

FORMULACIÓN DE ANTICUERPOS ESTABLE

DERECHOS DE LICENCIA DEL GOBIERNO

Esta invención se realizó con apoyo del Gobierno en virtud del Acuerdo HHS0100201500013C y HHS0100201700016C, otorgado por el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos. El gobierno tiene ciertos derechos sobre la invención.

LISTADO DE SECUENCIAS

Una copia oficial del listado de secuencias se presenta simultáneamente con la memoria descriptiva de forma electrónica a través de EFS-Web como un listado de secuencias con formato ASCII con un nombre de archivo "10668WO01_Sequence_Listing_ST25.txt", una fecha de creación del 22 de enero de 2021, y un tamaño de aproximadamente 36 KB. El listado de secuencias contenido en este documento con formato ASCII es parte de la memoria descriptiva y se incorpora en la presente a modo de referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente divulgación se refiere al campo de formulaciones de anticuerpos terapéuticos. Más específicamente, la presente divulgación se refiere al campo de formulaciones farmacéuticas que comprenden uno o más anticuerpos humanos que se unen específicamente al virus del Ébola (EBOV).

ANTECEDENTES

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

además de la estabilidad. Los ejemplos de tales consideraciones adicionales incluyen la viscosidad de la solución y la concentración de anticuerpo que puede contener una formulación dada, y la calidad o el aspecto visual de la formulación. Por lo tanto, al formular un anticuerpo terapéutico, debe tenerse mucho cuidado para llegar a una formulación que permanezca estable, contenga una concentración adecuada de anticuerpo, y posea una viscosidad adecuada así como también otras propiedades que permiten que la formulación se administre convenientemente a los pacientes. Los anticuerpos contra el virus del Ébola (EBOV) son un ejemplo de una macromolécula de importancia terapéutica que requiere una formulación adecuada. Los anticuerpos anti-EBOV son clínicamente útiles para la prevención y/o el tratamiento de la infección por el virus del Ébola. Los anticuerpos anti-EBOV ilustrativos se describen, *entre otros*, en las patentes/publicaciones de Estados Unidos núm. 10,501,526 10,081,670, 9,771,414, 6,630,144, 6,875,433, 7,335,356 y 8,513,391, y en los documentos WO 2016/123019, EP1539238, EP2350270 y EP8513391.

Aunque se conocen anticuerpos anti-EBOV, sigue existiendo una necesidad en la técnica de formulaciones farmacéuticas nuevas que comprenden anticuerpos anti-EBOV que sean lo suficientemente estables y adecuadas para la administración a pacientes, que incluyen pacientes ubicados en entornos remotos o entornos que carecen de acceso a la refrigeración para productos terapéuticos.

BREVE COMPENDIO

La presente divulgación satisface la necesidad mencionada anteriormente al proporcionar formulaciones farmacéuticas estables que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente al virus del Ébola (EBOV).

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) un estabilizador que comprende un azúcar; (b) un amortiguador que comprende histidina; (c) un cosolvente orgánico que comprende polisorbato; y (d) al menos un anticuerpo que se une específicamente al virus del Ébola (EBOV).

En varias modalidades, el al menos un anticuerpo que se une específicamente al EBOV se proporciona a una concentración de aproximadamente $5 \pm 0,75$ mg/ml a aproximadamente $250 \pm 37,5$ mg/ml. En algunas modalidades, 250 mg/ml es la concentración de proteína máxima en la formulación. En algunos aspectos, la

proteína a 250 mg/ml comprende hasta tres anticuerpos. En algunos aspectos, una concentración de proteína máxima en una formulación que comprende tres anticuerpos variaría de aproximadamente $5 \pm 0,75$ mg/ml a aproximadamente $250 \text{ mg/ml} \pm 37,5$ mg/ml.

La relación de los dos o tres anticuerpos presentes en la formulación puede modificarse en dependencia de las mediciones resultantes. En algunos aspectos, los dos anticuerpos están presentes en una relación 1:1. En algunos aspectos, los anticuerpos están presentes en una relación 1:2. En algunos aspectos, los dos anticuerpos están presentes en una relación de aproximadamente 1 a 10:1. En algunos aspectos, los tres anticuerpos están presentes en una relación 1:1:1. En algunos aspectos, los tres anticuerpos están presentes en una relación 1:2:1. En algunos aspectos, los tres anticuerpos están presentes en una relación 2:1:1. En algunos aspectos, los tres anticuerpos están presentes en una relación 1:1:2. En algunos aspectos, los anticuerpos están presentes en una relación de aproximadamente 1 a 10:1 a 10:1 a 10.

En algunas modalidades, la dosis es de aproximadamente 3000 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 1500 mg, 1000 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 50 mg o aproximadamente 25 mg. En algunos aspectos, una dosis comprende un anticuerpo anti-EBOV. En algunos aspectos, una dosis comprende dos anticuerpos anti-EBOV. En algunos aspectos, una dosis comprende tres anticuerpos anti-EBOV. En una modalidad, los anticuerpos coformulados se suministran por vía intravenosa durante un período de tiempo de aproximadamente 2 horas.

En una modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $12,5 \text{ mg/ml} \pm 1,85$ mg/ml o aproximadamente 12,5 mg/ml. En una modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $25 \text{ mg/ml} \pm 3,75$ mg/ml o aproximadamente 25 mg/ml. En otra modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5$ mg/ml o aproximadamente 50 mg/ml. En otra modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $100 \text{ mg/ml} \pm 15$ mg/ml o aproximadamente

100 mg/ml. En otra modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $125 \text{ mg/ml} \pm 18,75 \text{ mg/ml}$ o aproximadamente 125 mg/ml. En una modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $150 \text{ mg/ml} \pm 22,5 \text{ mg/ml}$ o aproximadamente 150 mg/ml. En otra modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $175 \text{ mg/ml} \pm 26,25 \text{ mg/ml}$ o aproximadamente 175 mg/ml. En otra modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $200 \text{ mg/ml} \pm 30 \text{ mg/ml}$ o aproximadamente 200 mg/ml. En otra modalidad, el al menos un anticuerpo se proporciona a una concentración de $250 \text{ mg/ml} \pm 37,5 \text{ mg/ml}$ o aproximadamente 250 mg/ml.

En algunas modalidades, cada anticuerpo se administra a 50 mg/kg de peso corporal. En una modalidad, tres anticuerpos se coformulan de manera que la formulación final permita que cada anticuerpo se administre a 50 mg/kg de peso corporal. En consecuencia, la dosis final a administrar al paciente es de 150 mg/kg de peso corporal, con los tres anticuerpos en la formulación en una relación 1:1:1. En una modalidad, los anticuerpos coformulados se suministran por vía intravenosa durante un período de tiempo de aproximadamente 2 horas.

En ciertas modalidades, la formulación comprende uno cualquiera o más de los anticuerpos anti-EBOV divulgados en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos núm.: 2016/0215040, incorporada en la presente divulgación en su totalidad. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV comprende (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada 1, 2 y 3 (HCDR1-HCDR2-HCDR3) cada una que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 8, respectivamente; y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera 1, 2 y 3 (LCDR1-LCDR2-LCDR3) cada una que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 16, respectivamente. En una modalidad, el anticuerpo 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. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 18. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2. En una modalidad, el anticuerpo comprende una LCVR que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 10. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2 y una LCVR que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 10.

En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV comprende (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada 1, 2 y 3 (HCDR1-HCDR2-HCDR3) cada una que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 26, respectivamente; y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera 1, 2 y 3 (LCDR1-LCDR2-LCDR3) cada una que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32 y SEQ ID NO: 34, respectivamente. En una modalidad el anticuerpo comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 20. En una modalidad, el anticuerpo comprende una LCVR que tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 28. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 20 y una LCVR que tiene 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 28.

En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV comprende (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada 1, 2 y 3 (HCDR1-HCDR2-HCDR3) cada una que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 y SEQ ID NO: 44, respectivamente; y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera 1, 2 y 3 (LCDR1-LCDR2-LCDR3) cada una que comprende una secuencia de SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 52, respectivamente.

En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 38. En una modalidad, el anticuerpo comprende una LCVR que tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 46. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 38 y una LCVR que tiene 95 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 46.

En una modalidad, el pH de la formulación líquida es de pH $6,0 \pm 0,5$, pH $6,0 \pm 0,4$, pH $6,0 \pm 0,3$, pH $6,0 \pm 0,2$, pH $6,0 \pm 0,1$, pH $6,0 \pm 0,05$, pH $6,0 \pm 0,01$ o pH 6,0. En una modalidad, el pH de la formulación líquida es de aproximadamente pH $6,0 \pm 0,3$.

En una modalidad, el amortiguador comprende histidina. En ciertas modalidades, el amortiguador de histidina está a una concentración de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $50 \text{ mM} \pm 10 \text{ mM}$ o de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $25 \text{ mM} \pm 5 \text{ mM}$. En una modalidad, el amortiguador de histidina está a una concentración de $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ o aproximadamente 10 mM. En una modalidad, el amortiguador de histidina está a una concentración de $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ o aproximadamente 20 mM. En una modalidad, el amortiguador de histidina está a una concentración de $40 \text{ nM} \pm 8 \text{ mM}$ o aproximadamente 40 nM. En ciertas modalidades, el amortiguador de histidina comprende L-histidina y monoclóridato de L-histidina monohidratado. En una modalidad, la L-histidina está a una concentración de $2 \text{ mM} \pm 0,4 \text{ mM}$ a $25 \text{ mM} \pm 5 \text{ mM}$, preferentemente de $4 \text{ mM} \pm 0,8 \text{ mM}$ a $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$. En una modalidad, el monoclóridato de L-histidina monohidratado está a una concentración de $2 \text{ mM} \pm 0,4 \text{ mM}$ a $25 \text{ mM} \pm 5 \text{ mM}$, preferentemente de $4 \text{ mM} \pm 0,8 \text{ mM}$ a $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$. En una modalidad, el amortiguador comprende L-histidina a una concentración de $4,8 \text{ mM} \pm 0,96 \text{ mM}$ y monoclóridato de L-histidina monohidratado a una concentración de $5,2 \text{ mM} \pm 1,04 \text{ mM}$. En una modalidad, el amortiguador comprende histidina a una concentración de $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, en donde la histidina comprende L-histidina a una concentración de $4,8 \text{ mM} \pm 0,96 \text{ mM}$ y monoclóridato de L-histidina monohidratado a una concentración de

5,2 mM $\pm$ 1,04 mM.

En ciertas modalidades, el cosolvente orgánico es un polímero no iónico que contiene un resto de polioxietileno. En una modalidad, el cosolvente orgánico es un surfactante. En algunas modalidades, el cosolvente orgánico es uno cualquiera o más de polisorbato, poloxámero 188 y polietilenglicol 3350. En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 80. En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 20.

En una modalidad, el cosolvente orgánico está a una concentración de aproximadamente 0,01 % $\pm$ 0,005 % a aproximadamente 1 % $\pm$ 0,5 % “peso a volumen” o “p/v”, en donde, por ejemplo, 0,1 g/ml = 10 % y 0,01 g/ml = 1 %. En ciertas modalidades, el cosolvente orgánico es polisorbato a una concentración de 0,05 % $\pm$ 0,025 % a 0,5 % $\pm$ 0,25 % (p/v). En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 80, que está a una concentración de 0,2 % $\pm$ 0,1 % p/v o aproximadamente 0,2 %. En otra modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 80, que está a una concentración de 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v o aproximadamente 0,1 % p/v. En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 20, que está a una concentración de 0,2 % $\pm$ 0,1 % p/v o aproximadamente 0,2 %. En otra modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 20, que está a una concentración de 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v o aproximadamente 0,1 % p/v.

En ciertas modalidades, el estabilizador es un azúcar. En una modalidad, el azúcar es sacarosa. En varias modalidades, el estabilizador está a una concentración de 1 % $\pm$ 0,2 % p/v a 20 % $\pm$ 4 % p/v, de 5 % $\pm$ 1 % p/v a 15 % $\pm$ 3 % p/v o de 1 % $\pm$ 0,2 % a 10 % $\pm$ 2 % p/v. En una modalidad, el estabilizador es sacarosa a una concentración de 5 % $\pm$ 1 % p/v o aproximadamente 5 % p/v. En otra modalidad, el estabilizador es sacarosa a una concentración de 9 % $\pm$ 1,8 % p/v o aproximadamente 9 % p/v. En otra modalidad, el estabilizador es sacarosa a una concentración de 10 % $\pm$ 2 % p/v o aproximadamente 10 % p/v.

En ciertas modalidades, la formulación no necesita un modificador de la viscosidad, es decir, la formulación carece de un modificador de la viscosidad. En ciertas modalidades, la formulación comprende un modificador de la viscosidad. En una modalidad, la formulación comprende un modificador de la viscosidad y el modificador de la viscosidad es un aminoácido o una sal. En una modalidad, el modificador de la viscosidad es L-prolina. En ciertas modalidades, el modificador

de la viscosidad está a una concentración de $1 \% \pm 0,2 \%$ a $5 \% \pm 1 \%$ p/v. En una modalidad, el modificador de la viscosidad es prolina a una concentración de $1,5 \% \pm 0,3 \%$ o aproximadamente $1,5 \%$. En una modalidad, el modificador de la viscosidad es prolina a una concentración de $3 \% \pm 0,6 \%$ o aproximadamente 3% .

En ciertas modalidades, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida a 25°C es menor o igual a aproximadamente $15 \text{ cPoise} \pm 10 \%$. En ciertas modalidades, la viscosidad a 25°C está entre $1,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$ y $20 \text{ cPoise} \pm 10 \%$. En ciertas modalidades, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es $\leq 20 \text{ cPoise}$. En ciertas modalidades, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es $\leq 15 \text{ cPoise}$. En ciertas modalidades, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es $\leq 10 \text{ cPoise}$. En ciertas modalidades, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es $\leq 5 \text{ cPoise}$. En ciertas modalidades, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es $\leq 2,5 \text{ cPoise}$. En ciertas modalidades, la viscosidad a 25°C es de aproximadamente $2 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $5 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $6,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $7,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $7,1 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $7,2 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $7,9 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $8,3 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $9,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $9,6 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $10,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $10,6 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $11,4 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $11,6 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $11,8 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $12,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $13,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $14,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$, $15,0 \text{ cPoise} \pm 10 \%$ o $16 \text{ cPoise} \pm 10 \%$. En ciertas modalidades, la viscosidad a 25°C es de aproximadamente $2,2 \text{ cPoise}$.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $5 \% \pm 1 \%$ a $15 \% \pm 3 \%$ p/v de sacarosa, (b) de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) de $0,01 \% \pm 0,005 \%$ a $0,5 \% \pm 0,25 \%$ p/v de polisorbato, por ejemplo, aproximadamente $0,05 \% \pm 0,025 \%$ a aproximadamente $0,2 \% \pm 0,1 \%$ p/v de polisorbato y (d) $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$. En otro aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$. En otro aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $50 \text{ mg/ml} \pm 5 \text{ g/ml}$ de

anticuerpo total, a pH $6,0 \pm 0,3$.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $5 \% \pm 1 \%$ a $15 \% \pm 3 \%$ p/v de sacarosa, (b) $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,01 \% \pm 0,005 \%$ a $0,5 \% \pm 0,25 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total, a pH $6,0 \pm 0,3$. En otro aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total, a pH $6,0 \pm 0,3$. En otro aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 10 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total, a pH $6,0 \pm 0,3$.

El anticuerpo anti-EBOV comprende al menos un anticuerpo que comprende tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) seleccionado del grupo que consiste en (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46. En algunos aspectos, la formulación comprende lo siguiente: (i), (ii), (iii), (i)+(ii), (i)+(iii), (ii)+(iii) o (i)+(ii)+(iii), y el anticuerpo anti-EBOV total presente en la formulación es de $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$. En algunos aspectos, la formulación comprende lo siguiente: (i), (ii), (iii), (i)+(ii), (i)+(iii), (ii)+(iii) o (i)+(ii)+(iii), y el anticuerpo anti-EBOV total presente en la formulación es de $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$.

En algunas modalidades, el al menos un anticuerpo anti-EBOV comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) y una región variable de cadena ligera (LCVR) de manera que la combinación HCVR/LCVR comprende regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y ligera (HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3), que comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 4-6-8 / 12-14-16, respectivamente; las SEQ ID NO: 22-24-26 / 30-32-34, respectivamente; y las SEQ ID NO: 40-42-44 / 48-50-52, respectivamente. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende un par de secuencias de aminoácidos de región

variable de cadena pesada (HCVR)/región variable de cadena ligera (LCVR) seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 2/10, 20/28 y 38/46. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV comprende una región Fc elegida del grupo que consiste en los isotipos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humanos. En una modalidad, el anticuerpo comprende un isotipo IgG1 humano. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 17, 35 y 53; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 18, 36 y 54. En una modalidad, el anticuerpo tiene un peso molecular de 145 kDa $\pm$ 15 kDa, por ejemplo, 144 804 Da, 145 905 Da o 143 689 Da.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH 6,0 $\pm$ 0,3; en donde el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV 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. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH 6,0 $\pm$ 0,3; en donde el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $50\text{ mg/ml} \pm 7,5\text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $50\text{ mg/ml} \pm 7,5\text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV 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; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $50\text{ mg/ml} \pm 7,5\text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV 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; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $50\text{ mg/ml} \pm 7,5\text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida

estable que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un tercer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV 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; el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; y el tercer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV 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. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $100\text{ mg/ml} \pm 15\text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $100\text{ mg/ml} \pm 15\text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $100\text{ mg/ml} \pm 15\text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3)

contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV 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; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV 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; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ

ID NO: 20/28, y un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46.

En ciertas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, un segundo anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un tercer anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV 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; el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; y el tercer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46.

En ciertas modalidades, la formulación de cualquiera de los aspectos anteriores tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) la formulación es

estable en almacenamiento a largo plazo a 60 °C, 55 °C, 50 °C, 45 °C, 40 °C, 35 °C, 30 °C, 25 °C, 5 °C, -20 °C, -30 °C y -80 °C, como se describe en la presente descripción; (ii) la formulación es estable frente al estrés por agitación como se describe en la presente descripción; (iii) la formulación es estable frente al estrés por calor como se describe en la presente descripción; (iv) la formulación es de baja viscosidad (viscosidad de menos de 20 cPoise, preferentemente menos de 15 cPoise); (v) la formulación es estable incluso con una variación de hasta ± 50 % en las concentraciones de excipientes de la formulación, como se describe en la presente descripción; (vi) la formulación es isoosmolar respecto a las condiciones fisiológicas; (vii) la formulación es estable y compatible con los dispositivos y procedimientos de suministro intravenoso; y (viii) la formulación es estable en almacenamiento a largo plazo en un vial de vidrio o en una jeringa precargada.

En ciertas modalidades, la formulación de cualquiera de los aspectos anteriores tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) la formulación tiene una viscosidad de menos de 10 cP; (ii) la formulación tiene una viscosidad de menos de 5 cP; (iii) la formulación tiene una viscosidad de menos de aproximadamente 2,5; (iv) al menos 90 % del anticuerpo es la especie nativa después de 28 días a 45 °C; (v) al menos 18 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 28 días a 45 °C; (vi) al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de tres meses a 25 °C; (vii) al menos 30 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de tres meses a 25 °C; (viii) al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 36 meses a 5 °C; (ix) al menos 34 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 36 meses a 5 °C; (x) al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación; (xi) al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 120 minutos de agitación; (xii) al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación y descongelación; y/o (xiii) al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 8 ciclos de congelación y descongelación.

En ciertas modalidades, un anticuerpo dentro de la formulación de cualquiera de los aspectos anteriores tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) el anticuerpo retiene una actividad de ADCC de al menos aproximadamente

90 % después del almacenamiento a -80 °C durante 12 meses con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (ii) el anticuerpo retiene una actividad de ADCC de al menos aproximadamente 80 %, o al menos aproximadamente 90 %, después del almacenamiento a -30 °C durante 12 meses con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (iii) el anticuerpo retiene una actividad de ADCC de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a -20 °C durante 3 meses con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (iv) el anticuerpo retiene una actividad de ADCC de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a 5 °C durante 56 días con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (v) el anticuerpo retiene una actividad de ADCC de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a 25 °C/60 % de humedad relativa (HR) durante 28 días con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (vi) el anticuerpo retiene una actividad de ADCC de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a 40 °C/75 % de HR durante 28 días con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (vii) el anticuerpo retiene una actividad de ADCC de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después de la agitación durante 120 minutos u 8 ciclos de congelación/descongelación, con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes de la agitación o congelación/descongelación, respectivamente.

En ciertas modalidades, un anticuerpo dentro de la formulación de cualquiera de los aspectos anteriores tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) el anticuerpo retiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a -80 °C durante 12 meses con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (ii) el anticuerpo retiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a -30 °C durante 12 meses con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (iii) el anticuerpo retiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del

almacenamiento a -20 °C durante 3 meses con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (iv) el anticuerpo retiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 80 %, o al menos aproximadamente 85 %, o al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a 5 °C durante 56 días con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (v) el anticuerpo retiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 80 %, o al menos aproximadamente 85 %, o al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a 25 °C/60 % de humedad relativa (HR) durante 28 días con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (vi) el anticuerpo retiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 80 %, o al menos aproximadamente 85 %, o al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después del almacenamiento a 40 °C/75 % de HR durante 28 días con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes del almacenamiento; (vii) el anticuerpo retiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, después de la agitación durante 120 minutos u 8 ciclos de congelación/descongelación, con relación a la actividad del mismo anticuerpo antes de la agitación o congelación/descongelación, respectivamente.

