carga y agregados de anticuerpo y mantiene al menos 98 % de
10 contenido monomérico y al menos 50 % del anticuerpo como contenido de pico
principal incluso cuando se almacena a 40 °C durante dos semanas o a 25 °C
durante cuatro semanas.

En otra realización, la invención divulga un método para reducir un cambio o
15 aumento en las variantes de carga y el contenido agregado del anticuerpo $\alpha 4\beta 7$
en una formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, el método comprende la adición de un
tampón que comprende PEG, sal, arginina y tensioactivo a la formulación de
anticuerpo, en el que el cambio o aumento en el contenido agregado es menor
del 1 % y el contenido de variantes de carga es menor del 5 %, cuando se
20 almacena a 40 °C durante dos semanas o a 25 °C durante cuatro semanas, y
cuando se compara con el contenido en las condiciones de almacenamiento
iniciales.

En la realización mencionada anteriormente, el cambio en el contenido de variantes ácidas es menor del 5 % incluso después de almacenamiento a 40 °C durante 2 semanas.

- 5 En dicha realización anterior, la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es estable y mantiene al menos 98 % de contenido monomérico del anticuerpo, incluso después de almacenamiento a 40 °C durante dos semanas y también el contenido agregado del anticuerpo es menor del 1,5 % incluso después de almacenamiento a 40 °C durante dos semanas.

10

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, el anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ formulado en combinación de PEG, sal, arginina y tensioactivo es biológicamente activo.

- 15 En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, la sal presente en formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es cloruro de sodio.

- En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, el tampón mencionado en la formulación incluye tampón orgánico, tampón inorgánico y/o
20 combinaciones de los mismos.

En la realización mencionada anteriormente de la invención, dicho tampón orgánico incluye tampón de histidina, tampón de succinato o tampón de acetato.

En aún otra realización de la invención, el tampón inorgánico mencionado en la formulación incluye tampón de fosfato.

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente de la invención,
5 el pH de la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es desde 5,0-7,0,

En una realización, la invención divulga una formulación farmacéutica estable del anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ que comprende tampón de histidina-fosfato, PEG, tensioactivo, sal y arginina, en la que la formulación no contiene azúcar.

10

En dicha realización anterior, la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es estable y mantiene al menos 97 % de contenido monomérico del anticuerpo y controla las especies de bajo peso molecular a menos del 1,2 % en la formulación, incluso después de almacenamiento a 40 °C durante cuatro semanas.

15

En una realización, la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ que comprende tampón, PEG, cloruro de sodio, tensioactivo y azúcar, contiene menos del 15 % de variantes básicas, y menos de aproximadamente 1,5 % de las especies de bajo peso molecular incluso después de almacenamiento a 25 °C durante cuatro
20 semanas.

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, la formulación del anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ es una formulación líquida (acuosa) estable, que se puede utilizar para administración parenteral. La administración parenteral incluye la

administración intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular o cualquier otra ruta de suministro que generalmente se considera que cae dentro del alcance de la administración parenteral y como es bien conocido por un experto en la técnica

5

En cualquiera de las realizaciones anteriores de la invención, la formulación líquida/acuosa estable es adecuada y se puede liofilizar como polvos liofilizados. Adicionalmente, la formulación liofilizada del anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ se puede reconstituir con el diluyente apropiado para lograr la formulación líquida adecuada para la administración.

10

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, el anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ líquido estable es compatible con el proceso de liofilización y el proceso de liofilización no impacta los atributos de calidad del anticuerpo.

15

En la realización mencionada anteriormente, la formulación de anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ liofilizado se reconstituye utilizando agua para inyección, en la que el tiempo de reconstitución es menor que 5 minutos.

20

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, el anticuerpo $\alpha 4\beta 7$ incluye vedolizumab.