En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) al menos un anticuerpo que se une específicamente a EBOV, en donde el al menos un anticuerpo comprende un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) seleccionado del grupo que consiste en (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos el 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 36 meses a 5 °C. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos el 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación/descongelación. En algunos aspectos, la

formulación farmacéutica consiste en: (a) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo total, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, en agua a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) al menos dos anticuerpos que se unen específicamente a EBOV, en donde los al menos dos anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) seleccionado del grupo que consiste en (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación/descongelación. En algunos aspectos, la formulación farmacéutica consiste en: (a) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo total, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, en agua a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) una combinación de tres anticuerpos que se unen específicamente a EBOV, en donde los tres anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) de (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de

congelación/descongelación. En algunos aspectos, la formulación farmacéutica consiste en: (a) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo total, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, en agua a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) al menos un anticuerpo que se une específicamente a EBOV, en donde el al menos un anticuerpo comprende un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) seleccionado del grupo que consiste en (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación/descongelación. En algunos aspectos, la formulación farmacéutica consiste en: (a) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo total, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, en agua a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) al menos dos anticuerpos que se unen específicamente a EBOV, en donde los al menos dos anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) seleccionado del grupo que consiste en (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml, (b) amortiguador de histidina 10 mM $\pm$ 2 mM, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad de

acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación/descongelación. En algunos aspectos, la formulación farmacéutica consiste en: (a) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo total, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, en agua a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) una combinación de tres anticuerpos que se unen específicamente a EBOV, en donde los tres anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) de (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad de acuerdo con este aspecto, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación/descongelación. En algunos aspectos, la formulación farmacéutica consiste en: (a) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo total, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, en agua a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo total que se une específicamente a EBOV y tiene una viscosidad de menos de 3 cP a 25 °C. En una modalidad, $\geq$ 90 % de los anticuerpos tienen un peso molecular de 146 kDa $\pm$ 5 kDa, por ejemplo, 144 804 Da, 145 905 Da o 143 689 Da. En una modalidad, la formulación farmacéutica tiene una viscosidad de menos de 5 cP, menos de 4 cP o menos de 3 cP a 25 °C. En una modalidad, al menos 90 % del anticuerpo es la especie nativa después de 28 días a 45 °C. En una modalidad, al menos 18 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 28 días a 45 °C. En una modalidad, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de tres meses a 25 °C. En una modalidad, al menos 30 % del anticuerpo

es la variante de carga principal del anticuerpo después de tres meses a 25 °C. En una modalidad, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad, al menos 34 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad, al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 120 minutos de agitación. En una modalidad, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación y descongelación. En una modalidad, al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 8 ciclos de congelación y descongelación.

En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo total y tiene una viscosidad de menos de 5 cP a 20 °C. En una modalidad, $\geq$ 90 % de los anticuerpos tienen un peso molecular de 145 kDa $\pm$ 2 kDa, por ejemplo, 144 804 Da, 145 905 Da o 143 689 Da. En una modalidad, la formulación farmacéutica tiene una viscosidad de menos de 6 cP o menos de 5 cP a 20 °C. En una modalidad, al menos 90 % del anticuerpo es la especie nativa después de 28 días a 45 °C. En una modalidad, al menos 18 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 28 días a 45 °C. En una modalidad, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de tres meses a 25 °C. En una modalidad, al menos 30 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de tres meses a 25 °C. En una modalidad, al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad, al menos 34 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 12 meses a 5 °C. En una modalidad, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación. En una modalidad, al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 120 minutos de agitación. En una modalidad, al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación y descongelación. En una modalidad, al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 8 ciclos de congelación y descongelación.

En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) una combinación de tres anticuerpos que se unen

específicamente a EBOV, en donde los tres anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) de (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de esta formulación particular, la viscosidad es de menos de 3 cPoise. En ciertas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable, que comprende: (a) una combinación de tres anticuerpos que se unen específicamente a EBOV, en donde los tres anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) de (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46, y en donde el anticuerpo total comprende 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, pH 6,0 $\pm$ 0,3, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80 y (d) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa. En una modalidad de esta formulación particular, la viscosidad es de menos de 5 cPoise. En un aspecto, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) de 5 % $\pm$ 1 % a 15 % $\pm$ 3 % p/v de sacarosa, (b) de 5 mM $\pm$ 1 mM a 20 mM $\pm$ 4 mM de amortiguador de histidina, (c) de 0,01 % $\pm$ 0,005 % a 0,5 % $\pm$ 0,25 % p/v de polisorbato y (d) hasta 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, a pH 6,0 $\pm$ 0,3. En otro aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, a pH 6,0 $\pm$ 0,3. El anticuerpo anti-EBOV, de acuerdo con este aspecto, comprende una combinación de tres anticuerpos que se unen específicamente a EBOV, en donde los tres anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) de (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) de 5 % $\pm$ 1 % a 15 % $\pm$ 3 % p/v de sacarosa, (b) de 5 mM $\pm$ 1 mM a 20 mM $\pm$ 4 mM de amortiguador de histidina, (c) de 0,01 % $\pm$ 0,005 % a 0,5 % $\pm$ 0,25 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV

total, a pH $6,0 \pm 0,3$. En otro aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo total, a pH $6,0 \pm 0,3$. El anticuerpo anti-EBOV, de acuerdo con este aspecto, comprende una combinación de tres anticuerpos que se unen específicamente a EBOV, en donde los tres anticuerpos comprenden un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) de (i) SEQ ID NO: 2/10, (ii) SEQ ID NO: 20/28 y (iii) SEQ ID NO: 38/46.

En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 150 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 100 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 50 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 10% de sacarosa. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 9% de sacarosa. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 8% de sacarosa. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 5% de sacarosa. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende $0,1 \%$ de polisorbato. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende $0,2 \%$ de polisorbato. En una modalidad, el polisorbato es polisorbato 80 o polisorbato 20.

En una modalidad, la formulación líquida estable comprende $33,3 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo que comprende un par de secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada/región variable de cadena ligera (HCVR/LCVR) de SEQ ID NO: 2/10, $33,3 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de SEQ ID NO: 20/28 y $33,3 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo que comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de SEQ ID NO: 38/46, en una solución amortiguada acuosa, pH 6,0, que contiene 10 mM de L-histidina, 10% (p/v) de sacarosa y $0,1 \%$ (p/v) de polisorbato 80. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una potencia de ADCC de al menos aproximadamente 90% o al menos aproximadamente 95% , en un bioensayo de ADCC después del almacenamiento a 5°C durante 6 meses,

con relación a la misma formulación líquida antes del almacenamiento a 5 °C durante 6 meses. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 95 % después del almacenamiento a 5 °C durante 6 meses, con relación a la misma formulación líquida antes del almacenamiento a 5 °C durante 6 meses. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una potencia de ADCC de al menos aproximadamente 80 % o al menos aproximadamente 85 %, en un bioensayo de ADCC después del almacenamiento a 25 °C/60 % de HR durante 6 meses, con relación a la misma formulación líquida antes del almacenamiento a 25 °C/60 % de HR durante 6 meses. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 95 % después del almacenamiento a 25 °C/60 % de HR durante 6 meses, con relación a la misma formulación líquida antes del almacenamiento a 25 °C/60 % de HR durante 6 meses. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 95 % después del almacenamiento a 40 °C/75 % de HR durante 6 meses, con relación a la misma formulación líquida antes del almacenamiento a 40 °C/75 % de HR durante 6 meses. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una potencia de ADCC de al menos aproximadamente 95 % en un bioensayo de ADCC después de la agitación durante 120 minutos, con relación a la misma formulación líquida antes de la agitación durante 120 minutos. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una potencia de ADCC de al menos aproximadamente 85 % en un bioensayo de ADCC después de 8 ciclos de congelación/descongelación, con relación a la misma formulación líquida antes de 8 ciclos de congelación/descongelación. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 95 % después de la agitación durante 120 minutos, con relación a la misma formulación líquida antes de la agitación durante 120 minutos. En una modalidad, la formulación líquida estable mantiene una actividad de neutralización de pseudovirus de al menos aproximadamente 95 % después de 8 ciclos de congelación/descongelación, con relación a la misma formulación líquida antes de 8 ciclos de congelación y descongelación.

En un aspecto, una formulación farmacéutica líquida estable de cualquiera de los

aspectos anteriores se proporciona en un contenedor. En una modalidad, el contenedor es un vial. En una modalidad, el contenedor es un vial de policarbonato. En una modalidad, el contenedor es un vial de vidrio. En una modalidad, el vial de vidrio es un vial de vidrio transparente tipo 1. En una modalidad, el vial de vidrio es un vial de vidrio de borosilicato tipo 1 con un tapón de goma de butilo recubierto con fluorocarbono. En una modalidad, el contenedor es un microinfusor. En una modalidad, el contenedor es una jeringa. En una modalidad, el contenedor es una jeringa precargada. En una modalidad, la jeringa comprende vidrio con bajo contenido de tungsteno. En una modalidad, la jeringa comprende un autoinyector. En una modalidad, la jeringa comprende un émbolo recubierto con fluorocarbono. En ciertas modalidades, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml que contiene menos de aproximadamente 500 partes por mil millones de tungsteno equipada con una aguja 27-G, un tapón de goma de butilo recubierto con fluorocarbono y una tapa de punta de goma no citotóxica y sin látex. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml equipada con una aguja de pared delgada 27-G, un tapón de goma 4023/50 recubierto con FLUROTEC y una tapa de punta de goma FM 27. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de plástico de 1 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml o 10 ml equipada con una aguja.

En un aspecto, se proporciona un kit que comprende una composición farmacéutica estable de uno cualquiera de los aspectos anteriores, un contenedor e instrucciones. En una modalidad, el contenedor es un vial de vidrio. En una modalidad, el contenedor es una jeringa precargada. En una modalidad, el contenedor es un autoinyector. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml equipada con una aguja de pared delgada 27-G, un tapón de goma 4023/50 recubierto con FLUROTEC y una tapa de punta de goma FM 27. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de plástico de 1 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml o 10 ml equipada con una aguja.

En ciertas modalidades, la presente divulgación proporciona una jeringa precargada que comprende una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (i) de $5 \pm 0,75$ mg/ml a $250 \pm 37,5$ mg/ml de al menos un anticuerpo humano que se une específicamente a EBOV; (ii) de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $20 \pm 4 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) de $0,05 \% \pm 0,025 \%$ a $0,3 \% \pm 0,15 \%$ (p/v) de

polisorbato 80; y (iv) de $1 \% \pm 0,2 \%$ a $10 \% \pm 2 \%$ (p/v) de sacarosa, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el al menos un anticuerpo anti-EBOV humano se selecciona del grupo que consiste en un primer anticuerpo que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, un segundo anticuerpo que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un tercer anticuerpo que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En algunos aspectos, la formulación tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: al menos 90 % del anticuerpo es la especie nativa después de 28 días a 45 °C; al menos 18 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 28 días a 45 °C; al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de tres meses a 25 °C; al menos 30 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de tres meses a 25 °C; al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C; al menos 34 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 12 meses a 5 °C; al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación; al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 120 minutos de agitación; al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación y descongelación; al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 8 ciclos de congelación y descongelación; más de 90 % de los anticuerpos tienen un peso molecular de $145 \text{ kDa} \pm 2 \text{ kDa}$, por ejemplo, 144 804 Da, 145 905 Da o 143 689 Da; y la formulación farmacéutica tiene una viscosidad de menos de 20 cP, menos de 15 cP, menos de 10 cP, menos de 5 cP o menos de 3 cP.

En ciertas modalidades, la presente divulgación proporciona un vial de vidrio que comprende una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) de $5 \text{ mg/ml} \pm 0,75 \text{ mg/ml}$ a $250 \text{ mg/ml} \pm$

37,5 de anticuerpo anti-EBOV total, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde el al menos un anticuerpo anti-EBOV se selecciona del grupo que consiste en: un primer anticuerpo que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, un segundo anticuerpo que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un tercer anticuerpo que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En algunos aspectos, la formulación tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: la formulación es estable en almacenamiento y frente al estrés en un vial de vidrio; la formulación es estable y compatible para su uso en dispositivos de suministro IV; la formulación es química y físicamente estable a la dilución con diluyentes estándar conocidos en la técnica (por ejemplo, cloruro de sodio al 0,9 % o dextrosa al 5 % o lactato de Ringer); la formulación es estable en bolsas IV hechas de vidrio o plásticos de polímero (por ejemplo, cloruro de polivinilo, ftalatos, poliolefinas o polipropileno); la formulación es compatible con bombas de infusión estándar (por ejemplo, bomba peristáltica, bomba de desplazamiento de fluidos); al menos 90 % del anticuerpo es la especie nativa después de 28 días a 45 °C; al menos 18 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 28 días a 45 °C; al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de tres meses a 25 °C; al menos 30 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de tres meses a 25 °C; al menos 96 % del anticuerpo es la especie nativa después de 12 meses a 5 °C; al menos 34 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 12 meses a 5 °C; al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 120 minutos de agitación; al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 120 minutos de agitación; al menos 97 % del anticuerpo es la especie nativa después de 8 ciclos de congelación/descongelación; al menos 35 % del anticuerpo es la variante de carga principal del anticuerpo después de 8 ciclos de congelación y descongelación; más de 90 % de los anticuerpos tienen un peso molecular de

145 kDa $\pm$ 2 kDa, por ejemplo, 144 804 Da, 145 905 Da o 143 689 Da; y la formulación farmacéutica tiene una viscosidad de menos de 20 cP, menos de 15 cP, menos de 10 cP, menos de 5 cP o menos de 3 cP. En algunos aspectos, la formulación es estable para el envío a temperaturas de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C. En algunos aspectos, la formulación es estable cuando se almacena a aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C. Se han realizado estudios de estabilidad para respaldar posibles variaciones de las condiciones de almacenamiento. En algunos aspectos, la formulación es estable a temperatura ambiente durante al menos aproximadamente 6 meses. En algunos aspectos, la formulación es física y químicamente estable frente a la agitación y ciclos de congelación/descongelación. En algunos aspectos, los anticuerpos dentro de la formulación mantienen la actividad biológica, por ejemplo, la actividad de ADCC o la actividad de neutralización de pseudovirus, después de la exposición a temperaturas de hasta 25 °C o hasta 30 °C, o después de la agitación o ciclos de congelación/descongelación.

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

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra una superposición de los cromatogramas de RP-UPLC de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P.

La Figura 2 muestra una superposición de los cromatogramas de SE-UPLC de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los fármacos terapéuticos tales como los productos biológicos, típicamente se formulan como fármacos individuales en formulaciones que proporcionan estabilidad del agente terapéutico para el almacenamiento a largo plazo a temperaturas frías. Los productos biológicos envasados se tratan con cuidado, a menudo se mantienen en forma liofilizada justo antes de su uso para minimizar la agregación y el daño a las moléculas grandes. Las formulaciones liofilizadas son típicamente más estables que las formulaciones líquidas. Además, los productos biológicos envasados se mantienen fríos, si no se congelan, durante el transporte y el almacenamiento.

En la presente descripción se proporcionan formulaciones farmacéuticas estables

que comprenden anticuerpos para el tratamiento de la infección por el virus del Ébola (EBOV) o tratamiento profiláctico para la exposición al EBOV. Estas formulaciones son formulaciones líquidas estables de anticuerpos preparadas para soportar un transporte y almacenamiento rigurosos mientras se mantiene la estabilidad. Los agentes terapéuticos se preparan de manera que faciliten su uso en áreas remotas donde se producen brotes de Ébola, tales como el Congo y Sudán. Como tales, las formulaciones están en forma líquida para evitar las etapas de reconstitución requeridas antes de usar un fármaco en forma liofilizada, lo que evita la posible contaminación del producto farmacéutico. Las formulaciones farmacéuticas líquidas son estables incluso cuando se transportan largas distancias y se someten a estrés, por ejemplo, ciclos de temperatura, temperaturas extremas, agitación durante el transporte, etc., condiciones a las que un agente terapéutico estaría expuesto en tránsito desde un centro de fabricación hasta clínicas de campo remotas donde se ha producido la exposición al Ébola y/o en las que existen pacientes con Ébola.

En algunos aspectos, la formulación líquida estable comprende más de un anticuerpo, por ejemplo, es un cóctel que comprende, por ejemplo, dos o tres anticuerpos anti-EBOV. Las formulaciones estables de cócteles de anticuerpos son difíciles. La exposición de los agentes terapéuticos proteicos en bolsas IV a temperatura ambiente y luz visible es a corto plazo, de modo que esas condiciones leves típicamente no inducen la degradación del producto. Sin embargo, durante el almacenamiento a largo plazo, las proteínas individuales típicamente experimentan ciertos procesos de degradación, que incluyen el aumento de las interacciones intermoleculares de atracción proteína-proteína, aumento de la viscosidad y afectación de la integridad estructural. Las condiciones de estrés presentes durante la fabricación de la coformulación, su transporte, almacenamiento, manipulación y administración al paciente pueden afectar lo que se convierte en una desventaja crítica del producto: agregación, desamidación, oxidación, etc. Además, las condiciones de coformulación pueden conducir a la formación de agregados heterogéneos. Ver Svitel y otros, BioProcess International, 2019; Patel y otros, Journal of Pharmaceutical Sciences, 107: 3032-3046, 2018; y Mueller y otros, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 70: 666-674, 2018.

Antes de describir los métodos de la presente, debe entenderse que esta

invención no se limita a los métodos y condiciones experimentales particulares descritas, ya que tales métodos y condiciones pueden variar. Debe entenderse también que la terminología que se usa en la presente descripción es solamente a efectos de describir únicamente modalidades particulares, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente divulgación solo se limitará por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Como se usa en la presente descripción, el término “aproximadamente”, cuando se usa en referencia a un valor o intervalo de valores numéricos mencionado particular, significa que el valor puede variar respecto al valor mencionado en no más de 1 %. Por ejemplo, como se usa en la presente descripción, la expresión “aproximadamente 100” incluye 99 y 101 y todos los valores entre ellos (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.). Aunque cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente descripción pueden usarse en la práctica o prueba de la presente divulgación, se describen ahora métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en la presente descripción se incorporan en la presente descripción como referencia en su totalidad.

Como se usa en la presente descripción, la expresión “formulación farmacéutica” significa una combinación de al menos un ingrediente activo (por ejemplo, una molécula pequeña, macromolécula, compuesto, etc. que puede ejercer un efecto biológico en un animal humano o no humano), y al menos un ingrediente inactivo que, cuando se combina con el ingrediente activo o uno o más ingredientes inactivos adicionales, es adecuado para la administración terapéutica a un animal humano o no humano. El término “formulación”, como se usa en la presente descripción, significa “formulación farmacéutica”, a menos que se indique específicamente de cualquier otra manera. La presente divulgación proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido terapéutico. De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el polipéptido terapéutico es un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une específicamente al virus del Ébola (EBOV). Más específicamente, la presente divulgación incluye formulaciones farmacéuticas

estables que comprenden: (i) uno o más anticuerpos humanos que se unen específicamente a EBOV (ii) un amortiguador de histidina; (iii) un cosolvente orgánico que es un surfactante no iónico; y (iv) un estabilizador que es un carbohidrato. En una modalidad particular, la formulación farmacéutica estable comprende: (i) tres anticuerpos humanos que se unen específicamente a EBOV (ii) un amortiguador de histidina; (iii) un cosolvente orgánico que es un surfactante no iónico; y (iv) un estabilizador que es un carbohidrato. Los componentes y formulaciones ilustrativos específicos incluidos dentro de la presente divulgación se describen en detalle a continuación.

Anticuerpos que se unen específicamente a EBOV

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden comprender un anticuerpo humano, o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une específicamente a EBOV. Como se usa en la presente descripción, el término “EBOV” significa virus del Ébola. Los anticuerpos contra EBOV se describen, por ejemplo, en las patentes/publicaciones de Estados Unidos núms. 10,501,526 10,081,670, 9,771,414, 6,630,144, 6,875,433, 7,335,356 y 8,513,391, y en los documentos WO 2016/123019, EP1539238, EP2350270 y EP8513391.

El término “anticuerpo”, tal como se usa en la presente descripción, generalmente pretende referirse a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como también multímeros de estas (por ejemplo, IgM); sin embargo, las moléculas de inmunoglobulina que consisten solo en cadenas pesadas (es decir, que carecen de cadenas ligeras) también se incluyen dentro de la definición del término “anticuerpo”. Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente descripción 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 cadena ligera (abreviada en la presente descripción como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L se compone de tres CDR y cuatro FR, dispuestas

desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

A menos que se indique específicamente de cualquier otra manera, se entenderá que el término "anticuerpo", como se usa en la presente descripción, incluye moléculas de anticuerpos completos así como también fragmentos de unión al antígeno de estos. El término "porción de unión al antígeno" o "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo" o "fragmento de anticuerpo"), como se usa en la presente descripción, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a EBOV o a un epítipo de este.

Un "anticuerpo aislado", tal como se usa en la presente descripción, pretende referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen especificidades antigénicas diferentes (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a EBOV está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos del EBOV).

El término "se une específicamente", o similares, 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 puede caracterizarse por una constante de disociación de al menos aproximadamente 1×10^{-8} M o mayor. Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmones superficiales, y similares. En el contexto de la presente divulgación, se considera que los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) que se unen a EBOV así como también a uno o más antígenos adicionales se "unen específicamente" a EBOV. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otros materiales celulares o sustancias químicas.

Los anticuerpos anti-EBOV ilustrativos que pueden incluirse en las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación se exponen en las publicaciones de solicitud de patente US 2016/0215040 y WO 2016/123019, cuyas descripciones se incorporan como referencia en su totalidad. De particular interés son los tres anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P divulgados en ellas y formulados independientemente o en cualquier combinación en una formulación farmacéutica estable.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6 y una HCDR3 de SEQ ID NO: 8. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR de SEQ ID NO: 2.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR de SEQ ID NO: 10.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 10.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 que tiene no más de 5 sustituciones de aminoácidos.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 que tiene no más de 2 sustituciones de aminoácidos.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24 y una HCDR3 de SEQ ID NO: 26. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR de SEQ ID NO: 20.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región

determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR de SEQ ID NO: 28.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 20.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 28.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 que tiene no más de 5 sustituciones de aminoácidos.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28 que tiene no más de 2 sustituciones de aminoácidos.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42 y una HCDR3 de SEQ ID NO: 44. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR de SEQ ID NO: 38.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52. En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR de SEQ ID NO: 46.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 38.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo

anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 46.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 que tiene no más de 5 sustituciones de aminoácidos.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anticuerpo anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46 que tiene no más de 2 sustituciones de aminoácidos.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, una formulación farmacéutica líquida estable comprende uno o más de los anticuerpos anti-EBOV, o fragmentos de unión al antígeno de estos, como se describió anteriormente.

La identidad de secuencia puede medirse mediante cualquier método conocido en la técnica (por ejemplo, GAP, BESTFIT y BLAST).