Otro aspecto de la invención proporciona un vial, una jeringa precargada o un dispositivo autoinyector, o cualquier otro dispositivo adecuado que comprenda

cualquiera de las formulaciones objeto descritas en el presente documento. En determinadas realizaciones, la formulación acuosa almacenada en el vial o la jeringa precargada o el dispositivo autoinyector contiene vedolizumab, PEG, tampón, aminoácido, sal y tensioactivo.

5

En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, las formulaciones de anticuerpos $\alpha 4\beta 7$ son visiblemente transparentes sin partículas, incluso cuando se almacenan a 40 °C durante dos o cuatro semanas.

- 10 Las formulaciones divulgadas de la invención utilizan cantidades menores de excipientes para estabilizar el anticuerpo terapéutico. Adicionalmente, las formulaciones carecen de azúcar.

EJEMPLOS

15

Un anticuerpo $\alpha 4\beta 7$, vedolizumab, adecuado para el almacenamiento en la presente composición farmacéutica, se produce mediante métodos estándar conocidos en la técnica. Por ejemplo, vedolizumab se prepara mediante la expresión recombinante de genes de cadena ligera y pesada de inmunoglobulina

20 en una célula anfitriona de mamífero, tal como las células de Ovario de Hámster Chino. Adicionalmente, el vedolizumab expresado se recolecta y la cosecha cruda se somete a etapas de proceso posteriores estándar que incluyen las etapas de purificación, filtración y, opcionalmente, dilución o concentración. Por ejemplo, la cosecha cruda de vedolizumab se puede purificar utilizando técnicas

de cromatografía estándar tales como cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico y combinaciones de las mismas. La solución de vedolizumab purificada se puede someter adicionalmente a una o más etapas de filtración, y la solución obtenida se somete a estudios de formulación
5 adicionales.

Ejemplo 1 Formulaciones de vedolizumab sin azúcares y antioxidantes libres.

El anticuerpo de vedolizumab de alta concentración purificado,
10 aproximadamente 100 mg/ml, contiene al menos 8 mg/ml de arginina y/o 75 mg/ml de trehalosa en tampón de fosfato de histidina de segundo plano se obtuvo de las etapas cromatográficas posteriores. Posterior a lo cual, dependiendo del requerimiento de excipientes en la formulación se agregaron PEG-400, NaCl, trehalosa y polisorbato en la formulación para elaborar la
15 formulación final. Para mantener el control, se obtuvieron aproximadamente 100 mg/ml de vedolizumab purificado en tampón de histidina de segundo plano que contenía 26,3 mg/ml de arginina y 100 mg/ml de sacarosa de las etapas cromatográficas posteriores. Se agregó polisorbato-80 a la formulación final. Todas las formulaciones se diluyeron para hacer la formulación final.

20

Los detalles de las cinco formulaciones de vedolizumab se mencionan en la Tabla 1. Todas las formulaciones de vedolizumab se sometieron a estudios de estabilidad acelerada a 40 °C durante cuatro semanas y a 25 °C durante cuatro semanas. Después de lo cual, las muestras se analizaron para especies de bajo

peso molecular (LMW) y contenido de monómero utilizando cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) [los resultados se dan en las Tablas 2 y 4] y también se verificó el contenido de pico principal, variantes ácidas y básicas utilizando cromatografía de intercambio iónico [Tabla 3 y 5]. Y también, se verificó la

5 solubilidad y el diámetro hidrodinámico (Rh) de estas muestras utilizando la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) [Tabla 6].