La presente divulgación también incluye formulaciones líquidas estables que comprenden anticuerpos anti-EBOV, en donde los anticuerpos anti-EBOV comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR divulgadas en la presente descripción que tienen una o más sustituciones de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras. Ilustrativamente, la presente divulgación incluye formulaciones que comprenden anticuerpos anti-EBOV que tienen secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR con, por ejemplo, 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc. sustituciones de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservadoras con relación a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR divulgadas en la presente descripción.

En ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV comprende una región Fc elegida del grupo que consiste en los isotipos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humanos.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 18.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada de SEQ ID NO: 35 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 36.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, el anti-EBOV, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una cadena pesada de SEQ ID NO: 53 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 54.

Se conoce bien en la técnica que la escisión terminal de aminoácidos puede producirse durante la producción de anticuerpos (ver, por ejemplo, Wang y otros 2007, J. Pharma. Sci. 96: 1-26). En consecuencia, en ciertas modalidades, el anticuerpo anti-EBOV comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, en donde la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 o en donde la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53. En algunos aspectos, a la cadena pesada le falta la lisina C-terminal de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17. En algunos aspectos, a la cadena pesada le falta la lisina C-terminal de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35. En algunos aspectos, al amino de cadena pesada le falta la lisina C-terminal de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53. En ciertas modalidades, las formulaciones de la presente divulgación contienen aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 98 % o más del anticuerpo anti-EBOV en donde la lisina C-terminal está ausente.

La cantidad de anticuerpo, combinación de anticuerpos, o fragmento(s) de unión al antígeno de estos, contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas líquidas estables de la presente divulgación puede variar en dependencia de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como también las circunstancias y propósitos particulares para los cuales se prevé usar las formulaciones. Por ejemplo, puede ser necesario enviar formulaciones que comprenden uno o más anticuerpos anti-EBOV desde el sitio de fabricación hasta áreas remotas del mundo, por ejemplo, el Congo u otras partes de África, donde las formulaciones pueden exponerse a la agitación durante el tránsito y/o a altas temperaturas durante el tránsito o en el punto de atención.

En ciertas modalidades, las formulaciones farmacéuticas son formulaciones líquidas estables que pueden contener $5 \pm 0,75$ mg/ml a $250 \pm 37,5$ mg/ml de anticuerpo total; $10 \pm 1,5$ mg/ml a 240 ± 36 mg/ml de anticuerpo total; $20 \pm$

3,0 mg/ml a $230 \pm 34,5$ mg/ml de anticuerpo total; $25 \pm 3,75$ mg/ml a 240 ± 36 mg/ml de anticuerpo total; $50 \pm 7,5$ mg/ml a $230 \pm 34,5$ mg/ml de anticuerpo total; 60 ± 9 mg/ml a 240 ± 36 mg/ml de anticuerpo total; $70 \pm 10,5$ mg/ml a $230 \pm 34,5$ mg/ml de anticuerpo total; 80 ± 12 mg/ml a 220 ± 33 mg/ml de anticuerpo total; $90 \pm 13,5$ mg/ml a $210 \pm 31,5$ mg/ml de anticuerpo total; 100 ± 15 mg/ml a 200 ± 30 mg/ml de anticuerpo total; $110 \pm 16,5$ mg/ml a $190 \pm 28,5$ mg/ml de anticuerpo total; 120 ± 18 mg/ml a 180 ± 27 mg/ml de anticuerpo total; $130 \pm 19,5$ mg/ml a $170 \pm 25,5$ mg/ml de anticuerpo total; 140 ± 21 mg/ml a 160 ± 24 mg/ml de anticuerpo total; $150 \pm 22,5$ mg/ml de anticuerpo total; o $175 \pm 26,25$ mg/ml. Por ejemplo, las formulaciones de la presente divulgación pueden comprender 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 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; aproximadamente 200 mg/ml; aproximadamente 205 mg/ml; aproximadamente 210 mg/ml; aproximadamente 215 mg/ml; aproximadamente 220 mg/ml; aproximadamente 225 mg/ml; aproximadamente 230 mg/ml; aproximadamente 235 mg/ml; aproximadamente 240 mg/ml; aproximadamente 245 mg/ml; o aproximadamente 250 mg/ml de anticuerpo total o fragmento(s) de unión al antígeno de este, que se une(n) específicamente a EBOV.

Excipientes y ph

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

En ciertas modalidades, la formulación farmacéutica divulgada en la presente descripción comprende al menos un cosolvente orgánico en un tipo y en una cantidad que estabiliza el anticuerpo contra EBOV en condiciones de manipulación o agitación bruscas, tales como, por ejemplo, agitación en vórtex, agitación orbital y choque. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende la prevención de la formación de anticuerpo agregado, por ejemplo, la prevención de la formación de más de 0 % de anticuerpo agregado, o más de 1 % de anticuerpo agregado, o más de 3 % de anticuerpo agregado de la cantidad total de anticuerpo (en una base molar) durante el transcurso de la manipulación brusca. En algunas modalidades, el cosolvente estabiliza la formulación para evitar la formación de 0 % a 3 % de anticuerpo agregado. En algunas modalidades, el cosolvente estabiliza la formulación para evitar la formación de más de 0 % de anticuerpo agregado. En algunas modalidades, la manipulación brusca es la agitación en vórtex de una solución que contiene el anticuerpo y el cosolvente orgánico durante aproximadamente 60 minutos o aproximadamente 120 minutos. En ciertas modalidades, el cosolvente orgánico es un surfactante no iónico, tal como un poli(óxido de etilen) alquilo. Los surfactantes no iónicos específicos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente divulgación incluyen, por ejemplo, polisorbatos tales como polisorbato 20, polisorbato 28, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81 y polisorbato 85; poloxámeros tales como poloxámero 181, poloxámero 188, poloxámero 407; o polietilenglicol (PEG). El polisorbato 20 también se conoce como TWEEN 20, monolaurato de sorbitán y monolaurato de polioxietilenosorbitán. El poloxámero 188 también se conoce como PLURONIC F68.

La cantidad de surfactante no iónico contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación puede variar en dependencia de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como también las circunstancias y propósitos particulares para los cuales se prevé usar las formulaciones. En ciertas modalidades, las formulaciones pueden contener 0,01 % $\pm$ 0,005 % a 0,5 % $\pm$ 0,25 % de surfactante. Por ejemplo, las

formulaciones de la presente divulgación pueden comprender aproximadamente 0,005 %; aproximadamente 0,01 %; aproximadamente 0,02 %; aproximadamente 0,03 %; aproximadamente 0,04 %; aproximadamente 0,05 %; aproximadamente 0,06 %; aproximadamente 0,07 %; aproximadamente 0,08 %; aproximadamente 0,09 %; aproximadamente 0,1 %; 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 %; aproximadamente 0,30 %; aproximadamente 0,35 %; aproximadamente 0,40 %; aproximadamente 0,45 %; aproximadamente 0,46 %; aproximadamente 0,47 %; aproximadamente 0,48 %; aproximadamente 0,49 %; aproximadamente 0,50 %; aproximadamente 0,55 %; o aproximadamente 0,575 % de polisorbato 20 o polisorbato 80.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación también pueden comprender uno o más estabilizadores en un tipo y en una cantidad que establezca el anticuerpo contra EBOV en condiciones de estrés térmico. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende mantener más de aproximadamente 91 % del anticuerpo en una conformación nativa cuando la solución que contiene el anticuerpo y el estabilizador térmico se mantiene a aproximadamente 45 °C durante al menos aproximadamente 28 días. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde menos de aproximadamente 6 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el estabilizador térmico se mantiene a aproximadamente 45 °C durante al menos aproximadamente 28 días. Como se usa en la presente descripción, “nativa” significa la forma principal del anticuerpo por exclusión por tamaño, que generalmente es un monómero intacto del anticuerpo. El término “nativa” también se refiere a la forma no agregada y no degradada del anticuerpo.

En algunas modalidades, el estabilizador térmico es un poliol. En algunas modalidades, el estabilizador térmico es un aminoácido. En algunos aspectos, el estabilizador térmico es un azúcar tal como sacarosa. La cantidad de estabilizador contenida dentro de la formulación puede variar en dependencia de las circunstancias específicas y los propósitos previstos para los cuales se usa la

formulación. En ciertas modalidades, las formulaciones pueden contener aproximadamente 1 % a aproximadamente 15 % de azúcar; aproximadamente 2 % a aproximadamente 14 % de azúcar; aproximadamente 3 % a aproximadamente 13 % de azúcar; aproximadamente 4 % a aproximadamente 12 % de azúcar; aproximadamente 5 % a aproximadamente 12 % de azúcar; aproximadamente 6 % a aproximadamente 11 % de azúcar; aproximadamente 7 % a aproximadamente 10 % de azúcar; aproximadamente 8 % a aproximadamente 11 % de azúcar; o aproximadamente 9 % a aproximadamente 11 % de azúcar. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden comprender 4 % $\pm$ 0,8 %; 5 % $\pm$ 1 %; 6 % $\pm$ 1,2 %; 7 % $\pm$ 1,4 %; 8 % $\pm$ 1,6 %; 9 % $\pm$ 1,8 %; 10 % $\pm$ 2 %; 11 % $\pm$ 2,2 %; 12 % $\pm$ 2,4 %; 13 % $\pm$ 2,6 %; o aproximadamente 14 % $\pm$ 2,8 % de azúcar (por ejemplo, sacarosa).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación también pueden comprender un amortiguador o sistema amortiguador, que sirve para mantener un pH estable y ayudar a estabilizar el anticuerpo contra EBOV. El término “amortiguador” como se usa en la presente descripción indica un amortiguador farmacéuticamente aceptable que mantiene un pH estable o resiste los cambios en el pH de la solución. En modalidades preferidas, el amortiguador comprende histidina. En el contexto de esta divulgación, “amortiguador de histidina” o “amortiguador que comprende histidina” es un amortiguador que comprende el aminoácido histidina. Los ejemplos de amortiguadores de histidina incluyen cloruro de histidina, acetato de histidina, fosfato de histidina y sulfato de histidina. En una modalidad, el amortiguador de histidina se prepara al disolver L-histidina y clorhidrato de L-histidina (por ejemplo, como monohidrato) en una cantidad y relación definidas. En una modalidad, el amortiguador de histidina se prepara mediante la titulación de L-histidina (base libre, sólida) con ácido clorhídrico diluido. El término “histidina” se usa indistintamente con “amortiguador de histidina” a lo largo de esta divulgación. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde menos de 10 % $\pm$ 0,5 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 45 °C durante al menos aproximadamente 28 días. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde menos de 5 % $\pm$ 0,5 % o menos de 4 % $\pm$ 0,5 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene

el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente tres meses. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde menos de 5 % $\pm$ 0,5 % o menos de 4 % $\pm$ 0,5 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 5 °C hasta aproximadamente 36 meses. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde al menos 90 % $\pm$ 0,5 % o al menos 94 % $\pm$ 0,5 % del anticuerpo está en su conformación nativa según se determina por cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 45 °C durante al menos aproximadamente 28 días. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde al menos 95 % $\pm$ 0,5 % o al menos 96 % $\pm$ 0,5 % del anticuerpo está en su conformación nativa según se determina por cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente 3 meses. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde al menos 95 % $\pm$ 0,5 % o al menos 96 % $\pm$ 0,5 % del anticuerpo está en su conformación nativa según se determina por cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 5 °C durante hasta aproximadamente 12 meses. Por “nativa” o “conformación nativa”, se entiende la fracción de anticuerpo que no se encuentra agregada ni degradada. Esto generalmente se determina mediante un ensayo que mide el tamaño relativo de la entidad del anticuerpo, tal como un ensayo cromatográfico de exclusión por tamaño. El anticuerpo no agregado y no degradado eluye en una fracción que equivale al anticuerpo nativo y generalmente es la fracción de elución principal. El anticuerpo agregado eluye en una fracción que indica un tamaño mayor que el anticuerpo nativo. El anticuerpo degradado eluye en una fracción que indica un tamaño menor que el anticuerpo nativo.

En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde al menos 18 % $\pm$ 0,5 % del anticuerpo está en su forma de carga principal según se determina por cromatografía de intercambio catiónico cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 45 °C durante al menos aproximadamente 28 días o al menos aproximadamente un mes. En

algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde al menos $30 \% \pm 0,5 \%$ o al menos $35 \% \pm 0,5 \%$ del anticuerpo está en su forma de carga principal según se determina por cromatografía de intercambio catiónico cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 25°C hasta aproximadamente 3 meses. En algunas modalidades, por “estabiliza” se entiende en donde al menos $30 \% \pm 0,5 \%$ o al menos $34 \% \pm 0,5 \%$ del anticuerpo está en su forma de carga principal según se determina por cromatografía de intercambio catiónico cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 5°C durante hasta aproximadamente 12 meses. Por “carga principal” o “forma de carga principal”, se entiende la fracción de anticuerpo que eluye de una resina de intercambio iónico en el pico principal, que generalmente está flanqueada por picos más “básicos” de un lado y picos más “ácidos” del otro lado.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden tener un pH de aproximadamente 5,2 a aproximadamente 6,4. Por ejemplo, las formulaciones de la presente divulgación pueden tener un pH de aproximadamente 5,5; aproximadamente 5,6; aproximadamente 5,7; aproximadamente 5,8; aproximadamente 5,9; aproximadamente 6,0; aproximadamente 6,1; aproximadamente 6,2; aproximadamente 6,3; aproximadamente 6,4; o aproximadamente 6,5. En algunas modalidades, el pH es $6,0 \pm 0,4$; $6,0 \pm 0,3$; $6,0 \pm 0,2$; $6,0 \pm 0,1$; aproximadamente 6,0; o 6,0.

En algunas modalidades, el amortiguador o sistema amortiguador comprende al menos un amortiguador que tiene un intervalo de amortiguación que se superpone completamente o en parte con el intervalo de pH 5,5 – 7,4. En ciertas modalidades, el amortiguador comprende un amortiguador de histidina. En ciertas modalidades, el amortiguador de histidina está presente a una concentración de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $15 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$; $6 \text{ mM} \pm 1,2 \text{ mM}$ a $14 \text{ mM} \pm 2,8 \text{ mM}$; $7 \text{ mM} \pm 1,4 \text{ mM}$ a $13 \text{ mM} \pm 2,6 \text{ mM}$; $8 \text{ mM} \pm 1,6 \text{ mM}$ a $12 \text{ mM} \pm 2,4 \text{ mM}$; $9 \text{ mM} \pm 1,8 \text{ mM}$ a $11 \text{ mM} \pm 2,2 \text{ mM}$; $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$; o aproximadamente 10 mM. En ciertas modalidades, el sistema amortiguador comprende histidina a $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, a un pH de $6,0 \pm 0,3$. En ciertas modalidades, el amortiguador de histidina comprende L-histidina y monoclóridato de L-histidina monohidratado. En una modalidad, el amortiguador de histidina comprende L-histidina a una concentración de $4,8 \text{ mM} \pm$

0,96 mM. En una modalidad, el amortiguador de histidina comprende monoclórhidrato de L-histidina monohidratado a una concentración de $5,2 \text{ mM} \pm 1,04 \text{ mM}$. En una modalidad, el amortiguador de histidina comprende L-histidina a una concentración de $4,8 \text{ mM} \pm 0,96 \text{ mM}$ y monoclórhidrato de L-histidina monohidratado a una concentración de $5,2 \text{ mM} \pm 1,04 \text{ mM}$.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación también pueden comprender uno o más excipientes que sirven para mantener una viscosidad reducida o para reducir la viscosidad de las formulaciones que contienen una alta concentración de sustancia farmacéutica de anticuerpo anti-EBOV (por ejemplo, generalmente $\geq 150 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo). En ciertas modalidades, el modificador de la viscosidad es un aminoácido tal como prolina o histidina.

Durante el proceso de purificación de anticuerpos, puede desearse o ser necesario intercambiar un amortiguador por otro para lograr concentraciones de excipientes, concentración de anticuerpos, pH, etc., adecuados. El intercambio de amortiguador puede lograrse, por ejemplo, mediante ultrafiltración/diafiltración (UF/DF) mediante el uso, por ejemplo, de una membrana de filtración de flujo tangencial semipermeable. Sin embargo, el uso de dichas técnicas tiene el potencial de provocar el efecto Gibbs-Donnan [Bolton y otros, 2011, *Biotechnol. Prog.* 27(1):140-152]. La acumulación de carga positiva en el lado del producto de la membrana durante la concentración de proteína se contrarresta eléctricamente mediante el movimiento preferencial de los iones positivos hacia el lado opuesto de la membrana. La posible consecuencia de este fenómeno es que las concentraciones finales de ciertos componentes (por ejemplo, histidina, etc.) pueden ser menores que las concentraciones objetivo previstas de estos componentes debido a la repulsión electrostática de los excipientes amortiguadores de diafiltración con carga positiva a la proteína de anticuerpo con carga positiva durante la etapa de UF/DF. Por lo tanto, la presente divulgación incluye formulaciones en las que la concentración de, por ejemplo, histidina varía respecto a las cantidades o intervalos mencionados en la presente descripción debido al efecto Gibbs-Donnan.

La exclusión de volumen describe el comportamiento de muestras altamente concentradas en las que el soluto capta una porción significativa del volumen total de la solución, especialmente moléculas grandes tales como proteínas, que

excluyen el cosolvente de este espacio. Esto disminuye por tanto el volumen total de cosolvente disponible para otros solutos a disolver, lo que puede dar como resultado una distribución desigual a través de la membrana de ultrafiltración. Por lo tanto, la presente divulgación incluye formulaciones en las que la concentración, por ejemplo, de histidina puede variar respecto a las cantidades o intervalos mencionados en la presente descripción debido al efecto de exclusión de volumen.

Durante la fabricación de las formulaciones de la presente divulgación, pueden producirse variaciones en la composición de la formulación. Estas variaciones pueden incluir la concentración del ingrediente activo, la concentración de los excipientes y/o el pH de la formulación. Dado que los cambios en cualquiera de estos parámetros podrían afectar potencialmente la estabilidad o potencia del producto farmacéutico, se realizaron estudios de solidez de la formulación para evaluar si las variaciones en la composición, dentro de los intervalos definidos, afectarían la estabilidad o potencia del anticuerpo. En consecuencia, la presente divulgación incluye formulaciones que comprenden anticuerpos anti-EBOV que son estables y retienen la potencia con hasta 50 % de variación en la concentración de excipientes. Por ejemplo, en la presente descripción se incluyen formulaciones de anticuerpos anti-EBOV, en donde la estabilidad y potencia de dichas formulaciones no se ve afectada por una variación de $\pm 10\%$, $\pm 20\%$, $\pm 30\%$, $\pm 40\%$ o $\pm 50\%$ en la concentración de anticuerpo, sacarosa, amortiguador de histidina y/o polisorbato.

Estabilidad y viscosidad de las formulaciones farmacéuticas

Como se ilustra en los ejemplos a continuación, los presentes inventores han hecho el descubrimiento sorprendente de que pueden obtenerse formulaciones líquidas estables que comprenden altas concentraciones de uno o más anticuerpos anti-EBOV (por ejemplo, aproximadamente 50 mg/ml o aproximadamente 100 mg/ml) mediante la formulación del anticuerpo con aproximadamente 0,1 % de polisorbato 80, aproximadamente 10 % de sacarosa y aproximadamente 10 mM de amortiguador de histidina. En algunos aspectos, las formulaciones líquidas estables comprenden tres anticuerpos anti-EBOV a concentraciones totales de anticuerpos de 50 mg/ml o 100 mg/ml, 0,1 % de polisorbato 80, 10 % de sacarosa y aproximadamente 10 mM de amortiguador de histidina a un pH de aproximadamente 6. Tales formulaciones, incluso aquellas

que contienen tres anticuerpos diferentes, son estables frente al estrés durante la manipulación brusca y al almacenamiento a temperaturas que varían de -80 °C a 45 °C, tal como -30 °C, -20 °C, 5 °C, 25 °C, (mostrado en la presente descripción) y tienen baja viscosidad (tienen una viscosidad por debajo de 5 cP).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación típicamente exhiben altos niveles de estabilidad. El término “estable”, como se usa en la presente descripción en referencia a las formulaciones farmacéuticas, significa que los anticuerpos dentro de las formulaciones farmacéuticas retienen un grado aceptable de estructura química o función biológica después del almacenamiento en condiciones definidas. Una formulación puede ser estable aunque el anticuerpo contenido en ella no mantenga el 100 % de su estructura química o función biológica después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida. En ciertas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 % o aproximadamente 99 % de la estructura o función de un anticuerpo después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida puede considerarse como “estable”.

La estabilidad puede medirse, entre otras, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo nativo que permanece en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura definida. El porcentaje de anticuerpo nativo puede determinarse, entre otras, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de ultra rendimiento de exclusión por tamaño [SE-UPLC]), de manera que el término nativo significa no agregado y no degradado. Un “grado aceptable de estabilidad”, tal como se usa esa frase en la presente descripción, significa que al menos 90 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. En ciertas modalidades, al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura definida. La cantidad de tiempo definida después de la cual se mide la estabilidad puede ser de al menos 14 días, 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 o más. La temperatura definida a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 60 °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, aproximadamente 40 °C, o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 40 °C/75 % de humedad (HR), se detecta más de aproximadamente 95 %, 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo por SE-UPLC. Una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 95 %, 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo por SE-UPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 95 %, 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo por SE-UPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 45 °C, se detecta más de aproximadamente 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 % o 96 % de anticuerpo nativo por SE-UPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, se detecta más de aproximadamente 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo por SE-UPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a -30 °C, se detecta más de aproximadamente 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo por SE-UPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a -80 °C, se detecta más de aproximadamente 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo por SE-UPLC.

La estabilidad puede medirse, entre otras, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo que forma un agregado dentro de la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura definida, en donde la estabilidad es inversamente proporcional al porcentaje de agregado que se forma. El porcentaje de anticuerpo agregado puede

determinarse entre otras, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de ultra rendimiento de exclusión por tamaño [SE-UPLC]). Un “grado aceptable de estabilidad”, tal como se usa esa frase en la presente descripción, significa que a lo máximo 5 % del anticuerpo está en una forma agregada (también indicada como la forma de peso molecular alto – HMW) detectada en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. En ciertas modalidades, un grado aceptable de estabilidad significa que a lo máximo aproximadamente 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en un agregado en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. La cantidad de tiempo definida después de la 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 o más. La temperatura a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica al evaluar 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, aproximadamente 40 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en una forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a 25 °C, menos de aproximadamente 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en una forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 40 °C/75 % de HR, se detecta menos de aproximadamente 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo en una forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 45 °C, menos de aproximadamente 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % o 0,5 %, del anticuerpo se detecta en una

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 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en una forma agregada.