Tabla 1: Composiciones de varias formulaciones de vedolizumab sin azúcares y antioxidantes

Nombre de la Muestra	Composición
Vmab-Control	Vedolizumab 60 mg/ml, monoclórhidrato de histidina 50 mM, sacarosa 100 mg/ml, arginina 26,3 mg/ml, 0,6 mg/ml de polisorbato 80, pH 6,2
Vmab-1	Vedolizumab 60 mg/ml, tampón de histidina-fosfato 20 mM, NaCl 50 mM, 13 mg/ml de arginina, 75 mg/ml de trehalosa, 0,6 mg/ml de polisorbato 80, pH 6,2
Vmab-2	Vedolizumab 60 mg/ml, tampón de histidina-fosfato 20 mM, NaCl 50 mM, 13 mg/ml de arginina, PEG-400 al 10 %, 0,6 mg/ml de polisorbato 80, pH 6,2
Vmab-3	Vedolizumab 60 mg/ml, tampón de histidina-fosfato 40 mM, NaCl 50 mM, 9,5 mg/ml de arginina, 75 mg/ml de trehalosa, 0,6 mg/ml de polisorbato 80

Vmab-4	Vedolizumab 60 mg/ml, tampón de histidina-fosfato 40 mM, NaCl 50 mM, 9,5 mg/ml de arginina, PEG-400 al 10 %, 0,6 mg/ml de polisorbato 80
--------	--

Tabla 2: Datos de SEC de formulaciones de vedolizumab (60 mg/ml) preparadas según el ejemplo 1

Nombre de la Muestra	Datos de SEC a 40 °C											
	% de LMW a 40 °C				% de monómero a 40 °C				% de HMW			
	0	1	2W	4W	0 W	1 W	2W	4W	0	1	2W	4W
	W	W							W	W		
Vmab- Control	0,0	0,3	0,7	1,2	99,6	99,0	98,1	97,0	0,4	0,7	1,1	1,8
Vmab-1	0,0	0,5	0,6	1,0	99,3	98,5	98,3	97,4	0,7	1,0	1,1	1,6
Vmab-2	0,0	0,4	0,6	1,1	99,2	98,7	98,2	97,3	0,7	0,9	1,2	1,7
Vmab-3	0,0	0,4	0,6	1,1	99,3	98,4	97,8	96,7	0,7	1,2	1,6	2,3
Vmab-4	0,0	0,5	0,6	1,1	99,3	98,3	98,0	97,0	0,7	1,1	1,4	1,9

W-indica semanas

5

Tabla 3: Datos de IEX de formulaciones de vedolizumab (60 mg/ml) preparadas según el ejemplo 1

Nombre de la Muestra	Datos de IEX a 40 °C	
	'0'W	

	Variantes ácidas	Pico Principal	Variantes Básicas	cambio en % de variantes ácidas a 40 °C durante cuatro semanas
Vmab- Control	21,6	67,9	10,5	20,6
Vmab-1	25,8	66,3	7,9	16,7
Vmab-2	25,8	66,5	7,7	15,3
Vmab-3	27,1	63,8	9,2	15,8
Vmab-4	27,1	64,0	9,0	13,9

W-indica semanas

Tabla 4: Datos de SEC de formulaciones de vedolizumab (60 mg/ml) preparadas según el ejemplo 1

Nombre de la Muestra	Datos de SEC a 25 °C								
	% de LMW a 25 °C			% de Monómero a 25 °C			% de HMW a 25 °C		
	0 W	4W	% de cambio	0 W	4 W	% de cambio	0 W	4 W	% de cambio
Vmab- Control	0,0	0,1	0,1	99,6	99,2	0,4	0,4	0,7	0,3
Vmab-1	0,0	0,1	0,1	99,3	99,0	0,3	0,7	1,1	0,4
Vmab-2	0,0	0,4	0,4	99,2	98,6	0,6	0,7	0,9	0,2
Vmab-3	0,0	0,3	0,3	99,3	98,5	0,8	0,7	1,2	0,5

Vmab-4	0,0	0,4	0,4	99,3	98,5	0,8	0,7	1,1	0,4
--------	-----	-----	-----	------	------	-----	-----	-----	-----

W-indica semanas

Tabla 5: Datos de IEX de formulaciones de vedolizumab (60 mg/ml) preparadas según el ejemplo 1