La estabilidad puede medirse, 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 la forma ácida. Si bien no se desea limitarse a la teoría, la desamidación del anticuerpo puede provocar que el anticuerpo se cargue más negativamente y, por lo tanto, sea más ácido con relación al anticuerpo no desamidado (ver, por ejemplo, Robinson, N., Protein Deamidation, *PNAS*, 16 de abril de 2002, 99(8):5283-5288). El porcentaje de anticuerpo “acidificado” puede determinarse, entre otras, mediante cromatografía de intercambio iónico (por ejemplo, cromatografía líquida de ultra rendimiento de intercambio catiónico [CEX-UPLC]). Un “grado aceptable de estabilidad”, tal como se usa esa frase en la presente descripción, significa que a lo máximo 45 % del anticuerpo está en una forma más ácida detectada en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura definida. En ciertas modalidades, un grado aceptable de estabilidad significa que a lo máximo aproximadamente 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en una forma ácida en la formulación después de su almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. En una modalidad, un grado aceptable de estabilidad significa que menos de 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en una forma ácida en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. La cantidad de tiempo definida después de la 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 o más. La temperatura a la que puede almacenarse 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 -80 °C, -30 °C o -20 °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 12 meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente 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 3 meses de almacenamiento a 25 °C, menos de aproximadamente 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 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 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.

Otros métodos pueden usarse para evaluar la estabilidad de las formulaciones de la presente divulgación tales como, por ejemplo, calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar la estabilidad térmica, la agitación controlada para determinar la estabilidad mecánica y la absorbancia a aproximadamente 350 nm o aproximadamente 405 nm para determinar las turbidez de la solución. Por ejemplo, una formulación de la presente divulgación puede considerarse estable si, después de 6 o más meses de almacenamiento a aproximadamente 5 °C a

aproximadamente 25 °C, el cambio en la DO₄₀₅ de la formulación es menor que aproximadamente 0,05 (por ejemplo, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01 o menos) respecto a la DO₄₀₅ de la formulación en el tiempo cero.

La medición de la actividad biológica o afinidad de unión del anticuerpo a su diana también puede usarse para evaluar la estabilidad. Por ejemplo, una formulación de la presente divulgación puede considerarse estable si, después del almacenamiento a, por ejemplo, 5 °C, 25 °C, 45 °C, etc. durante una cantidad de tiempo definida (por ejemplo, 1 a 36 meses), el anticuerpo anti-EBOV contenido dentro de la formulación se une a EBOV con una afinidad que es al menos 90 %, 95 % o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento. La afinidad de unión puede determinarse, por ejemplo, por ELISA o resonancia de plasmones superficiales. La actividad biológica puede determinarse mediante un ensayo de actividad de EBOV, tal como, por ejemplo, poner en contacto una célula infectada con EBOV con la formulación que comprende el anticuerpo anti-EBOV. La unión del anticuerpo a dicha célula puede medirse directamente, tal como, por ejemplo, a través de análisis de FACS. Alternativamente, la actividad del anticuerpo puede determinarse mediante una disminución de la carga viral in vitro o in vivo, o mediante un aumento de la supervivencia de un mamífero infectado con EBOV.

Adicionalmente, puede usarse la medición de la potencia relativa del anticuerpo en un ensayo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ensayo de ADCC) para evaluar la estabilidad. Por ejemplo, una formulación de la presente divulgación puede considerarse estable si, después del almacenamiento a, por ejemplo, -80 °C, -30 °C, -20 °C, 5 °C, 25 °C, 40 °C, 45 °C, etc. durante una cantidad de tiempo definida (por ejemplo, 1 a 36 meses), el anticuerpo anti-EBOV contenido dentro de la formulación retiene 90 %, 95 % o más potencia de ADCC relativa en comparación con el anticuerpo antes del almacenamiento.

De manera similar, puede usarse la medición de la potencia relativa del anticuerpo en el ensayo de neutralización de pseudovirus para evaluar la estabilidad. Por ejemplo, una formulación de la presente divulgación puede considerarse estable si, después del almacenamiento a, por ejemplo, -80 °C, -30 °C, -20 °C, 5 °C, 25 °C, 40 °C, 45 °C, etc. durante una cantidad de tiempo definida (por ejemplo, 1 a 36 meses), el anticuerpo anti-EBOV contenido dentro de la formulación retiene 90 %, 95 % o más neutralización de pseudovirus relativa

en comparación con el anticuerpo anterior.

Los métodos adicionales para evaluar la estabilidad de un anticuerpo en la formulación se demuestran en los ejemplos que se presentan a continuación.

Las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente divulgación pueden, en ciertas modalidades, exhibir niveles de viscosidad bajos a moderados. “Viscosidad” como se usa en la presente divulgación 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 se colocan dos fluidos de igual volumen en viscosímetros capilares idénticos y se deja que fluyan 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 llamada viscosidad dinámica o viscosidad 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 la viscosidad cinemática es mm^2/s , que es 1 cSt. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad SI de la viscosidad absoluta es el miliPascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s.

Como se usa en la presente descripción, un bajo nivel de viscosidad, en referencia a una formulación de fluido de la presente divulgación, exhibirá una viscosidad absoluta de menos de aproximadamente 20 cPoise (cP). Por ejemplo, se considerará que una formulación de fluido divulgada en la presente descripción tiene “baja viscosidad”, si, cuando se mide mediante el uso de técnicas estándar de medición de la viscosidad, la formulación exhibe una viscosidad absoluta de aproximadamente 20 cP, aproximadamente 19 cP, aproximadamente 18 cP, aproximadamente 15 cP, aproximadamente 12 cP, aproximadamente 10 cP, aproximadamente 9 cP, aproximadamente 8 cP o menos. Como se usa en la presente descripción, un nivel de viscosidad moderado, en referencia a una formulación de fluido de la presente divulgación, exhibirá una viscosidad absoluta de entre aproximadamente 35 cP y aproximadamente 20 cP. Por ejemplo, se considerará que una formulación de fluido divulgada en la presente descripción

tiene “viscosidad moderada”, si cuando se mide mediante el uso de técnicas estándar de medición de viscosidad, la formulación exhibe una viscosidad absoluta de aproximadamente 34 cP, aproximadamente 33 cP, aproximadamente 32 cP, aproximadamente 31 cP, 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, aproximadamente 20 cP, aproximadamente 19 cP, 18 cP, aproximadamente 17 cP, aproximadamente 16 cP o aproximadamente 15 cP. Las formulaciones proporcionadas en la presente descripción pueden tener una viscosidad baja, por ejemplo, una viscosidad de aproximadamente 2 cP.

Formulaciones ilustrativas

De acuerdo con un aspecto de la presente divulgación, la formulación farmacéutica es una formulación líquida estable, generalmente fisiológicamente isotónica, de baja viscosidad, que comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a EBOV (por ejemplo, H1H17203P, H1H17139P y/o H1H17161P), a una concentración de hasta 250 mg/ml $\pm$ 45 mg/ml; (ii) un sistema amortiguador de histidina que proporciona suficiente amortiguación a aproximadamente pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) un cosolvente orgánico, que protege la integridad estructural del anticuerpo; y (iv) un estabilizador que es un azúcar.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, a pH 6,0 $\pm$ 0,3; en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador

de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID

NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $50\text{ mg/ml} \pm 7,5\text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $50\text{ mg/ml} \pm 7,5\text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una

HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $50\text{ mg/ml} \pm 7,5\text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un tercer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16; el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34; y el tercer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) $10\% \pm 2\%$ p/v de sacarosa, (b) $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ p/v de polisorbato y (d) $100\text{ mg/ml} \pm 15\text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a $\text{pH } 6,0 \pm 0,3$; en donde el anticuerpo es un

anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, a pH 6,0 $\pm$ 0,3; en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, a pH 6,0 $\pm$ 0,3; en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, a pH 6,0 $\pm$ 0,3; en donde un primer anticuerpo es un

anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, a pH 6,0 $\pm$ 0,3; en donde un primer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, y un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de

anticuerpo anti-EBOV total, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34; y el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica líquida estable comprende: (a) $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa, (b) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina, (c) $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato y (d) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo anti-EBOV total, a pH $6,0 \pm 0,3$; en donde un primer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (i) SEQ ID NO: 2/10, un segundo anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (ii) SEQ ID NO: 20/28, y un tercer anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano que comprende tres CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en el par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR de (iii) SEQ ID NO: 38/46. En una modalidad, el primer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 4, una HCDR2 de SEQ ID NO: 6, una HCDR3 de SEQ ID NO: 8, una LCDR1 de SEQ ID NO: 12, una LCDR2 de SEQ ID NO: 14 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 16; el segundo anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 22, una HCDR2 de SEQ ID NO: 24, una

HCDR3 de SEQ ID NO: 26, una LCDR1 de SEQ ID NO: 30, una LCDR2 de SEQ ID NO: 32 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 34; y el tercer anticuerpo anti-EBOV comprende una HCDR1 de SEQ ID NO: 40, una HCDR2 de SEQ ID NO: 42, una HCDR3 de SEQ ID NO: 44, una LCDR1 de SEQ ID NO: 48, una LCDR2 de SEQ ID NO: 50 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52.

Los ejemplos no limitantes adicionales de formulaciones farmacéuticas incluidas en la presente divulgación se exponen en otra parte en la presente descripción, que incluye los ejemplos de trabajo que se presentan a continuación.

Contenedores y métodos de administración

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden estar contenidas dentro de cualquier contenedor adecuado para el almacenamiento de medicamentos y otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de un contenedor de vidrio o plástico sellado y esterilizado que tiene un volumen definido tal como un vial, una ampolla, una jeringa, un cartucho o un frasco. Pueden usarse diferentes tipos de viales para contener las formulaciones de la presente divulgación que incluyen, por ejemplo, viales de vidrio o plástico transparentes y opacos (por ejemplo, ámbar). Igualmente, puede usarse cualquier tipo de jeringa para contener o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden estar contenidas dentro de jeringas con “contenido de tungsteno normal” o jeringas con “contenido de tungsteno bajo”. Como apreciarán los expertos en la técnica, el proceso de fabricación de jeringas de vidrio generalmente implica el uso de una varilla de tungsteno caliente que funciona para perforar el vidrio, para crear de esta manera un orificio del cual se pueden extraer y expulsar líquidos de la jeringa. Este proceso da como resultado la deposición de cantidades traza de tungsteno en la superficie interior de la jeringa. Pueden usarse lavados y otras etapas de procesamiento subsecuentes para reducir la cantidad de tungsteno en la jeringa. Como se usa en la presente descripción, el término “contenido de tungsteno normal” significa que la jeringa contiene 500 partes por mil millones (ppb) de tungsteno o más. El término “contenido de tungsteno bajo” significa que la jeringa contiene menos de 500 ppb de tungsteno. Por ejemplo, una jeringa con contenido de tungsteno bajo, de acuerdo con la presente divulgación, 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 goma usados en las jeringas y los tapones de goma usados para cerrar las aberturas de los viales pueden recubrirse para evitar la contaminación del contenido medicinal de la jeringa o el vial, o para conservar su estabilidad. Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación, de acuerdo con ciertas modalidades, pueden estar contenidas dentro de una jeringa que comprende un émbolo recubierto o dentro de un vial que está sellado con un tapón de goma recubierto. Por ejemplo, el émbolo o tapón puede recubrirse con una película de fluorocarbono. Los ejemplos de tapones o émbolos recubiertos adecuados para su uso con viales y jeringas que contienen las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación se mencionan, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos núms. 4,997,423; 5,908,686; 6,286,699; 6,645,635; y 7,226,554, cuyos contenidos se incorporan en la presente descripción como referencia en su totalidad. Los tapones y émbolos de goma recubiertos ilustrativos particulares que pueden usarse en el contexto de la presente divulgación están disponibles comercialmente bajo el nombre comercial “FluroTec®”, comercializado por West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA). FluroTec® es un ejemplo de un recubrimiento de fluorocarbono usado para minimizar o evitar que el producto farmacéutico se adhiera a las superficies de goma.

De acuerdo con ciertas modalidades de la presente divulgación, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de una jeringa con contenido de tungsteno bajo que comprende un émbolo recubierto con fluorocarbono.

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente por vías parenterales tales como inyección (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o administración percutánea, por mucosas, nasal, pulmonar u oral. Numerosos dispositivos de suministro autoinyectores o plumas reutilizables pueden usarse para suministrar por vía subcutánea las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, Reino Unido), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, 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,

Copenhague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania). Los ejemplos de dispositivos de suministro autoinyectores o plumas desechables que tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, la 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).

El uso de un microinfusor para suministrar las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación también se contempla en la presente descripción. Como se usa en la presente descripción, el término “microinfusor” significa un dispositivo de suministro subcutáneo diseñado para administrar lentamente grandes volúmenes (por ejemplo, hasta aproximadamente 2,5 ml o más) de una formulación terapéutica durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30 o más minutos). Ver, por ejemplo, los documentos U.S. 6,629,949; US 6,659,982; y Meehan y otros, *J. Controlled Release* 46:107-116 (1996). Los microinfusores son particularmente útiles para el suministro de grandes dosis de proteínas terapéuticas contenidas dentro de soluciones de alta concentración (por ejemplo, aproximadamente 100, 125, 150, 175, 200 o más mg/ml) o viscosas.

En ciertas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable de cualquiera de los aspectos anteriores está contenida en un vial de vidrio estéril y se administra como una infusión IV. Las dosis ilustrativas incluyen 30 000 mg, 25 000 mg, 20 000 mg, 15 000 mg, 13 500 mg, 12 500 mg, 10 000 mg, 7500 mg, 5000 mg, 2500 mg, 1450 mg, 1000 mg, 725 mg, 600 mg, 500 mg, 250 mg, 200 mg, 150 mg, 100 mg, 75 mg, 50 mg o 25 mg.

En una modalidad, el contenedor es un vial de vidrio de borosilicato transparente de 20 ml tipo 1. En ciertas modalidades, el contenedor es un vial de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 ml, 5 ml o 10 ml con un tapón de clorobutilo, con un recubrimiento FluroTec®.

En una modalidad, la formulación farmacéutica líquida de la presente divulgación que comprende aproximadamente 25 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml o 150 mg/ml

de anticuerpo anti-EBOV se administra por vía intravenosa y puede estar contenida en un vial de vidrio. En algunas modalidades, la presente divulgación proporciona un vial de vidrio que comprende una formulación líquida estable que comprende 50 mg/ml, 100 mg/ml o 150 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, 10 mM de histidina, a pH de aproximadamente 6,0, 10 % de sacarosa y 0,1 % de polisorbato 80.

En algunas modalidades, cada anticuerpo se administra a 50 mg/kg de peso corporal. En una modalidad, dos anticuerpos se coformulan de manera que la formulación final permite que cada anticuerpo se administre a 50 mg/kg de peso corporal. En consecuencia, la dosis final que se administrará al paciente es de 100 mg/kg de peso corporal, con los dos anticuerpos en la formulación en una relación 1:1. En una modalidad, los anticuerpos coformulados se suministran por vía intravenosa durante un período de tiempo de aproximadamente 2 horas.

En algunas modalidades, tres anticuerpos se coformulan de manera que la formulación final permite que cada anticuerpo se administre a 50 mg/kg de peso corporal. En consecuencia, la dosis final a administrar al paciente es de 150 mg/kg de peso corporal, con los tres anticuerpos en la formulación en una relación 1:1:1. En una modalidad, los anticuerpos coformulados se suministran por vía intravenosa durante un período de tiempo de aproximadamente 2 horas.

En algunos aspectos, un paciente que pesa aproximadamente 90 kg y recibe una dosis de 150 mg/kg recibiría una dosis de aproximadamente 13 500 mg. En algunos aspectos, un paciente que pesa aproximadamente 45 kg y recibe 150 mg/kg recibiría una dosis de aproximadamente 6750 mg. En algunos aspectos, un paciente podría recibir hasta 30 000 mg.

En ciertas modalidades, los tres anticuerpos se preparan en un vial de vidrio. En ciertas modalidades, cada vial puede contener 725 mg de anticuerpo total, es decir, tres anticuerpos en una relación 1:1:1 en un volumen de 14,5 ml, lo que da una concentración final de anticuerpo de 50 mg/ml. Esto se puede administrar por vía intravenosa a un paciente en un período de tiempo de dos horas.

En ciertas modalidades, los tres anticuerpos se preparan en un vial de vidrio. En ciertas modalidades, cada vial puede contener 1450 mg de anticuerpo total, es decir, tres anticuerpos en una relación 1:1:1 en un volumen de 14,5 ml, lo que da una concentración final de anticuerpo de 100 mg/ml. Esto se puede administrar por vía intravenosa a un paciente en un período de tiempo de dos horas.

En ciertas modalidades, la presente divulgación proporciona un autoinyector que comprende cualquiera de las formulaciones líquidas descritas en la presente descripción. En algunas modalidades, la presente divulgación proporciona un autoinyector que comprende una formulación líquida estable que comprende aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml o aproximadamente 175 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, aproximadamente 10 mM de histidina, a pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 10 % de sacarosa y aproximadamente 0,1 % de polisorbato 80. En ciertas modalidades, la presente divulgación proporciona un autoinyector que comprende cualquiera de las formulaciones líquidas descritas en la presente descripción. En algunas modalidades, la presente divulgación proporciona un autoinyector que comprende una formulación líquida estable que comprende 50 mg/ml o 100 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total, 10 mM de histidina, a pH de aproximadamente 6,0, 10 % de sacarosa y 0,1 % de polisorbato 80.

En ciertas modalidades, la presente divulgación proporciona una jeringa precargada que comprende cualquiera de las formulaciones líquidas descritas en la presente descripción. En algunas modalidades, la presente divulgación proporciona una jeringa precargada que comprende una formulación líquida estable que comprende aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml o aproximadamente 175 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV, aproximadamente 10 mM de histidina, a pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 10 % de sacarosa y aproximadamente 0,1 % de polisorbato 80. En ciertas modalidades, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml cargada, con una aguja de pared delgada de calibre 27, un émbolo de goma recubierto con fluorocarbono y un protector de aguja de goma.

En una modalidad, la formulación farmacéutica líquida que contiene aproximadamente 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total se administra en un volumen de aproximadamente hasta 2 ml en una jeringa precargada. En ciertas modalidades, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml cargada, con una aguja de pared delgada de calibre 27, un émbolo de goma recubierto con fluorocarbono y un protector de aguja de goma. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml OMPI equipada con una aguja de calibre 27, un protector de aguja de goma FM27, y un émbolo de

goma 4023/50 recubierto con FLUROTEC®.

En una modalidad, la formulación farmacéutica líquida que contiene aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV se administra en un volumen de aproximadamente hasta 2 ml en una jeringa precargada. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml cargada, con una aguja de pared delgada de calibre 27, un émbolo de goma recubierto con fluorocarbono y un protector de aguja de goma. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml OMPI equipada con una aguja de calibre 27, un protector de aguja de goma FM27, y un émbolo de goma 4023/50 recubierto con FLUROTEC®.

Compatibilidad

En una modalidad, la formulación estable es una solución líquida que contiene 50 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total (por ejemplo, 16,7 mg/ml de cada uno de H1H17203P, H1H17139P y/o H1H17161P; o aproximadamente 25 mg/ml de cada uno de cualquiera de dos de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) para la administración IV. En algunos aspectos, la solución de mezcla IV tiene compatibilidad (incluida la estabilidad durante el uso) con diluyentes y materiales usados en el sistema de dosificación (bolsas IV, equipo de venoclisis y filtros), que incluyen cloruro de sodio al 0,9 %, solución de dextrosa al 5 % o lactato de Ringer, PVC (cloruro de polivinilo) y polietileno.

Las dosis ilustrativas incluyen 10 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg y 150 mg/kg. La estabilidad durante el uso de la formulación anti-EBOV durante el suministro IV respalda la administración de las dosis clínicas. Las bolsas de PVC IV de cloruro de sodio al 0,9 %, que contienen los anticuerpos diluidos, en algunas modalidades, pueden mantenerse inicialmente durante 24 horas a 5 °C, después incubarse durante al menos 8 horas a 25 °C. Después de estas incubaciones, cada uno de los equipos de venoclisis puede conectarse a bolsas IV, cebarse con el DP diluido y mantenerse durante 1 hora a temperatura ambiente. Después, las soluciones de DP diluidas pueden bombearse a través de los respectivos equipos de venoclisis a 25 ml/h y 500 ml/h. Estos equipos de venoclisis contienen los materiales básicos (PVC con DEHP, PVC con TOTM y polietileno) que comprenden los equipos de venoclisis usados para el suministro IV de la combinación de anticuerpos en usos clínicos. Los equipos de venoclisis pueden

contener un filtro en línea de polietersulfona de 0,2 µm.

En algunos aspectos, una formulación anti-EBOV a 50 mg/ml que comprende al menos un anticuerpo anti-EBOV, diluido en una inyección de cloruro de sodio al 0,9 % a concentraciones de 2,2 mg/ml o 23,7 mg/ml, es física y químicamente estable cuando se analiza en estas condiciones dentro de los intervalos de dosis y condiciones de administración propuestos. La formulación anti-EBOV puede, en algunos aspectos, no exhibir ningún cambio significativo en los atributos de calidad después de la dilución en bolsas IV, almacenamiento en bolsa IV durante 24 horas a 2 – 8 °C y al menos 8 horas a 25 °C, mantenimiento en el equipo de venoclisis durante una hora, o suministro con velocidades de bombeo entre 25 ml/hora y 500 ml/hora.

En algunos aspectos, se proporciona la flexibilidad adicional de usar diferentes diluyentes para la preparación de la dosis de una formulación de anticuerpos coformulados y para respaldar la variación de temperatura (más de 25 °C) que puede producirse durante la administración IV. Cuando los anticuerpos anti-EBOV se diluyen con cloruro de sodio al 0,9 %, dextrosa al 5 % o lactato de Ringer a 40 °C, la formulación continúa exhibiendo estabilidad. Las bolsas IV que contienen anticuerpos diluidos pueden mantenerse inicialmente durante 24 horas a 5 °C; después incubarse durante al menos 6 horas a 40 °C. Después de las incubaciones, cada uno de los equipos de venoclisis puede conectarse a las bolsas IV, cebarse con los anticuerpos diluidos y mantenerse durante 1 hora a temperatura ambiente. Después, las soluciones de anticuerpos diluidas pueden bombearse a través de los equipos de venoclisis respectivos.

En algunos aspectos, una formulación de anticuerpos anti-EBOV a 50 mg/ml que comprende al menos un anticuerpo anti-EBOV, diluido en inyección de cloruro de sodio al 0,9 %, dextrosa al 5 % o lactato de Ringer a concentraciones de 1,6 mg/ml o 27,9 mg/ml puede ser física y químicamente estable en las condiciones analizadas dentro de los intervalos de dosis y condiciones de administración propuestos. La formulación anti-EBOV puede, en algunos aspectos, no exhibir ningún cambio significativo en los atributos de calidad después de la dilución en bolsas IV, almacenamiento en bolsa IV durante 24 horas a 2 – 8 °C y al menos 6 horas a 40 °C, mantenimiento en equipo de venoclisis durante una hora.

Las características de compatibilidad IV (que incluyen la estabilidad durante el

uso) de las formulaciones farmacéuticas líquidas estables respaldan las siguientes conclusiones con relación a la preparación de la dosis y la administración IV (50 mg/ml):

- Las bolsas IV de inyección de cloruro de sodio al 0,9 %, inyección de dextrosa al 5 % y lactato de Ringer hechas de PVC son compatibles con la administración IV de la formulación que contiene al menos un anticuerpo anti-EBOV;
- La formulación de anticuerpos anti-EBOV puede diluirse a concentraciones de anticuerpos tan bajas como 2,2 mg/ml y tan altas como 23,7 mg/ml en las bolsas de PVC IV que contienen diluyente IV de cloruro de sodio al 0,9 %, dextrosa al 5 % o lactato de Ringer para administración IV;
- Los anticuerpos coformulados diluidos preparados con inyección de cloruro de sodio al 0,9 % pueden almacenarse a temperatura ambiente hasta 25 °C durante al menos aproximadamente 8 horas desde el momento de la preparación hasta el final de la infusión o a 2 °C a 8 °C durante al menos aproximadamente 24 horas desde el momento de la preparación hasta el final de la infusión;
- Los anticuerpos coformulados diluidos preparados con dextrosa al 5 % o lactato de Ringer pueden almacenarse a temperatura ambiente hasta 25 °C durante al menos aproximadamente 4 horas desde el momento de la preparación hasta el final de la infusión o a 2 °C a 8 °C durante al menos aproximadamente 24 horas desde el momento de la preparación hasta el final de la infusión;
- Los anticuerpos coformulados diluidos (2,2 mg/ml a 23,7 mg/ml) preparados con solución de cloruro de sodio al 0,9 %, dextrosa al 5 % o lactato de Ringer son estables durante 6 horas a 40 °C;
- Los anticuerpos coformulados diluidos pueden administrarse con un equipo de venoclisis compuesto por PVC que contiene DEHP, PVC que contiene TOTM o PVC revestido con polietileno;
- Los anticuerpos coformulados diluidos son compatibles con el uso de un filtro de polietersulfona de 0,2 µm en línea.

USOS TERAPÉUTICOS DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación son útiles, entre otros, para el tratamiento, la prevención o la mejora de EBOV o cualquier síntoma relacionado con este.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la técnica una divulgación y descripción completas sobre cómo hacer y usar los métodos y composiciones divulgados en la presente descripción, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunas desviaciones y errores experimentales. A menos que se indique de cualquier otra manera, las partes son partes en moles, el peso molecular es peso molecular promedio, la temperatura es en grados centígrados y la presión es la atmosférica o cercana a esta.

Ejemplo 1: Desarrollo de una formulación de anticuerpos anti-EBOV

Los objetivos de las actividades de formulación fueron desarrollar una formulación con los siguientes atributos:

- Una formulación líquida que es estable después de someterse a estrés, por ejemplo, ciclos de temperatura, temperaturas extremas, agitación durante el transporte, etc., condiciones a las que un agente terapéutico estaría expuesto en tránsito desde un centro de fabricación hasta clínicas de campo remotas donde se ha producido exposición al Ébola y/o donde existen pacientes con Ébola;
- Una formulación líquida con una concentración del anticuerpo anti-EBOV suficiente para suministrar una dosis de 25 mg a 30 000 mg, por ejemplo, aproximadamente 7500 mg, aproximadamente 5000 mg, aproximadamente 3000 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 1500 mg, 1000 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 50 mg o aproximadamente 25 mg, por infusión intravenosa;
- Una formulación casi isoosmolar que es estable tras la dilución con diluyentes usados comúnmente, por ejemplo, inyección de cloruro de sodio al 0,9 % o inyección de dextrosa al 5 % o inyección de lactato de Ringer, para infusión intravenosa;
- Una formulación que es compatible y estable en vial de vidrio transparente tipo 1 y tapón de suero estándar como envase; y
- Una solución de producto farmacéutico (DP) estéril que respalda la estabilidad

a largo plazo;

- o Una formulación que minimiza las especies de anticuerpos de peso molecular alto (HMW) cuando se someten a estrés por manipulación y térmico;
- o Una formulación que minimiza los cambios en la distribución relativa de las especies cargadas de anticuerpos cuando se someten a estrés térmico; y
- o Una formulación que mantiene la actividad biológica cuando se somete a un tránsito brusco y estrés térmico en entornos extremos.

Durante el desarrollo de la formulación, se emplearon tres condiciones principales de estrés de proteínas (que representan condiciones de manipulación extremas a las que el producto farmacéutico de anticuerpo podría someterse durante la manipulación, fabricación, envío, almacenamiento y etiquetado) para desarrollar y optimizar las formulaciones de anticuerpos y evaluar los efectos de posibles estrés del mundo real sobre la estabilidad del producto farmacéutico usado en regiones remotas del mundo. Estas condiciones de estrés incluyeron:

- Agitación (en vórtex) de la solución de proteína a temperatura ambiente. La agitación en vórtex en viales de vidrio supera la agitación que se produce durante la manipulación y fabricación de la proteína.
- Incubar la solución de proteína a temperatura elevada (37 °C, 40 °C o 45 °C) con relación a la condición de almacenamiento del DP propuesta (2 °C-8 °C).
- Someter la proteína a múltiples ciclos de congelación y descongelación. Dado que la proteína experimentará al menos un ciclo de congelación y descongelación durante la fabricación del DP, múltiples ciclos de congelación y descongelación simulan y superan el estrés real que se espera que experimente la proteína.

Hubo varios objetivos principales del trabajo de desarrollo de la formulación inicial:

1. Selección de amortiguador y pH para cada uno de los tres anticuerpos anti-EBOV: La elección de amortiguador y pH puede tener un gran efecto sobre la estabilidad de las proteínas, por lo tanto, decidir la especie de amortiguador óptima y el pH es un proceso importante. En estas secciones se presentan estudios que demuestran los fundamentos para la elección del amortiguador óptimo y el pH para cada anticuerpo.
2. Selección del surfactante o el cosolvente orgánico para cada uno de los tres anticuerpos anti-EBOV: Un surfactante o cosolvente orgánico, tal como el polisorbato, se requiere típicamente para evitar la precipitación o agregación de proteínas cuando se agita. La proteína soluble puede someterse a agitación

cuando se manipula, se filtra, se mezcla, se fabrica, se envía y se administra. La sustancia farmacéutica activa de anticuerpo en una solución amortiguada simple puede ponerse visiblemente turbia con el exceso de agitación. Por lo tanto, se determinó que era importante estabilizar cada una de las proteínas para manipularlas y agitarlas.

3. Identificación/selección de excipientes estabilizadores/tonificantes: Se examinó la adición de azúcares, sales y aminoácidos para determinar su capacidad de mejorar la estabilidad de cada uno de los tres anticuerpos frente al estrés térmico y para aumentar la vida útil del producto farmacéutico (DP). Los fundamentos para la inclusión de estos estabilizadores térmicos, así como también los estudios que identifican las concentraciones óptimas en la formulación final, se presentan en la presente descripción.

4. Selección de la concentración de anticuerpos: Se examinó el efecto de la concentración de anticuerpos sobre la estabilidad del producto farmacéutico con los excipientes seleccionados.

5. Coformulación de tres anticuerpos anti-EBOV: Los tres anticuerpos anti-EBOV se coformularon en una formulación líquida a dos concentraciones, y se seleccionó el amortiguador y el pH para la combinación, se seleccionó el surfactante o el cosolvente orgánico, se analizaron excipientes adicionales, y se identificaron y seleccionaron los estabilizadores.

Las actividades de desarrollo de la formulación inicial se realizaron mediante el uso de 100 mg/ml de cada anticuerpo anti-EBOV formulado por separado, e implicó la selección de cosolventes orgánicos, estabilizadores térmicos, y amortiguadores en formulaciones líquidas de cada uno de los anticuerpos anti-EBOV para identificar los excipientes que son compatibles con la proteína y mejorar su estabilidad, mientras se mantiene la osmolalidad casi fisiológica y la baja viscosidad para la inyección intravenosa y subcutánea. También se examinaron las condiciones de amortiguación para determinar el pH óptimo para la máxima estabilidad de la proteína (descrito en el Ejemplo 6 en la presente descripción).

Los resultados de este trabajo de desarrollo de la formulación inicial se usaron para desarrollar una formulación inicial que fuera adecuada para los estudios clínicos.

Con el conocimiento obtenido a partir del desarrollo de la formulación inicial, las

actividades de desarrollo de la formulación en etapa tardía implicaron la coformulación de los tres anticuerpos a dos concentraciones, lo que confirma el pH, la concentración del surfactante y los estabilizadores para identificar los excipientes que mejoran la estabilidad de la proteína a concentraciones de proteínas altas y bajas, y cuando se exponen a estrés tal como altas temperaturas y agitación (descrito en los Ejemplos 4-9).

Durante el desarrollo de la formulación, se evaluaron las formulaciones para determinar la estabilidad frente al estrés y en almacenamiento. Los métodos usados para evaluar la estabilidad en los estudios de desarrollo de la formulación se describen en el Ejemplo 3 en la presente descripción. Los Ejemplos 4 a 9 describen la estabilidad en almacenamiento y frente al estrés de las formulaciones.

Los resultados generados a partir de estos estudios se usaron para desarrollar formulaciones líquidas estables adecuadas para uso clínico, para administración intravenosa (IV). Tales formulaciones exhibieron estabilidad cuando se expusieron a estrés térmico o por agitación.

Otros atributos de las formulaciones serán evidentes a partir de la descripción en la presente descripción.

Anticuerpos anti-EBOV:

Los anticuerpos anti-EBOV se describen en el documento US 2016/0215040, incorporado en la presente descripción en su totalidad. Los anticuerpos ilustrativos usados en los ejemplos a continuación son anticuerpos anti-EBOV completamente humanos H1H17203P (REGN3470; que tiene una secuencia de aminoácidos de HCVR de SEQ ID NO: 2 y una secuencia de aminoácidos de LCVR de SEQ ID NO: 10), H1H17139P (REGN3471; que tiene una secuencia de aminoácidos de HCVR de SEQ ID NO: 20 y una secuencia de aminoácidos de LCVR de SEQ ID NO: 28), y H1H17161P (REGN3479; que tiene una secuencia de aminoácidos de HCVR de SEQ ID NO: 38 y una secuencia de aminoácidos de LCVR de SEQ ID NO: 46) que comprenden las secuencias descritas en detalle anteriormente.

Ejemplo 2: Formulaciones ilustrativas

En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-EBOV se formulan individualmente o se coformulan como una formulación amortiguada acuosa que comprende: (a) de 5 % $\pm$ 1 % a 15 % $\pm$ 3 % p/v de sacarosa, (b) de 5 mM $\pm$ 1 mM a 20 mM $\pm$ 4 mM

de amortiguador de histidina, (c) de 0,01 % $\pm$ 0,005 % a 0,5 % p/v $\pm$ 0,25 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total a pH 6,0 $\pm$ 0,3. En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-EBOV se formulan individualmente o se coformulan como una formulación amortiguada acuosa que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo total a pH 6,0 $\pm$ 0,3. Cuando se coformulan, los anticuerpos anti-EBOV están presentes en una relación 1:1:1.

En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-EBOV se formulan individualmente o se coformulan como una formulación amortiguada acuosa que comprende: (a) de 5 % $\pm$ 1 % a 15 % $\pm$ 3 % p/v de sacarosa, (b) de 5 mM $\pm$ 1 mM a 20 mM $\pm$ 4 mM de amortiguador de histidina, (c) de 0,01 % $\pm$ 0,005 % a 0,5 % $\pm$ 0,25 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total a pH 6,0 $\pm$ 0,3. En ciertas modalidades, los anticuerpos anti-EBOV se formulan individualmente o se coformulan como una formulación amortiguada acuosa que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo total a pH 6,0 $\pm$ 0,3. Cuando se coformulan, los anticuerpos anti-EBOV están presentes en una relación 1:1:1.

Las formulaciones ilustrativas incluyen:

- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV H1H17203P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV H1H17139P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17203P y H1H17139P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17203P y H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17139P y H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV H1H17203P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV H1H17139P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17203P y H1H17139P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17203P y H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17139P y H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, (b) 10 mM $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, (c) 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato y (d) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-EBOV total H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

Ejemplo 3: Métodos usados para evaluar la estabilidad de la formulación

Se aplicaron los siguientes ensayos para evaluar la estabilidad de la formulación:

- Color y aspecto mediante inspección visual
- pH
- Turbidez medida por aumento de la DO a 405 nm o por nefelometría
- Análisis del material particulado realizado por imágenes de microflujo (MFI) (informado como recuentos de partículas obtenidos tal como están) y oscurecimiento de la luz (HIAC)
- Concentración de proteína mediante cromatografía líquida de ultra rendimiento de fase inversa (RP-UPLC)
- Pureza por cromatografía líquida de ultra rendimiento de exclusión por tamaño (SE-UPLC) o por PAGE reductora y no reductora con dodecilsulfato de sodio y electroforesis capilar con microchip (MCE-SDS)
- Análisis de variantes de carga por cromatografía de intercambio catiónico-cromatografía líquida de ultra rendimiento (CEX-UPLC) o por isoelectroenfoque capilar con imágenes (iCIEF)
- Potencia por bioensayo: La potencia relativa de cada muestra se determina mediante el uso de un bioensayo y se define como: (IC₅₀ de la muestra de referencia/IC₅₀ de la muestra)*100 %. La potencia medida de las muestras de estabilidad en almacenamiento debe estar entre el 50 % y el 150 % de la potencia medida del estándar de referencia.

La estabilidad física de una formulación se refiere a propiedades tales como color, aspecto, pH, turbidez y concentración de proteína. La presencia de partículas visibles en la solución puede detectarse por inspección visual. Una solución pasa la inspección visual si es transparente a ligeramente opalescente, esencialmente libre de partículas visibles e incolora a amarillo pálido. Además, la turbidez, medida por DO a 405 nm, también puede usarse para detectar partículas en solución. Un aumento de la DO a 405 nm puede indicar la presencia de partículas, un aumento de la opalescencia o un cambio de color de los artículos de prueba. La MFI se usa para medir partículas subvisibles de $\geq 2 \mu\text{m}$ de tamaño. La concentración de proteína de anticuerpo anti-EBOV se mide mediante un ensayo de RP-UPLC y se informa como el por ciento de recuperación de proteína con relación al material inicial. En el ensayo de RP-UPLC, el anticuerpo anti-EBOV se eluye de la columna de RP como un único pico. La concentración de proteína se determina a partir del área del pico total del anticuerpo mediante su comparación con una curva de calibración generada mediante el uso de estándares de anticuerpo. El por ciento de recuperación se calcula en base a la concentración de proteína medida con relación a la concentración de proteína inicial.

La estabilidad química se refiere a la formación de formas modificadas covalentemente (por ejemplo, agregados covalentes, productos de escisión o formas de variantes de carga) y formas modificadas no covalentemente (por ejemplo, agregados no covalentes) de proteína. Los productos de degradación de mayor y menor peso molecular pueden separarse del anticuerpo nativo mediante los métodos SE-UPLC y MCE-SDS. El porcentaje de anticuerpo anti-EBOV degradado en los métodos SE-UPLC y MCE-SDS se calcula a partir de la relación del área de todos los picos no nativos respecto al área total de todos los picos de anticuerpo anti-EBOV. Las formas de variantes de carga de anticuerpos anti-EBOV se resuelven mediante el uso de CEX-UPLC e iCIEF. En el método CEX-UPLC, los picos con tiempos de retención anteriores a los del pico principal se etiquetan como picos “ácidos”; los picos con tiempos de retención posteriores a los del pico principal se etiquetan como picos “básicos”. En el método iCIEF, los picos que se enfocan a un pI menor que el del pico principal se etiquetan como picos “ácidos”, mientras que los que se enfocan a un pI mayor que el del pico principal se etiquetan como picos “básicos”.

Ejemplo 4: Estudios de estabilidad de formulaciones acuosas de anticuerpos anti-

EBOV

Todos los estudios descritos en esta sección en este ejemplo se refieren a estudios de estabilidad en investigación realizados al producto farmacéutico (DP) H1H17203P, el DP H1H17139P y el DP H1H17161P. Cada DP se formuló y se cargó por separado para proporcionar datos de estabilidad en condiciones de estabilidad en tiempo real, aceleradas y de estrés. Los lotes de sustancia farmacéutica (DS) usados para estos estudios son representativos de la DS fabricada para uso clínico.

Desarrollo de la formulación

Los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P se formulan para el suministro mediante inyección intravenosa (IV) para un primer estudio en seres humanos. La estabilidad de los productos farmacéuticos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P formulados y cargados individualmente se evaluó en la formulación clínica; los resultados de caracterización analítica indicaron que esta formulación proporcionó una estabilidad adecuada para los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P en todas las condiciones examinadas. La formulación de anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P contiene 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80 y 10 % (p/v) de sacarosa.

Estabilidad en investigación

Todos los estudios de FDS (sustancia farmacéutica formulada) y DP (producto farmacéutico) descritos en esta sección se refieren a estudios de estabilidad en investigación realizados a los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P formulados y cargados individualmente, fabricados para su uso en el desarrollo. Los estudios de estabilidad formales que examinan los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P fabricados para uso clínico se analizan a continuación.

Se han iniciado estudios de estabilidad para determinar la estabilidad en almacenamiento, acelerada y frente al estrés de lotes de investigación formulados y cargados individualmente de DP H1H17203P a 50 mg/ml, DP H1H17139P a 50 mg/ml y DP H1H17161P a 50 mg/ml. Los lotes de DS usados para estos estudios son representativos de la DS fabricada para uso clínico. El DP se incubó en varias condiciones de temperatura elevada, con relación a las condiciones de temperatura de almacenamiento. Estas condiciones aceleradas se seleccionaron

para simular las condiciones más allá de las cuales el DP puede no someterse durante la fabricación y la manipulación y para dilucidar las vías de degradación de DP H1H17203P, DP H1H17139P y DP H1H17161P. En la Tabla 1 se presenta un resumen de las condiciones de estabilidad en almacenamiento, aceleradas y frente al estrés del DP H1H17203P, el DP H1H17139P y el DP H1H17161P, y en la Tabla 2 se presentan los planes de análisis.

Tabla 1: Estudios de estabilidad en investigación de DP H1H17203P, DP H1H17139P y DP H1H17161P

Estabilidad en almacenamiento		Contenedor/Cierre
Temperatura de almacenamiento	Duración del almacenamiento (meses)	Vidrio de borosilicato tipo 1 con tapón de goma de butilo 4432/50 recubierto con FluroTec®
5 °C	0, 1, 3, 6, 9, 12	
Estabilidad acelerada		
Condición de incubación	Duración de la incubación	
25 °C	0, 0,5, 1 y 3 meses	
45 °C	0, 7, 14 y 28 días	
Estabilidad frente al estrés		
Estrés	Duración del estrés	
Agitación (en vórtex)	0, 60 y 120 minutos	
Congelación/descongelación ^a	0, 4 y 8 ciclos	

^aCongelado a -80 °C y descongelado a temperatura ambiente.

Tabla 2: Plan de análisis de los estudios de estabilidad en investigación de DP H1H17203P, DP H1H17139P y DP H1H17161P

Ensayo	Muestras a analizar
Color y aspecto	Todas las muestras
pH	Todas las muestras
Turbidez (aumento de la DO a 405 nm)	Todas las muestras
% de Proteína recuperada por RP-UPLC	Todas las muestras
% de Pureza por MCE-SDS reductora y no reductora	t = 0, 6, 12, 24 y 36 meses a 5 °C; 3 meses a 25 °C; 28 días a 45 °C 120 min de agitación, Congelación/Descongelación 8X
% de Pureza por SE-UPLC	Todas las muestras
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	Todas las muestras
Análisis de variantes de carga por iCIEF	t = 0, 6, 12 a 5 °C; 3 meses a 25 °C; 28 días a 45 °C 120 min de agitación, Congelación/Descongelación 8X

Ensayo	Muestras a analizar
Análisis del material particulado por MFI	t = 0, 6, 12, 24 y 36 meses a 5 °C; 3 meses a 25 °C; 28 días a 45 °C 120 min de agitación, Congelación/Descongelación 8X

Estabilidad en investigación de DP H1H17203P a 50 mg/ml

Estabilidad en almacenamiento en investigación de DP H1H17203P a 50 mg/ml

Se muestran tres meses de datos de estabilidad en investigación del DP H1H17203P a 50 mg/ml. El DP H1H17203P a 50 mg/ml fue física y químicamente estable cuando se almacenó a 5 °C durante 3 meses (Tabla 3). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados.