Nombre de la Muestra	Datos de IEX a 25 °C								
	% de Variantes ácidas a 25 °C			% de Pico principal a 25 °C			% de Variantes básicas a 25 °C		
	0 W	4W	% de cambio	0 W	4 W	% de cambio	0 W	4 W	% de cambio
Vmab-Control	21,6	22,3	0,7	67,9	65,3	2,6	10,5	12,5	2,0
Vmab-1	25,8	23,9	-1,9	66,3	61,9	4,4	7,9	14,2	6,3
Vmab-2	25,8	24,9	-1,0	66,5	63,9	2,6	7,7	11,2	3,5
Vmab-3	27,1	25,1	-2,0	63,8	60,3	3,5	9,2	14,7	5,5
Vmab-4	27,1	25,6	-1,5	64,0	62,0	2,0	9,0	12,4	3,5

5 W-indica semanas

Tabla 6: Datos de DLS de formulaciones de vedolizumab (60 mg/ml) preparadas según el ejemplo 1

Nombre de la Muestra	Datos de DLS a 40 °C	
	Coeficiente de difusión (Cm ² /s)	Radio hidrodinámico (Rh) (nm)

	0 W	4W	0 W	4 W
Vmab-Control	2,28E-07	2,46E-07	10,8	10,0
Vmab-1	2,16E-07	2,30E-07	11,4	10,7
Vmab-2	2,21E-07	2,13E-07	11,2	11,6
Vmab-3	2,07E-07	2,16E-07	11,9	11,4
Vmab-4	2,15E-07	1,98E-07	11,4	12,4

W-indica semanas

También se verificó el cambio de pH en todas las formulaciones anteriores. Se observó que no hay cambios en el pH de las formulaciones incluso después de
5 almacenamiento de cuatro semanas a 25 °C y a 40 °C.

Adicionalmente, estas formulaciones se sometieron a liofilización y después de lo cual todas las formulaciones se reconstituyeron y verificaron para el tiempo de reconstitución, contenido de agregados utilizando SEC y especies ácidas,
10 especies básicas utilizando IEX.

Se observó que el tiempo de reconstitución para las cinco formulaciones era inferior a 5 minutos. Se ha observado que no hay cambios en el contenido de agregados y especies ácidas/básicas de las cinco formulaciones posteriores a la
15 reconstitución. Los resultados indican claramente que el proceso de liofilización no tiene ningún impacto en los atributos de calidad de las formulaciones.

Ejemplo 2: Formulaciones de vedolizumab de alta concentración

El anticuerpo de vedolizumab de alta concentración purificado, aproximadamente 100 mg/ml, contiene al menos 8 mg/ml de arginina y/o
5 75 mg/ml de trehalosa en tampón de histidina-fosfato/histidina de segundo plano se obtuvo de las etapas cromatográficas posteriores. Después de lo cual, dependiendo del requerimiento de excipientes en la formulación final, se intercambió el tampón con una composición de tampón de histidina/histidina-fosfato con la cantidad requerida de los siguientes excipientes PEG-400, arginina
10 y NaCl. Después del intercambio de tampón, las formulaciones se concentraron hasta 150- 180 mg/ml. Después, se agregó polisorbato 80 en todas las formulaciones. En la etapa anterior, se intercambió una de las muestras con una composición que contenía PEG-400, arginina y sal sin tampón para conocer el efecto estabilizante de esta combinación sin tampón y concentrada hasta
15 170 mg/ml.

Para mantener el control, aproximadamente 100 mg/ml de vedolizumab purificado en tampón de histidina de segundo plano que contenía 26,3 mg/ml de arginina, se obtuvieron 100 mg/ml de sacarosa de las etapas cromatográficas
20 posteriores y se intercambió el tampón con una composición que contenía tampón de histidina, arginina y citrato. Después de lo cual, el anticuerpo se concentró hasta 170 mg/ml. Se agregó polisorbato-80 a la formulación final. La formulación de vedolizumab de alta concentración aprobada contiene la composición anterior. Por lo tanto, se mantiene como control.