Estabilidad acelerada en investigación de DP H1H17203P a 50 mg/ml

Los resultados del análisis del DP H1H17203P a 50 mg/ml después de la incubación en condiciones aceleradas se proporcionan en la Tabla 6. Después de incubar el DP H1H17203P durante 28 días a 45 °C, se observaron aumentos de 2,1 % y 1,6 % en la cantidad relativa de especies de HMW y LMW (SE-UPLC), y aumentos de 15,1 % y 13,5 % en el porcentaje de especies variantes de carga ácidas, determinados por CEX-UPLC e iCIEF, respectivamente. Después de incubar el DP H1H17203P durante 3 meses a 25 °C, se observó un aumento de 0,3 % en la cantidad de especies de HMW y LMW (SE-UPLC) y aumentos de 2,9 % y 3,0 % en el porcentaje de especies variantes de carga ácidas, determinados por CEX-UPLC e iCIEF, respectivamente. Los resultados de la prueba de estabilidad acelerada demostraron que un aumento en la cantidad relativa de especies de HMW y LMW y la formación de variantes de carga ácidas fueron las principales vías de degradación del DP H1H17203P a 50 mg/ml.

Estabilidad frente al estrés en investigación de DP H1H17203P a 50 mg/ml

Los resultados de los estudios de estabilidad frente al estrés en investigación se presentan en la Tabla 9. El DP H1H17203P fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos. No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. El DP H1H17203P fue física y químicamente estable cuando se sometió a 8 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -80 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos

monitoreados.

Estabilidad en investigación de DP H1H17139P a 50 mg/ml

Estabilidad en almacenamiento en investigación de DP H1H17139P a 50 mg/ml

Se muestran tres meses de datos de estabilidad en investigación del DP H1H17139P a 50 mg/ml. El DP H1H17139P a 50 mg/ml fue física y químicamente estable cuando se almacenó a 5 °C durante 3 meses (Tabla 4). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. El DP H1H17139P a 50 mg/ml mantuvo la potencia durante el intervalo de evaluación de tres meses, según lo determinado por análisis de bioensayo.

Estabilidad acelerada en investigación de DP H1H17139P a 50 mg/ml

Los resultados del análisis del DP H1H17139P a 50 mg/ml después de la incubación en condiciones aceleradas se proporcionan en la Tabla 7. Después de incubar el DP H1H17139P durante 28 días a 45 °C, se observaron aumentos de 0,8 % y 1,8 % en la cantidad relativa de especies de HMW y LMW (SE-UPLC), y aumentos de 13,8 % y 12,9 % en el porcentaje de especies variantes de carga ácidas, determinados por CEX-UPLC e iCIEF, respectivamente. Después de incubar el DP H1H17139P durante 3 meses a 25 °C, se observaron aumentos de 0,4 % y 0,5 % en la cantidad de especies de HMW y LMW (SE-UPLC) y aumentos de 2,6 % y 3,1 % en el porcentaje de especies variantes de carga ácidas, determinados por CEX-UPLC e iCIEF, respectivamente. H1H17139P mantuvo la potencia, según lo determinado por análisis de bioensayo, después de la incubación en cada una de las condiciones aceleradas. Los resultados de la prueba de estabilidad acelerada demostraron que un aumento en la cantidad relativa de especies de HMW y LMW y la formación de variantes de carga ácidas fueron las principales vías de degradación del DP H1H17139P a 50 mg/ml.

Estabilidad frente al estrés en investigación de DP H1H17139P a 50 mg/ml

Los resultados de los estudios de estabilidad frente al estrés en investigación se presentan en la Tabla 10. El DP H1H17139P fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos. No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. El DP H1H17139P fue física y químicamente estable cuando se sometió a 8 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -80 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se detectó ningún cambio

apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados.

Estabilidad en investigación de DP H1H17161P a 50 mg/ml

Estabilidad en almacenamiento en investigación de DP H1H17161P a 50 mg/ml

Se muestran tres meses de datos de estabilidad en investigación para DP H1H17161P a 50 mg/ml. El DP H1H17161P a 50 mg/ml fue física y químicamente estable cuando se almacenó a 5 °C durante 3 meses (Tabla 5). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. El DP H1H17161P a 50 mg/ml mantuvo la potencia durante el intervalo de evaluación de tres meses, según lo determinado por análisis de bioensayo.

Estabilidad acelerada en investigación de DP H1H17161P a 50 mg/ml

Los resultados del análisis del DP H1H17161P a 50 mg/ml después de la incubación en condiciones aceleradas se proporcionan en la Tabla 8. Después de incubar el DP H1H17161P durante 28 días a 45 °C, se observaron aumentos de 1,0 % y 1,8 % en la cantidad relativa de especies de HMW y LMW (SE-UPLC), y aumentos de 15,6 % y 13,2 % en el porcentaje de especies variantes de carga ácidas, determinados por CEX-UPLC e iCIEF, respectivamente. Después de incubar el DP H1H17161P durante 3 meses a 25 °C, se observaron aumentos de 0,7 % y 0,5 % en la cantidad de especies de HMW y LMW (SE-UPLC) y aumentos de 4,2 % y 3,4 % en el porcentaje de especies variantes de carga ácidas, determinados por CEX-UPLC e iCIEF, respectivamente. H1H17161P mantuvo la potencia, según lo determinado por análisis de bioensayo, después de la incubación en cada una de las condiciones aceleradas. Los resultados de la prueba de estabilidad acelerada demostraron que un aumento en la cantidad relativa de especies de HMW y LMW y la formación de variantes de carga ácidas fueron las principales vías de degradación del DP H1H17161P a 50 mg/ml.

Estabilidad frente al estrés en investigación de DP H1H17161P a 50 mg/ml

Los resultados de los estudios de estabilidad frente al estrés en investigación se presentan en la Tabla 11. El DP H1H17161P fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos. No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. El DP H1H17161P fue física y químicamente estable cuando se sometió a 8 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -

80 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados.

Conclusiones sobre la estabilidad en investigación de DP H1H17203P, DP H1H17139P y DP H1H17161P

Los resultados de los estudios de estabilidad del DP en almacenamiento, aceleradas y frente al estrés indican que las formulaciones de DP H1H17203P, DP H1H17139P y DP H1H17161P pueden soportar exposiciones limitadas a temperatura ambiente sin comprometer la estabilidad física o química. Además, los resultados de los estudios de formulación de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P indican que DP H1H17203P, DP H1H17139P y DP H1H17161P son estables cuando se almacenan a 5 °C durante al menos 3 meses. El DP H1H17203P, el DP H1H17139P y el DP H1H17161P deben almacenarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C, y la exposición a temperaturas mayores que 8 °C debe limitarse.

Tabla 3: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17203P a 50 mg/ml almacenado a 5 °C

Número del estudio de estabilidad		H1H17203-SS004					
Número de lote de DS fuente		9018800002					
Número de lote de la formulación		L15-0397					
Formulación		H1H17203P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Volumen de carga		0,4 ml					
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40					
Ensayo		Duración del almacenamiento (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Color y aspecto		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% de H1H17203P total recuperado por RP-UPLC		100	101	102	109	100	99
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	NR	NA	NR	NA

	Reductora; % de cadena pesada + ligera	99,6	NR	NR	NA	NR	NA
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,6	0,7	0,8	0,8	0,9
	% de Nativo	98,3	98,5	98,4	98,2	97,9	97,7
	% de LMW	1,2	0,9	0,9	1,0	1,3	1,5
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	42,2	42,2	41,2	41,5	41,8	41,9
	% de Principal	46,5	46,9	47,9	48,3	48,1	47,9
	% de Básicas	11,3	10,9	10,9	10,2	10,1	10,2
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	57,1	NR	NR	NA	NR	NA
	% de Principal	40,5	NR	NR	NA	NR	NA
	% de Básicas	2,4	NR	NR	NA	NR	NA
Análisis de partículas por MFI (partí- culas/ml)	2-10 µm	25 573	NR	NR	9370	NR	1212
	≥ 10 µm	1267	NR	NR	436	NR	24
	≥ 25 µm	150	NR	NR	28	NR	3

Tabla 4: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17139P a 50 mg/ml almacenado a 5 °C

Número del estudio de estabilidad		H1H17139 -SS004					
Número de lote de DS fuente		9019300002					
Número de lote de la formulación		L15-0396					
Formulación		H1H17139P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Volumen de carga		0,4 ml					
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40					
Ensayo		Duración del almacenamiento (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Color y aspecto		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% de H1H17139P total recuperado por RP-UPLC		100	100	103	94	101	100
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	NR	NA	NR	NA

	Reductora; % de cadena pesada + ligera	98,7	NR	NR	NA	NR	NA
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,6	0,7	0,8	0,9	0,9
	% de Nativo	98,4	98,4	98,3	98,2	97,8	97,5
	% de LMW	1,1	1,0	1,0	1,1	1,4	1,6
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	42,9	42,8	42,8	43,6	42,9	43,5
	% de Principal	53,2	53,2	52,9	52,1	52,8	51,6
	% de Básicas	4,0	4,0	4,3	4,3	4,4	4,9
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	49,4	NR	NR	NA	NR	NA
	% de Principal	46,8	NR	NR	NA	NR	NA
	% de Básicas	3,2	NR	NR	NA	NR	NA
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	2-10 μm	7332	NR	NR	654	NR	1153
	$\geq 10 \mu\text{m}$	37	NR	NR	15	NR	24
	$\geq 25 \mu\text{m}$	3	NR	NR	3	NR	3

Tabla 5: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17161P a 50 mg/ml almacenado a 5 °C

Número del estudio de estabilidad	H1H17161-SS004						
Número de lote de DS fuente	9019800002						
Número de lote de la formulación	L15-0400						
Formulación	H1H17161P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0						
Volumen de carga	0,4 ml						
Contenedor/Cierre	Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40						
Ensayo	Duración del almacenamiento (meses)						
	0	1	3	6	9	12	
Color y aspecto	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
pH	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	
% de H1H17161P total recuperado por RP-UPLC	100	99	106	106	104	106	
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	NR	NA	NR	NA

	Reductora; % de cadena pesada + ligera	98,4	NR	NR	NA	NR	NA
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,1	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7
	% de Nativo	97,4	97,3	97,2	97,1	96,6	96,2
	% de LMW	1,5	1,5	1,4	1,4	1,8	2,0
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	60,5	60,3	59,8	59,2	61,0	59,8
	% de Principal	35,7	35,7	35,1	36,4	35,6	34,8
	% de Básicas	3,9	4,0	5,1	4,4	3,5	5,4
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	54,1	NR	NR	NA	NR	NA
	% de Principal	42,7	NR	NR	NA	NR	NA
	% de Básicas	3,2	NR	NR	NA	NR	NA
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	2-10 µm	7526	NR	NR	1274	NR	3066
	≥ 10 µm	39	NR	NR	99	NR	148
	≥ 25 µm	7	NR	NR	8	NR	22

Tabla 6: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17203P a 50 mg/ml – Efecto de las condiciones aceleradas

Número del estudio de estabilidad	H1H17203-SS004						
Número de lote de DS fuente	9018800002						
Número de lote de la formulación	L15-0397						
Formulación	H1H17203P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0						
Volumen de carga	0,4 ml						
Contenedor/Cierre	Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40						
Ensayo	Condición de almacenamiento/Duración del almacenamiento						
	Sin almacenamiento	25 °C (meses)			45 °C (días)		
	0	0,5	1	3	7	14	28
Color y aspecto	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
pH	6,1	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1

% de H1H17203P total recuperado por RP-UPLC		100	100	101	102	99	99	101
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	NR	100	NR	NR	98,2
	Reductora; % de cadena pesada + ligera	99,6	NR	NR	99,1	NR	NR	98,4
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,7	0,8	0,9	1,4	1,8	2,7
	% de Nativo	98,3	98,3	98,1	97,6	97,1	96,2	94,4
	% de LMW	1,2	1,0	1,1	1,5	1,5	2,0	2,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	42,2	42,3	43,0	45,1	46,2	50,3	57,3
	% de Principal	46,5	47,2	47,0	45,9	43,7	40,3	33,4
	% de Básicas	11,3	10,5	10,0	9,0	10,1	9,4	9,3
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	57,1	NR	NR	60,1	NR	NR	70,6
	% de Principal	40,5	NR	NR	37,0	NR	NR	26,3
	% de Básicas	2,4	NR	NR	3,0	NR	NR	3,1
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	2-10 µm	25 573	NR	NR	10 568	NR	NR	2677
	≥ 10 µm	1267	NR	NR	989	NR	NR	149
	≥ 25 µm	150	NR	NR	187	NR	NR	25

Tabla 7: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17139P a 50 mg/ml – Efecto de las condiciones aceleradas

Número del estudio de estabilidad	H1H17139-SS004
Número de lote de DS fuente	9019300002
Número de lote de la formulación	L15-0396
Formulación	H1H17139P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0
Volumen de carga	0,4 ml

Contenedor/ Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40						
Ensayo		Condición de almacenamiento/Duración del almacenamiento						
		Sin almacenamiento	25 °C (meses)			45 °C (días)		
		0	0,5	1	3	7	14	28
Color y aspecto		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
pH		6,0	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,0
% de H1H17139P total recuperado por RP-UPLC		100	100	100	104	100	100	99
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	NR	99,5	NR	NR	98,8
	Reductora; % de cadena pesada + ligera	98,7	NR	NR	99,1	NR	NR	98,4
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,7	0,8	1,0	0,9	1,1	1,4
	% de Nativo	98,4	98,1	98,0	97,4	97,6	96,8	95,7
	% de LMW	1,1	1,2	1,2	1,6	1,5	2,1	2,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	42,9	43,0	43,2	45,5	45,4	49,5	56,7
	% de Principal	53,2	52,8	52,4	49,6	49,9	45,6	38,5
	% de Básicas	4,0	4,3	4,4	4,9	4,8	5,0	4,8
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	49,4	NR	NR	52,5	NR	NR	62,3
	% de Principal	46,8	NR	NR	43,0	NR	NR	32,2
	% de Básicas	3,2	NR	NR	3,9	NR	NR	4,8
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	2-10 µm	7332	NR	NR	1279	NR	NR	4628
	≥ 10 µm	37	NR	NR	65	NR	NR	170
	≥ 25 µm	3	NR	NR	6	NR	NR	23

Tabla 8: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17161P a 50 mg/ml – Efecto de las condiciones aceleradas

Número del estudio de estabilidad		H1H17161-SS004						
Número de lote de DS fuente		9019800002						
Número de lote de la formulación		L15-0400						
Formulación		H1H17161P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0						
Volumen de carga		0,4 ml						
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40						
Ensayo		Condición de almacenamiento/Duración del almacenamiento						
		Sin almacenamiento	25 °C (meses)			45 °C (días)		
		0	0,5	1	3	7	14	28
Color y aspecto		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% de H1H17161P total recuperado por RP-UPLC		100	105	98	107	99	96	99
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	NR	98,4	NR	NR	96,1
	Reductora; % de cadena pesada + ligera	98,4	NR	NR	97,6	NR	NR	97,8
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,1	1,4	1,6	1,8	1,5	1,7	2,1
	% de Nativo	97,4	97,0	96,8	96,2	96,5	95,6	94,6
	% de LMW	1,5	1,7	1,7	2,0	2,0	2,6	3,3
Análisis de variantes de carga	% de Ácidas	60,5	61,0	61,7	64,7	64,7	69,1	76,1
	% de Principal	35,7	34,6	34,2	30,0	30,8	26,6	19,4

por CEX-UPLC	% de Básicas	3,9	4,4	4,2	5,4	4,4	4,2	4,5
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	54,1	NR	NR	57,5	NR	NR	67,3
	% de Principal	42,7	NR	NR	38,0	NR	NR	26,9
	% de Básicas	3,2	NR	NR	4,4	NR	NR	5,8
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	2-10 µm	7526	NR	NR	468	NR	NR	2204
	≥ 10 µm	39	NR	NR	33	NR	NR	98
	≥ 25 µm	7	NR	NR	5	NR	NR	7

Tabla 9: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17203P a 50 mg/ml – Efecto de las condiciones de estrés

Número del estudio de estabilidad		RG3470-SS004				
Número de lote de DS fuente		9018800002				
Número de lote de la formulación		L15-0397				
Formulación		H1H17203P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0				
Volumen de carga		0,4 ml				
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40				
Ensayo		Condición de estrés/Duración del estrés				
		Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
		0	60	120	4	8
Color y aspecto		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% de H1H17203P total recuperado por RP-UPLC		100	100	100	99	100
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	100	NR	100
	Reductora; % de cadena pesada + ligera	99,6	NR	99,6	NR	99,2
Pureza por SE-UPLC	% de HMW totales	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6
	% de Nativo total	98,3	98,3	98,3	98,3	98,3

	% de LMW totales	1,2	1,2	1,2	1,1	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	42,2	42,3	42,3	42,3	42,4
	% de Principal	46,5	46,8	46,8	46,7	46,6
	% de Básicas	11,3	11,0	11,0	11,0	11,0
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	57,1	NR	57,5	NR	57,1
	% de Principal	40,5	NR	39,8	NR	40,5
	% de Básicas	2,4	NR	2,6	NR	2,3

Tabla 10: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17139P a 50 mg/ml – Efecto de las condiciones de estrés

Número del estudio de estabilidad		H1H17139-SS004				
Número de lote de DS fuente		9019300002				
Número de lote de la formulación		L15-0396				
Formulación		H1H17139P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0				
Volumen de carga		0,4 ml				
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40				
Ensayo		Condición de estrés/Duración del estrés				
		Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
		0	60	120	4	8
Color y aspecto		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,0	6,1	6,0	6,0	6,1
% de H1H17139P total recuperado por RP-UPLC		100	100	100	100	100
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	100	NR	100
	Reductora; % de cadena pesada + ligera	98,7	NR	99,1	NR	99,3
Pureza por SE-UPLC	% de HMW totales	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6
	% de Nativo total	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4
	% de LMW totales	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	42,9	42,9	42,9	43,1	42,9
	% de Principal	53,2	53,2	53,2	53,0	53,2
	% de Básicas	4,0	3,9	3,9	4,0	3,9
Análisis de		% de Ácidas	49,4	NR	49,8	NR

Número del estudio de estabilidad		H1H17139-SS004					
Número de lote de DS fuente		9019300002					
Número de lote de la formulación		L15-0396					
Formulación		H1H17139P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Volumen de carga		0,4 ml					
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40					
Ensayo variantes de carga por iCIEF		Condición de estrés/Duración del estrés					
		Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/ descongelación (ciclos)		
		0	60	120	4	8	
		% de Principal	46,8	NR	46,0	NR	46,5
		% de Básicas	3,2	NR	3,7	NR	3,5

Tabla 11: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17161P a 50 mg/ml – Efecto de las condiciones de estrés

Número del estudio de estabilidad		H1H17161-SS004				
Número de lote de la DS H1H17161P fuente		9019800002				
Número de lote de la formulación		L15-0400				
Formulación		H1H17161P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0				
Volumen de carga		0,4 ml				
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40				
Ensayo		Condición de estrés/Duración del estrés				
		Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/ descongelación (ciclos)	
		0	60	120	4	8
Color y aspecto		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% de H1H17161P total recuperado por RP-UPLC		100	100	101	99	98
Pureza por MCE-SDS	No reductora; % del pico principal	100	NR	100	NR	100

Número del estudio de estabilidad	H1H17161-SS004					
Número de lote de la DS H1H17161P fuente	9019800002					
Número de lote de la formulación	L15-0400					
Formulación	H1H17161P a 50 mg/ml, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Volumen de carga	0,4 ml					
Contenedor/Cierre	Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40					
Ensayo	Condición de estrés/Duración del estrés					
	Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)		
	0	60	120	4	8	
	Reductora; % de cadena pesada + ligera	98,4	NR	98,7	NR	97,9
Pureza por SE-UPLC	% de HMW totales	1,1	1,0	1,1	1,1	1,1
	% de Nativo total	97,4	97,4	97,5	97,4	97,3
	% de LMW totales	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% de Ácidas	60,5	60,3	60,3	60,5	60,9
	% de Principal	35,7	35,9	35,8	35,6	35,2
	% de Básicas	3,9	3,8	3,9	4,0	4,0
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% de Ácidas	54,1	NR	53,2	NR	54,4
	% de Principal	42,7	NR	42,6	NR	42,3
	% de Básicas	3,2	NR	4,3	NR	3,3

Conclusiones

Los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P se fabrican como un DP líquido para la administración IV. El DP H1H17203P contiene anticuerpo H1H17203P a 50 mg/ml formulado en una solución que contiene 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80 y 10 % (p/v) de sacarosa. El DP H1H17139P contiene anticuerpo H1H17139P a 50 mg/ml formulado en una solución que contiene 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80 y 10 % (p/v) de sacarosa. El DP H1H17161P contiene anticuerpo H1H17161P a 50 mg/ml formulado en una solución que contiene 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80 y 10 % (p/v) de sacarosa.

En base a los resultados de los estudios en este ejemplo, el DP H1H17203P a 50 mg/ml, el DP H1H17139P a 50 mg/ml y el DP H1H17161P a 50 mg/ml son

estables cuando se almacenan a 2-8 °C durante al menos 12 meses. Además, las principales vías de degradación identificadas en condiciones aceleradas fueron la formación de especies de HMW y LMW y variantes de carga ácidas.

Ejemplo 5: Estudios de estabilidad de la formulación acuosa que contiene combinación de anticuerpos anti-EBOV a 50 mg/ml

Se formularon tres anticuerpos monoclonales anti-EBOV, H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P, mediante el uso de 50 mg/ml de proteína total (H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml y H1H17161P a 16,7 mg/ml), 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80 y 10 % (p/v) de sacarosa. Se formularon tres anticuerpos monoclonales anti-EBOV y se combinaron en un único vial de vidrio. Se desarrollaron los métodos usados para evaluar la estabilidad para proporcionar, cuando sea posible, información sobre cada anticuerpo componente. Sin embargo, muchos de los métodos analíticos no pueden proporcionar información sobre cada anticuerpo individual. Cuando no se pueden proporcionar resultados individuales para cada anticuerpo, el método analítico proporciona datos de estabilidad del producto farmacéutico total.

La estabilidad física de una formulación se refiere a propiedades tales como color, aspecto, pH, turbidez y concentración de proteína. La presencia de partículas visibles en la solución puede detectarse por inspección visual. Una solución pasa la inspección visual si es transparente a ligeramente opalescente, esencialmente libre de partículas visibles e incolora a amarillo pálido. La turbidez, medida por un aumento de la DO a 405 nm, también puede usarse para detectar partículas en solución. Un aumento de la DO a 405 nm puede indicar la presencia de partículas, un aumento de la opalescencia o un cambio de color de los artículos de prueba. La MFI se usa para medir partículas subvisibles de $\geq 2 \mu\text{m}$ de tamaño. La concentración de proteína total se mide mediante un ensayo RP-UPLC y se informa como el por ciento de recuperación de proteínas con relación al material inicial.

En el ensayo de RP-UPLC, los picos de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P no pueden resolverse entre sí después de la elución de la columna de fase inversa (Figura 1). La concentración de proteína total (H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) se determina mediante la comparación del área del pico con una curva de calibración generada mediante el uso de un estándar de H1H17203P. Debido a que el coeficiente de extinción de H1H17203P, H1H17139P y

H1H17161P es 1,50, 1,57 y 1,36, respectivamente, el coeficiente de extinción de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P coformulados (1:1:1) sería aproximadamente 1,48 (el promedio de los tres coeficientes de extinción). Por lo tanto, se eligió el estándar de H1H17203P (coeficiente de extinción, 1,50) para generar la curva estándar para determinar la concentración de proteína total en la formulación coformulada. El por ciento de recuperación se calcula en base a la concentración de proteína total medida con relación a la concentración inicial.

La estabilidad química se refiere a la formación de formas modificadas covalentemente (por ejemplo, agregados covalentes, productos de escisión o formas de variantes de carga) y formas modificadas no covalentemente (por ejemplo, agregados no covalentes) de proteína. Los productos de degradación de mayor y menor peso molecular pueden separarse del producto de peso molecular nativo mediante el uso de los métodos SE-UPLC y MCE-SDS. Las formulaciones de tres anticuerpos se caracterizaron en cuanto a la pureza total (H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P nativos) por SE-UPLC (es decir, la pureza de peso molecular de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P no se determinó individualmente) porque las especies nativas de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P no pueden resolverse entre sí (Figura 2). De manera similar, las formulaciones de tres anticuerpos se caracterizarán en cuanto a las especies de peso molecular alto (HMW) totales (H1H17203P HMW, H1H17139P HMW y H1H17161P HMW) y las especies de peso molecular bajo (LMW) totales (H1H17203P LMW, H1H17139P LMW y H1H17161P LMW) porque las especies de HMW o LMW de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P no pueden resolverse entre sí (Figura 2). El porcentaje de especies de HMW totales o de especies de LMW totales en la formulación de 3 anticuerpos, determinado mediante el uso del método SE-UPLC, se calcula a partir de la relación del área de especies de HMW totales o especies de LMW totales respecto al área total de todos los picos de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P, respectivamente. La pureza total, determinada por MCE-SDS no reductora, se calcula a partir de la relación de la intensidad de banda principal de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P respecto a la intensidad total de todas las bandas. La pureza total, determinada por MCE-SDS reductora, se calcula a partir de la relación de la suma de las intensidades de banda de cadena pesada y cadena ligera de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P con relación a la intensidad total de todas las bandas.

El método iCIEF no tuvo una resolución suficiente para separar todas las formas de variantes de carga de los tres anticuerpos. Por lo tanto, este método analítico no se usó para evaluar los cambios en el perfil de variantes de carga de las muestras de formulación de tres anticuerpos. Las formas de variantes de carga de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P coformuladas pudieron resolverse mediante el uso del método CEX-UPLC. Para H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P, los picos con tiempos de retención anteriores a los del pico principal se etiquetan como picos “ácidos”; los picos con tiempos de retención posteriores a los del pico principal se etiquetan como picos “básicos”. Los porcentajes de los picos ácidos, principal y básicos se calculan mediante la comparación del área de picos individuales respecto a las áreas de picos totales de cada anticuerpo.

El producto farmacéutico (DP) usado para los estudios de estabilidad en almacenamiento, acelerada y frente al estrés se creó al cargar 0,4 ml de FDS en viales de vidrio tipo 1 de 2 ml. El DP se incubó en varias condiciones de temperatura elevada, con relación a las condiciones de temperatura de almacenamiento. Estas condiciones aceleradas se seleccionaron para simular las condiciones a las que el DP puede someterse durante la fabricación y la manipulación para dilucidar las vías de degradación de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P. En la Tabla 12 se presenta un resumen de las condiciones de estabilidad en almacenamiento, aceleradas y frente al estrés del DP coformulado, y en la Tabla 13 se presentan los planes de análisis.

Tabla 12: Estudios de estabilidad en investigación del DP combinado de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P

Estabilidad en almacenamiento		Contenedor/Cierre
Temperatura de almacenamiento	Duración del almacenamiento (meses)	Vidrio de borosilicato tipo 1 con tapón de goma de butilo 4432/50 recubierto con FluroTec®
5 °C	0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24 y 36	
Estabilidad acelerada		
Condición de incubación	Duración de la incubación	
25 °C	0, 0,5, 1 y 3 meses	
45 °C	0, 7, 14 y 28 días	
Estabilidad frente al estrés		
Estrés	Duración del estrés	
Agitación (en vórtex)	0, 60 y 120 minutos	
Congelación/Descongelación ^a	0, 4 y 8 ciclos	

^aCongelado a -30 °C y descongelado a temperatura ambiente.

Tabla 13: Estudios de estabilidad en investigación, plan de análisis del DP combinado de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P

Ensayo	Muestras a analizar
Color y aspecto	Todas las muestras
pH	Todas las muestras
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)	Todas las muestras
% de H1H17203P, H1H17139P, H1H17161P total recuperado por RP-UPLC	Todas las muestras
Pureza total (H1H17203P, H1H17139P, H1H17161P) por MCE-SDS reductora y no reductora	t = 0, 6, 12, 24 y 36 meses a 5 °C; 6 meses a 25 °C; 28 días a 45 °C 120 min de agitación, Congelación/ Descongelación 8X
Pureza total (H1H17203P, H1H17139P, H1H17161P) por SE-UPLC	Todas las muestras
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	Todas las muestras
Análisis del material particulado por MFI	t = 0, 6, 12, 24 y 36 meses a 5 °C; 6 meses a 25 °C; 28 días a 45 °C 120 min de agitación, Congelación / Descongelación 8X
% de Potencia relativa de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P por bioensayo	t = 0, 6, 12, 24 y 36 meses a 5 °C; 6 meses a 25 °C; 28 días a 45 °C 120 min de agitación, Congelación / Descongelación 8X

Estabilidad en almacenamiento en investigación de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total)

Se muestran tres meses de datos de estabilidad en almacenamiento en investigación de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P. La coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P fue físicamente estable cuando se almacenó a 5 °C durante 3 meses. Se observó un aumento de 0,2 % en las especies de HMW totales por SE-UPLC cuando la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total) se almacenó a 5 °C durante 3 meses, y se observó un aumento de 0,6 en HMW totales por SE-UPLC después del almacenamiento a 5 °C durante 18 meses. No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total) en ninguno de los otros atributos monitoreados. H1H17203P,

H1H17139P y H1H17161P mantuvieron la potencia durante el intervalo de evaluación de 3 meses según lo determinado por análisis de bioensayo. Ver la Tabla 14.

Estabilidad acelerada en investigación de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total)

Los resultados del análisis de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P después de la incubación en condiciones aceleradas se proporcionan en 4. Después de la incubación durante 28 días a 45 °C, se observó un aumento de 1,3 % en la cantidad relativa de especies de HMW totales (SE-UPLC). Después de la incubación durante 28 días a 45 °C, se observó un aumento de 14,7 %, 14,4 % y 22,9 % en las especies variantes de carga ácidas de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (CEX-UPLC), respectivamente. Después de la incubación durante 3 meses a 25 °C, se observó un aumento del 2,6 %, 2,5 % y 5,6 % en las especies variantes de carga ácidas de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (CEX-UPLC), respectivamente. H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P mantuvieron la potencia, según lo determinado por análisis de bioensayo, después de la incubación en condiciones aceleradas. Los resultados de la prueba de estabilidad acelerada demostraron que un aumento en las cantidades relativas de especies de HMW totales, especies de LMW totales y la formación de variantes de carga ácidas de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P fueron las principales vías de degradación de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total). Ver la Tabla 15.

Estabilidad frente al estrés en investigación de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total)

Los resultados de los estudios de estabilidad frente al estrés de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P se proporcionan en la Tabla 16. La coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos o cuando se sometió a 8 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -30 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P mantuvieron la potencia cuando el DP se agitó durante

120 minutos o cuando se sometió a 8 ciclos de congelación/descongelación. Ver la Tabla 16.

Conclusiones sobre la estabilidad en investigación del producto farmacéutico H1H17203-3471-3479 coformulado

Los resultados de los estudios de estabilidad en almacenamiento, acelerada y frente al estrés indican que la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P será estable durante la fabricación (operaciones de carga/terminación y etiquetado). La formulación del DP combinado de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P puede soportar exposiciones cortas a temperatura ambiente sin comprometer la estabilidad física o química. El DP combinado de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P se almacenará a una temperatura de 2 °C a 8 °C, y la exposición a temperaturas mayores que 8 °C será limitada.

El almacenamiento a largo plazo de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a 2-8 °C se determinó durante 36 meses (Tabla 14). Se observaron aumentos de 0,7 % en cada una de las especies de HMW totales y las especies de LMW totales después del almacenamiento a 5 °C durante 36 meses. Se observaron cambios de 1,1 %, 1,2 % y 7,3 % en especies ácidas de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P, respectivamente. No se observó ningún cambio significativo en la potencia durante los 36 meses de duración del estudio, lo que indica que la formulación anti-EBOV proporcionó una estabilidad en almacenamiento a largo plazo aceptable en condiciones de refrigeración.

Tabla 14: Estabilidad en investigación del DP combinado de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total) almacenado a 5 °C

Número del estudio de estabilidad	H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P-SS002								
Número de lote	9018800002, 9019300002, 9019800002								
Número de lote de la formulación	L15-401								
Formulación	H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml, H1H17161P a 16,7 mg/ml, 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa								
Volumen de carga	0,4 ml								
Contenedor/Cierre	Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40								
Ensayo	Duración del almacenamiento (meses)								
	0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y aspecto	Apro-bado	Apro-bado	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	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
pH	6,1	6,1	6,1	6,1	6,0	6,1	6,0	6,1	6,1

Número del estudio de estabilidad			H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P-SS002								
Número de lote			9018800002, 9019300002, 9019800002								
Número de lote de la formulación			L15-401								
Formulación			H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml, H1H17161P a 16,7 mg/ml, 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa								
Volumen de carga			0,4 ml								
Contenedor/Cierre			Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40								
Ensayo			Duración del almacenamiento (meses)								
			0	1	3	6	9	12	18	24	36
% de Proteína total recuperada por RP-UPLC	H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P		100	101	104	104	103	103	101	103	102
Pureza total por MCE-SDS	No reductora; % (H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) principal		100	NR	NR	99,6	NR	99,7	NR	99,7	100,0
	Reductora; % (H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) de cadena pesada + % (H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) de cadena ligera		99,3	NR	NR	99,2	NR	99,2	NR	99,1	98,9
Pureza total por SE-UPLC	% de HMW totales		0,7	0,8	0,9	1,1	1,1	1,2	1,3	1,3	1,4
	% de Nativo total		98,2	98,0	98,0	97,8	97,6	97,2	97,3	96,9	96,8
	% de LMW totales		1,1	1,1	1,1	1,1	1,3	1,7	1,5	1,8	1,8
Variantes de carga por CEX-UPLC	H1H 1720 3P	% de Ácidas	37,3	37,2	36,6	36,0	36,9	37,1	37,9	38,2	38,4
		% de Principal	41,3	41,3	41,8	42,8	42,1	42,1	41,3	41,1	42,6
		% de Básicas	21,5	21,6	21,6	21,2	21,1	20,7	20,8	20,7	19,0
	H1H 1713 9P	% de Ácidas	43,2	43,1	42,9	40,7	41,9	42,5	44,2	44,5	42,0
		% de Principal	53,5	53,7	53,8	56,0	54,7	53,9	52,4	52,0	54,4
		% de Básicas	3,2	3,2	3,3	3,4	3,4	3,6	3,5	3,5	3,6
	H1H 1716 1P	% de Ácidas	50,3	50,5	48,3	50,5	52,4	50,9	54,3	55,2	57,6

Número del estudio de estabilidad	H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P-SS002										
Número de lote	9018800002, 9019300002, 9019800002										
Número de lote de la formulación	L15-401										
Formulación	H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml, H1H17161P a 16,7 mg/ml, 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa										
Volumen de carga	0,4 ml										
Contenedor/Cierre	Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40										
Ensayo	Duración del almacenamiento (meses)										
			0	1	3	6	9	12	18	24	36
		% de Principal	44,6	44,4	45,0	46,0	43,8	43,7	41,9	40,2	38,1
		% de Básicas	5,2	5,1	6,7	3,5	3,8	5,4	3,8	4,7	4,3
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	2-10 µm		16 393	NR	NR	7081	NR	1472	4337	4506	8719
	≥ 10 µm		55	NR	NR	626	NR	35	359	951	1212
	≥ 25 µm		3	NR	NR	120	NR	5	26	129	210
% de Potencia relativa (bioensayo)	Ensayo de neutralización viral		107	NR	80	80	NR	69	NR	72	86
	Ensayo de ADCC		112	NR	105	126	NR	125	NR	111	116

NR, no requerido.

Los resultados de los estudios acelerados se proporcionan a continuación en la Tabla 15. Después de la incubación durante 3 meses a 25 °C, se observó un aumento de 0,6 % en la cantidad relativa de especies de HMW totales y especies de LMW totales. Se observaron aumentos en las variantes de carga ácidas de 2,6 %, 2,5 % y 5,6 % para H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P, respectivamente. La coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P mantuvo la potencia después de la incubación en condiciones aceleradas. Después de la incubación durante 28 días a 45 °C, se observó un aumento de 1,3 % en la cantidad relativa de especies de HMW totales, mientras que el aumento de las especies de LMW totales fue de 1,9 %.

Los resultados de los estudios de estabilidad frente al estrés y acelerada de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P demostraron aumentos limitados en las cantidades relativas de especies de HMW totales, especies de LMW totales y variantes de carga ácidas de la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P de manera similar a las de las formulaciones individuales.

Tabla 15: Estabilidad en investigación del DP combinado de H1H17203P,

H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total) – Efecto de las condiciones aceleradas

Número del estudio de estabilidad		H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P-SS002						
Número de lote		9018800002, 9019300002, 9019800002						
Número de lote de la formulación		L15-401						
Formulación		H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml, H1H17161P a 16,7 mg/ml, 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa						
Volumen de carga		0,4 ml						
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40						
Ensayo		Condición de almacenamiento/Duración del almacenamiento						
		Sin almacenamiento	25 °C (meses)			45 °C (días)		
		0	0,5	1	3	7	14	28
Color y aspecto		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01
pH		6,1	6,0	6,1	6,1	6,0	6,1	6,1
% de Proteína total recuperada por RP-UPLC	H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P	100	100	101	104	99	98	101
Pureza total por MCE-SDS	No reductora; % (H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) principal	100	NR	NR	100	NR	NR	98,5
	Reductora; % (cadena pesada de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) + % (cadena ligera de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P)	99,3	NR	NR	98,8	NR	NR	98,0
Pureza total por SE-UPLC	% de HMW totales	0,7	1,0	1,1	1,3	1,1	1,4	2,0
	% de Nativo total	98,2	97,7	97,6	97,0	97,2	96,5	95,0
	% de LMW totales	1,1	1,3	1,3	1,7	1,7	2,2	3,0
Variantes de carga por CEX-UPLC	H1H17203P	% de Ácidas	37,3	37,5	38,0	39,9	40,2	43,7
		% de Principal	41,3	41,6	41,5	40,4	39,2	36,4
		% de Básicas	21,5	20,9	20,5	19,6	20,6	19,9
	H1H17139P	% de Ácidas	43,2	43,1	43,5	45,7	46,0	49,8
		% de Principal	53,5	53,4	53,0	50,3	49,9	45,6
		% de Básicas	3,2	3,5	3,5	4,0	4,0	4,4
	H1H17161P	% de Ácidas	50,3	51,7	53,2	55,9	56,2	61,5
		% de Principal	44,6	43,1	42,3	37,0	38,9	33,2
		% de Básicas	5,2	5,3	4,5	7,1	4,9	5,3
Análisis de partículas por MFI (partículas/ml)	2-10 µm	16 393	NR	NR	1785	NR	NR	1882
	≥ 10 µm	55	NR	NR	200	NR	NR	144
	≥ 25 µm	3	NR	NR	41	NR	NR	33
% de Potencia relativa por bioensayo	Ensayo de neutralización viral	107	NR	NR	86	NR	NR	75
	Ensayo de ADCC	112	NR	NR	116	NR	NR	123

NR, no requerido.

Los resultados de los estudios de estabilidad frente al estrés demostraron que la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P fue física y

químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos o cuando se sometió a ocho ciclos de congelación/descongelación (Tabla 16). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. La potencia se mantuvo cuando la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P se agitó o cuando se sometió a ciclos de congelación/descongelación.

Tabla 16: Estabilidad en investigación del DP combinado H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P (1:1:1, 50 mg/ml de proteína total) – Efecto de las condiciones de estrés

Número del estudio de estabilidad		H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P -SS002				
Número de lote		9018800002, 9019300002, 9019800002				
Número de lote de la formulación		L15-401				
Formulación		H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml, H1H17161P a 16,7 mg/ml, 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa				
Volumen de carga		0,4 ml				
Contenedor/Cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40				
Ensayo		Condición de estrés/Duración del estrés				
		Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
		0	60	120	4	8
Color y aspecto		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (Aumento de la DO a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		6,1	6,0	6,0	6,1	6,1
% de Proteína total recuperada por RP-UPLC	H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P	100	100	100	101	101

Número del estudio de estabilidad			H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P -SS002				
Número de lote			9018800002, 9019300002, 9019800002				
Número de lote de la formulación			L15-401				
Formulación			H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml, H1H17161P a 16,7 mg/ml, 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa				
Volumen de carga			0,4 ml				
Contenedor/Cierre			Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40				
Ensayo			Condición de estrés/Duración del estrés				
			Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
			0	60	120	4	8
Pureza total por MCE-SDS	No reductora; % de Nativo (H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P)		100	NR	99,7	NR	100
	Reductora; % (cadena pesada de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P) + % (cadena ligera de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P)		99,3	NR	99,1	NR	98,8
Pureza total por SE-UPLC	% de HMW totales		0,7	0,7	0,7	0,7	0,8
	% de Nativo total		98,2	98,1	98,1	98,2	98,1
	% de LMW totales		1,1	1,2	1,2	1,1	1,1
Variantes de carga por CEX-UPLC	H1H17203P	% de Ácidas	37,3	37,1	37,3	37,2	37,4
		% de Principal	41,3	41,3	41,2	41,2	41,0
		% de Básicas	21,5	21,6	21,5	21,6	21,6
	H1H17139P	% de Ácidas	43,2	43,1	43,4	43,3	43,5
		% de Principal	53,5	53,6	53,5	53,4	53,3
		% de Básicas	3,2	3,3	3,2	3,3	3,2

Número del estudio de estabilidad	H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P -SS002					
Número de lote	9018800002, 9019300002, 9019800002					
Número de lote de la formulación	L15-401					
Formulación	H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml, H1H17161P a 16,7 mg/ml, 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa					
Volumen de carga	0,4 ml					
Contenedor/Cierre	Vial de vidrio de borosilicato tipo I de 2 ml con tapón West S2-F451 4432/50 GRY B2-40					
Ensayo	Condición de estrés/Duración del estrés					
			Sin estrés	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)
			0	60	120	4 8
	H1H17161P	% de Ácidas	50,3	50,4	50,5	50,3 50,6
		% de Principal	44,6	44,6	44,3	44,5 44,2
		% de Básicas	5,2	5,0	5,2	5,2 5,2
% de Potencia relativa (bioensayo)	Ensayo de neutralización viral		107	NR	116	NR 94
	Ensayo de ADCC		112	NR	87	NR 127

NR, no requerido

Conclusiones

La coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P se fabrica como un DP líquido para administración IV. El DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P puede contener H1H17203P a 16,7 mg/ml, H1H17139P a 16,7 mg/ml y H1H17161P a 16,7 mg/ml formulados en una solución que contiene 10 mM de histidina, pH 6,0, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80 y 10 % (p/v) de sacarosa. En base a los resultados de los estudios en la presente descripción:

La coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P es estable cuando se almacena a 2-8 °C durante al menos 3 meses.

Las principales vías de degradación identificadas en condiciones aceleradas fueron la formación de especies de HMW y LMW y variantes de carga ácidas.

Ejemplo 6: Efecto de diferentes amortiguadores y pH

El efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad térmica de los tres anticuerpos anti-EBOV se examinó en formulaciones líquidas mediante la incubación de 100 mg/ml de anticuerpo total a 45 °C durante 28 días en una serie de sistemas amortiguadores a intervalos de pH variables. Se estudiaron los siguientes sistemas amortiguadores y pH: citrato (pH 5,2, 6,0, 6,8) e histidina (pH 5,2, 6,0, 6,8). En base a los resultados del análisis SE-UPLC, se observó la máxima estabilidad de la proteína cuando los anticuerpos se formularon a pH 6,0 en amortiguador de histidina (Tablas 17-20 y 22-25). La presencia de partículas subvisibles se determinó en la formulación de tres anticuerpos mediante el uso de imágenes de microfluidos (MFI) (Tabla 21).