Los detalles de las cuatro formulaciones de vedolizumab se mencionan en la Tabla 7. Todas las formulaciones de vedolizumab se sometieron a estudios de estabilidad acelerada a 40 °C durante dos semanas y a 25 °C durante cuatro semanas. Después de lo cual, las muestras se analizaron para especies de bajo peso molecular (LMW) y contenido de monómero utilizando cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) [los resultados se dan en la Tabla 8] y también se verificó el contenido del pico principal, variantes ácidas y básicas mediante cromatografía de intercambio iónico [Tabla 9].

10

Tabla 7: Composiciones de varias formulaciones de vedolizumab de alta concentración sin azúcares y antioxidantes

Nombre de la Muestra	Composición
Vmab-Control	Vedolizumab 175 mg/ml, monoclóhidrato de histidina 50 mM, arginina 26,3 mg/ml, 6,7 mg/ml de citrato de sodio, 0,5 mg/ml de monohidrócloruro de ácido cítrico, 0,6 mg/ml de polisorbato 80, pH 6,2
Vmab-6	Vedolizumab 151 mg/ml, tampón de histidina-fosfato 20 mM, NaCl 50 mM, 26 mg/ml de arginina, PEG-400 al 10 %, 0,6 mg/ml de polisorbato 80, pH 6,2

Vmab-7	Vedolizumab 151 mg/ml, tampón de histidina 50 mM, NaCl 50 mM, 26 mg/ml de arginina, PEG-400 al 10 %, 0,6 mg/ml de polisorbato 80, pH 6,2
--------	--

Tabla 8: Datos de SEC de formulaciones de vedolizumab de alta concentración preparadas según el ejemplo 2

Nombre de la Muestra	Datos de SEC a 40 °C											
	% de LMW a 40 °C				% de monómero a 40 °C				% de HMW			
	0 W	1	2	Δ	0 W	1 W	2W	Δ	0	1	2	Δ
		W	W	2 W				2 W	W	W	W	2 W
Vmab- Control	0,0 7	0, 4	0,4	0,4	99,4 7	99, 0	98, 7	- 0,7	0, 5	0, 7	0,9	0,4
Vmab-6	0,0 5	0, 4	0,5	0,5	99,3 3	98, 5	98, 0	- 1,3	0, 6	1, 1	1,5	0,9
Vmab-7	0,0 8	0, 4	0,6	0,5	99,3 6	98, 7	98, 2	- 1,2	0, 6	0, 9	1,2	0,6

W-indica semanas, Δ-indica cambio

5

Tabla 9: Datos de IEX de formulaciones de vedolizumab de alta concentración preparadas según el ejemplo 2

	Datos de IEX a 40 °C
--	----------------------

Nombre de la Muestra	% de Variantes ácidas a 40 °C				% del pico principal a 40 °C			
	0 W	1 W	2W	Δ 2W	0 W	1 W	2W	Δ 2W
Vmab-Control	21,9	25,6	31,4	9,5	68,1	57,3	52,1	-16,0
Vmab-6	22,3	21,2	24,2	1,9	66,4	52,8	47,0	-19,4
Vmab-7	22,7	23,5	27,1	4,4	67,7	56,1	51,2	16,5

W-indica semanas, Δ -indica cambio

También se verificó el cambio de pH en todas las formulaciones anteriores. Se observó que no hay cambios en el pH de las formulaciones incluso después de 5 almacenamiento de dos semanas a 40 °C.

Adicionalmente, se verificaron todas las muestras para partículas visibles. Se observó que todas las muestras eran claras, incoloras y sin partículas visibles.

10 9 de octubre de 2020

Firma: _____

Dr. VR Srinivas

Dr. Reddy's Laboratories Ltd.