Tabla 17: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de H1H17203P a 100 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días – Resultados visuales, DO, pH, SE-UPLC y RP-UPLC

Amortiguador/ pH	Días	Visual	DO @ 405 nm	Δ DO	pH	% de HMW	% de Nativo	% LMW	Conc. de proteína (mg/ml)	% de Recuperación
10 mM de histidina pH 5,2	t=0	aprobado	0,085	0,00	5,4	1,0	97,8	1,2	31,8	100,0
	7	aprobado	0,084	0,00	5,4	2,2	96,0	1,8	32,3	101,7
	14	aprobado	0,089	0,00	5,4	3,2	94,2	2,6	31,9	100,4
	21	aprobado	0,089	0,00	5,4	4,9	92,2	2,9	32,3	101,7
	28	aprobado	0,091	0,01	5,5	6,0	90,6	3,4	32,5	102,1
10 mM de histidina pH 6,0	t=0	aprobado	0,088	0,00	6,1	1,3	97,6	1,1	33,3	100,0
	7	aprobado	0,087	0,00	6,1	1,3	97,0	1,7	33,9	101,9
	14	aprobado	0,090	0,00	6,1	1,6	96,0	2,3	33,3	100,2
	21	aprobado	0,093	0,01	6,1	2,2	95,3	2,5	33,9	101,8
	28	aprobado	0,094	0,01	6,1	2,7	94,4	3,0	34,0	102,1
10 mM de histidina pH 6,8	t=0	aprobado	0,087	0,00	7,0	1,7	97,1	1,2	33,0	100,0
	7	aprobado	0,088	0,00	7,0	1,7	96,6	1,7	33,7	102,0
	14	aprobado	0,089	0,00	7,0	2,2	95,5	2,4	33,0	100,0
	21	aprobado	0,092	0,01	7,0	2,8	94,6	2,6	33,3	100,9
	28	aprobado	0,095	0,01	7,1	3,4	93,4	3,1	33,6	101,8
10 mM de	t=0	aprobado	0,101	0,00	5,3	1,6	97,2	1,2	32,8	100,0

citrato pH 5,2	7	apro- bado	0,15 4	0,0 5	5, 3	16,2	82,1	1,8	33,4	101,6
	14	apro- bado	0,34 7	0,2 5	5, 3	30,1	67,7	2,3	32,5	99,1
	21	apro- bado	1,32 0	1,2 2	5, 3	32,2	64,7	3,1	23,3	71,0
	28	apro- bado	2,33 2	2,2 3	5, 3	NF	NF	NF	NF	NF
10 mM de citrato pH 6,0	t=0	apro- bado	0,10 2	0,0 0	6, 1	1,9	97,0	1,2	31,1	100,0
	7	apro- bado	0,10 3	0,0 0	6, 1	3,0	95,3	1,7	31,2	100,4
	14	apro- bado	0,10 6	0,0 0	6, 1	4,4	93,4	2,2	30,8	99,1
	21	apro- bado	0,11 8	0,0 2	6, 1	6,3	91,3	2,4	31,6	101,6
	28	apro- bado	0,13 1	0,0 3	6, 1	7,7	89,4	2,9	31,7	101,9
10 mM de citrato pH 6,8	t=0	apro- bado	0,10 3	0,0 0	6, 8	2,6	96,3	1,2	32,1	100,0
	7	apro- bado	0,10 5	0,0 0	6, 9	3,3	95,0	1,7	32,1	100,0
	14	apro- bado	0,10 9	0,0 1	6, 8	4,4	93,3	2,3	31,9	99,5
	21	apro- bado	0,11 7	0,0 1	6, 9	5,8	91,7	2,5	32,5	101,4
	28	apro- bado	0,12 3	0,0 2	6, 9	7,1	90,0	3,0	32,7	102,1

Las muestras de 10 mM de citrato, pH 5,2, 28d no se procesaron en instrumentos de UPLC debido a fallos visuales

Tabla 18: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de H1H17139P a 100 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días – Resultados visuales, DO, pH, SE-UPLC y RP-UPLC

Amorti- guador/ pH	Días	Visual	DO @ 405 nm	Δ DO	pH	% de HMW	% de Nativo	% LMW	Conc. de proteína (mg/ml)	% de Recupe- ración
10 mM de histidina pH 5,2	t=0	apro- bado	0,085	0,00	5,4	0,8	97,8	1,4	33,4	100,0
	7	apro- bado	0,083	0,00	5,4	0,6	97,3	2,1	33,7	100,9
	14	apro- bado	0,085	0,00	5,4	0,7	96,5	2,8	33,8	101,0
	21	apro- bado	0,085	0,00	5,4	0,8	96,1	3,1	33,8	101,1
	28	apro- bado	0,088	0,00	5,4	0,9	95,4	3,7	33,9	101,4
10 mM de histidina pH 6,0	t=0	apro- bado	0,087	0,00	6,1	1,1	97,5	1,4	33,9	100,0
	7	apro- bado	0,085	0,00	6,1	0,8	97,3	1,9	34,1	100,6
	14	apro- bado	0,088	0,00	6,1	0,9	96,7	2,5	34,3	101,0
	21	apro- bado	0,091	0,00	6,1	1,0	96,3	2,7	34,5	101,6

	28	apro- bado	0,091	0,00	6,2	1,1	95,8	3,2	34,5	101,6
10 mM de histidina pH 6,8	t=0	apro- bado	0,085	0,00	6,9	1,4	97,3	1,4	32,6	100,0
	7	apro- bado	0,085	0,00	6,9	1,1	96,9	2,0	32,9	100,8
	14	apro- bado	0,088	0,00	6,9	1,3	96,2	2,5	32,8	100,7
	21	apro- bado	0,090	0,01	7,0	1,4	95,8	2,8	32,9	101,0
	28	apro- bado	0,091	0,01	7,0	1,6	95,0	3,4	32,8	100,8
10 mM de citrato pH 5,2	t=0	apro- bado	0,093	0,00	5,3	1,1	97,5	1,4	32,1	100,0
	7	apro- bado	0,093	0,00	5,3	1,2	96,7	2,2	32,5	101,2
	14	apro- bado	0,095	0,00	5,3	1,4	95,5	3,0	32,5	101,0
	21	apro- bado	0,097	0,00	5,2	1,8	94,8	3,4	32,4	100,7
	28	apro- bado	0,097	0,00	5,3	2,1	93,9	4,1	32,5	101,1
10 mM de citrato pH 6,0	t=0	apro- bado	0,096	0,00	6,1	1,6	97,1	1,4	31,2	100,0
	7	apro- bado	0,094	0,00	6,1	1,5	96,5	1,9	31,4	100,7
	14	apro- bado	0,096	0,00	6,0	1,8	95,7	2,5	31,1	99,9
	21	apro- bado	0,097	0,00	6,1	2,0	95,3	2,7	31,3	100,4
	28	apro- bado	0,098	0,00	6,1	2,2	94,6	3,2	31,6	101,3
10 mM de citrato pH 6,8	t=0	apro- bado	0,099	0,00	6,8	2,2	96,4	1,3	31,9	100,0
	7	apro- bado	0,097	0,00	6,8	2,1	95,9	2,0	32,2	100,7
	14	apro- bado	0,099	0,00	6,8	2,4	95,1	2,5	32,0	100,4
	21	apro- bado	0,102	0,00	6,8	2,6	94,7	2,8	31,9	100,0
	28	apro- bado	0,101	0,00	6,9	2,8	93,9	3,3	32,2	100,9

Tabla 19: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de H1H17161P a 100 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días – Resultados visuales, DO, pH, SE-UPLC y RP-UPLC

Amorti- guador/pH	Días	Visual	DO @ 405 nm	Δ DO	pH	% de HMW	% de Nativo	% LMW	Conc. de proteína (mg/ml)	% de Recupe- ración
10 mM de histidina pH 5,2	t=0	apro- bado	0,104	0,00	5,3	1,9	96,6	1,5	31,1	100 %
	7	apro- bado	0,100	0,00	5,4	1,4	96,4	2,3	31,3	101 %
	14	apro- bado	0,102	0,00	5,4	1,4	95,7	2,9	31,1	100 %

	21	aprobado	0,103	0,00	5,4	1,5	95,3	3,2	31,2	100 %
	28	aprobado	0,108	0,00	5,5	1,5	94,7	3,8	31,3	101 %
10 mM de histidina pH 6,0	t=0	aprobado	0,107	0,00	6,1	2,3	96,3	1,5	32,1	100 %
	7	aprobado	0,106	0,00	6,1	1,7	96,3	2,1	32,6	102 %
	14	aprobado	0,112	0,01	6,1	1,7	95,6	2,7	32,1	100 %
	21	aprobado	0,106	0,00	6,2	1,8	95,4	2,8	32,4	101 %
	28	aprobado	0,108	0,00	6,2	1,9	94,9	3,3	32,6	101 %
10 mM de histidina pH 6,8	t=0	aprobado	0,106	0,00	7,0	2,8	95,8	1,5	31,1	100 %
	7	aprobado	0,108	0,00	7,0	2,2	95,7	2,1	31,4	101 %
	14	aprobado	0,109	0,00	7,0	2,4	94,8	2,7	31,0	100 %
	21	aprobado	0,109	0,00	7,0	2,6	94,5	2,9	31,4	101 %
	28	aprobado	0,108	0,00	7,1	2,8	93,7	3,5	31,4	101 %
10 mM de citrato pH 5,2	t=0	aprobado	0,112	0,00	5,2	2,2	96,3	1,5	30,0	100 %
	7	aprobado	0,117	0,01	5,2	1,9	95,7	2,4	30,3	101 %
	14	aprobado	0,111	0,00	5,2	2,2	94,6	3,3	30,2	101 %
	21	aprobado	0,110	0,00	5,3	2,4	94,0	3,6	30,2	101 %
	28	aprobado	0,110	0,00	5,2	2,6	93,1	4,3	30,3	101 %
10 mM de citrato pH 6,0	t=0	aprobado	0,120	0,00	6,0	3,1	95,5	1,5	31,6	100 %
	7	aprobado	0,122	0,00	6,0	2,8	95,1	2,1	31,9	101 %
	14	aprobado	0,119	0,00	6,0	3,1	94,3	2,6	31,9	101 %
	21	aprobado	0,118	0,00	6,0	3,3	93,9	2,8	32,0	101 %
	28	aprobado	0,116	0,00	6,0	3,6	93,2	3,3	31,9	101 %
10 mM de citrato pH 6,8	t=0	aprobado	0,123	0,00	6,8	4,0	94,6	1,5	31,9	100 %
	7	aprobado	0,123	0,00	6,9	3,8	94,1	2,1	32,3	102 %
	14	aprobado	0,125	0,00	6,8	4,3	93,1	2,7	31,9	100 %
	21	aprobado	0,123	0,00	6,9	4,6	92,5	2,9	32,2	101 %
	28	aprobado	0,121	0,00	6,9	4,9	91,6	3,4	32,1	101 %

Tabla 20: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de la combinación de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P total a 100 mg/ml incubada a 45 °C durante 28 días – Resultados visuales, DO, pH, SE-UPLC y RP-UPLC

Amorti- guador/pH	Días	Visual	DO @ 405 nm	Δ DO	pH	% de HMW	% de Nativo	% LMW	Conc. de proteína (mg/ml)	% de Recupe- ración
10 mM de histidina pH 5,2	t=0	apro- bado	0,168	0,00	5,5	1,3	97,3	1,4	95,2	100 %
	7	apro- bado	0,168	0,00	5,5	2,3	95,7	2	94,1	99 %
	14	apro- bado	0,175	0,01	5,5	3,2	94,0	2,8	93,2	98 %
	21	apro- bado	0,176	0,01	5,5	4,2	92,9	2,9	94,7	99 %
	28	apro- bado	0,181	0,01	5,6	4,8	91,9	3,4	94,9	100 %
10 mM de histidina pH 6,0	t=0	apro- bado	0,177	0,00	6,2	1,7	97,0	1,4	98,2	100 %
	7	apro- bado	0,177	0,00	6,3	2,3	95,8	1,9	96,9	99 %
	14	apro- bado	0,183	0,01	6,2	2,9	94,6	2,5	94,4	96 %
	21	apro- bado	0,190	0,01	6,3	3,4	94	2,6	95,6	97 %
	28	apro- bado	0,193	0,02	6,3	3,8	93,2	3	97,8	100 %
10 mM de histidina pH 6,8	t=0	apro- bado	0,180	0,00	7,1	2,1	96,4	1,6	95,9	100 %
	7	apro- bado	0,186	0,01	7,2	3,3	94,8	1,9	95,2	99 %
	14	apro- bado	0,194	0,01	7,1	4,1	93,3	2,6	92,6	97 %
	21	apro- bado	0,196	0,02	7,1	4,8	92,4	2,7	92,9	97 %
	28	apro- bado	0,199	0,02	7,1	5,4	91,3	3,3	95,7	100 %
10 mM de citrato pH 5,2	t=0	apro- bado	0,189	0,00	5,4	1,7	96,9	1,3	94,7	100 %
	7	apro- bado	0,219	0,03	5,4	7,6	90,4	2	94,2	99 %
	14	apro- bado	0,362	0,17	5,4	14	83,3	2,7	91,1	96 %
	21	fallo	0,737	0,55	5,4	17,7	79,3	2,9	92,9	98 %
	28	apro- bado	1,267	1,08	5,4	NA	NA	NA	NA	NA
10 mM de citrato pH 6,0	t=0	apro- bado	0,201	0,00	6,2	2,3	96,4	1,3	93,3	100 %
	7	apro- bado	0,201	0,00	6,2	3,6	94,6	1,9	93,0	100 %
	14	apro- bado	0,208	0,01	6,2	4,7	92,9	2,5	92,8	99 %
	21	apro- bado	0,220	0,02	6,2	5,7	91,8	2,5	92,6	99 %
	28	apro- bado	0,226	0,03	6,2	6,6	90,4	3	94,5	101 %

10 mM de citrato pH 6,8	t=0	aprobado	0,212	0,00	6,9	3	95,7	1,3	96,1	100 %
	7	aprobado	0,213	0,00	6,9	4,4	93,7	1,9	95,7	100 %
	14	aprobado	0,225	0,01	6,9	5,6	91,8	2,6	95,5	99 %
	21	aprobado	0,224	0,01	6,9	6,5	90,9	2,6	95,7	100 %
	28	aprobado	0,234	0,02	6,9	7,4	89,5	3,2	96,4	100 %

Tabla 21: Resultados de MFI para la formulación combinada de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P total

	2-10 μ m	≥ 2 μ m	≥ 10 μ m	≥ 25 μ m
Muestra	Conc.(#/ml)	Conc.(#/ml)	Conc.(#/ml)	Conc.(#/ml)
10 mM de histidina pH 5,2 t=0	468	507	40	2
10 mM de histidina pH 6,0 t=0	557	570	13	0
10 mM de histidina pH 6,8 t=0	607	641	33	6
10 mM de citrato pH 5,2 t=0	973	1017	44	6
10 mM de citrato pH 6,0 t=0	741	770	29	10
10 mM de citrato pH 6,8 t=0	710	802	92	21
10 mM de histidina pH 5,2 t=28d a 45 C	1380	1439	58	2
10 mM de histidina pH 6,0 t=28d a 45 C	1396	1463	67	8
10 mM de histidina pH 6,8 t=28d a 45 C	1959	2024	65	6
10 mM de citrato pH 5,2 t=28d a 45 C	50 767	57 378	6611	582
10 mM de citrato pH 6,0 t=28d a 45 C	1326	1359	33	0
10 mM de citrato	1508	1600	92	10

pH 6,8 t=28d a 45 C				
------------------------	--	--	--	--

En base a los resultados del análisis CEX-UPLC, se observó la máxima estabilidad de la proteína cuando los anticuerpos se formularon entre pH 5,2 y 6,8 en amortiguador de histidina o entre pH 5,2 y 6,8 en amortiguador de acetato. Estos análisis también revelaron que la agregación (es decir, la formación de especies de HMW), la fragmentación (es decir, la formación de especies de LMW) y la formación de variantes de carga fueron las principales vías de degradación. Se seleccionó el amortiguador de histidina como amortiguador de formulación porque proporcionó el mejor nivel general de estabilización de proteínas con respecto a la formación de especies de HMW y LMW y la formación de variantes de carga. Se eligió un pH de 6,0 para la formulación porque la formación de especies de HMW y variantes de carga, que son las principales vías de degradación, se minimizaron a este pH. En base a estos resultados, se eligió el amortiguador de histidina 10 mM a pH 6,0 para las formulaciones anti-EBOV individuales y combinadas. Ver las Tablas 22-25.

Tabla 22: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de H1H17203P a 100 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días – Resultados de CEX-UPLC

Formulación	Estrés	Días	H1H17203P		
			% de Ácidas	% de Principal	% de Básicas
10 mM de histidina pH 5,2	45 °C				
		0	34,7	52,2	13,1
		7	37,1	45,8	17,1
		14	41,9	39,9	18,2
		21	45,4	35,1	19,5
		28	48,9	32,4	18,7
10 mM de histidina pH 6,0	45 °C	0	35,2	51,9	12,9
		7	39,2	49,3	11,6
		14	45,0	44,4	10,6
		21	49,9	39,9	10,1
		28	54,0	36,3	9,8
10 mM de histidina pH 6,8	45 °C	0	35,6	51,5	13,0
		7	44,2	47,1	8,8
		14	53,3	40,1	6,7
		21	60,2	33,9	6,0
		28	65,6	29,0	5,5
10 mM de citrato	45 °C	0	34,5	52,4	13,2
		7	37,3	40,7	22,0

pH 5,2		14	33,4	25,6	41,1
		21	47,7	27,3	25,1
		28	NF	NF	NF
10 mM de citrato pH 6,0	45 °C	0	34,8	52,0	13,2
		7	41,7	49,9	8,5
		14	48,5	43,0	8,5
		21	53,7	37,5	8,8
		28	58,1	33,2	8,7
10 mM de citrato pH 6,8	45 °C	0	34,8	51,6	13,6
		7	44,0	48,5	7,5
		14	52,3	41,0	6,7
		21	58,6	34,6	6,7
		28	63,6	29,9	6,6

Las muestras en citrato, pH 5,2, 28d no se procesaron en instrumentos de UPLC debido a fallos visuales

Tabla 23: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de H1H17139P a 100 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días – Resultados de CEX-UPLC

Formulación	Estrés	Días	H1H17139P		
10 mM de histidina pH 5,2	45 °C		% de Ácidas	% de Principal	% de Básicas
		0	36,9	58,8	4,3
		7	40,8	53,3	5,9
		14	51,6	44,0	4,5
		21	51,6	41,4	7,1
		28	55,6	37,3	7,1
10 mM de histidina pH 6,0	45 °C	0	37,3	58,5	4,3
		7	40,9	54,2	4,8
		14	48,6	46,3	5,1
		21	50,9	44,5	4,7
		28	55,2	40,4	4,4
10 mM de histidina pH 6,8	45 °C	0	37,5	58,2	4,3
		7	44,8	51,3	4,0
		14	51,2	41,8	7,0
		21	58,9	38,0	3,1
		28	64,4	32,9	2,8
10 mM de citrato pH 5,2	45 °C	0	36,8	58,7	4,5
		7	44,0	49,3	6,7
		14	52,5	44,0	3,5
		21	57,7	35,3	7,0
		28	62,6	30,7	6,8
10 mM de citrato	45 °C	0	36,7	58,6	4,6
		7	41,8	52,8	5,4

pH 6,0		14	46,2	49,0	4,8
		21	53,9	41,2	4,9
		28	58,7	36,8	4,5
10 mM de citrato pH 6,8	45 °C	0	36,8	58,2	5,1
		7	43,9	51,2	4,9
		14	46,4	47,0	6,6
		21	57,7	38,1	4,1
		28	63,0	33,3	3,7

Tabla 24: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de H1H17161P a 100 mg/ml incubado a 45 °C durante 28 días – Resultados de CEX-UPLC

Formulación	Estrés	Días	H1H17161P		
10 mM de histidina pH 5,2	45 °C		% de Ácidas	% de Principal	% de Básicas
		0	52,0	42,0	6,0
		7	59,4	35,4	5,2
		14	72,8	22,4	4,9
		21	73,0	21,7	5,3
		28	73,1	21,3	5,7
10 mM de histidina pH 6,0	45 °C	0	52,0	42,2	5,9
		7	59,4	36,1	4,5
		14	72,1	23,7	4,2
		21	75,7	20,1	4,2
		28	74,8	20,9	4,3
10 mM de histidina pH 6,8	45 °C	0	52,1	41,9	6,0
		7	65,2	30,2	4,5
		14	78,5	17,5	4,0
		21	83,2	13,1	3,7
		28	84,6	11,8	3,7
10 mM de citrato pH 5,2	45 °C	0	51,7	42,4	5,9
		7	69,2	25,5	5,3
		14	71,2	23,0	5,9
		21	81,4	13,4	5,2
		28	78,7	15,5	5,8
10 mM de citrato pH 6,0	45 °C	0	51,5	42,3	6,1
		7	58,8	35,9	5,3
		14	69,8	24,9	5,3
		21	78,6	16,4	5,0
		28	74,6	19,9	5,5
10 mM de citrato pH 6,8	45 °C	0	52,2	41,3	6,4
		7	63,2	31,8	5,0
		14	74,5	19,8	5,7
		21	85,3	9,7	5,0

		28	80,2	13,8	6,0
--	--	----	------	------	-----

Tabla 25: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de la combinación de H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P total a 100 mg/ml incubada a 45 °C durante 28 días – Resultados de CEX-UPLC

Formu- lación	Días	H1H17139P			H1H17203P			H1H17161P		
		% de Áci- das	% de Princi- pal	% de Bási- cas	% de Áci- das	% de Princi- pal	% de Bási- cas	% de Áci- das	% de Princi- pal	% de Bási- cas
10 mM de histidina pH 5,2	0	36,2	61,1	2,6	31,5	47,1	21,4	41,7	54,3	4,0
	7	41,5	54,2	4,4	38,3	45,6	16,1	55,2	39,1	5,7
	14	47,1	47,8	5,2	42,0	39,5	18,5	65,1	28,8	6,1
	21	51,9	42,5	5,6	45,2	34,9	19,9	70,4	23,4	6,2
	28	55,8	38,5	5,7	47,6	32,0	20,4	67,6	25,0	7,3
10 mM de histidina pH 6,0	0	36,6	60,8	2,6	31,9	46,8	21,2	44,0	51,4	4,5
	7	41,5	54,7	3,7	38,8	47,2	14,0	56,5	38,7	4,8
	14	46,7	49,2	4,1	43,0	41,7	15,3	69,3	25,8	4,9
	21	51,7	44,2	4,1	46,8	37,1	16,1	73,3	21,9	4,8
	28	55,1	40,5	4,3	49,5	34,0	16,5	70,7	24,5	4,8
10 mM de histidina pH 6,8	0	37,1	60,4	2,5	32,4	46,2	21,4	42,7	52,8	4,5
	7	46,5	50,9	2,6	43,3	43,2	13,6	63,0	31,8	5,2
	14	54,9	42,6	2,5	50,0	34,8	15,2	76,7	18,5	4,8
	21	61,7	36,0	2,3	57,8	30,0	12,2	89,1	7,3	3,6
	28	65,9	31,9	2,2	57,2	25,3	17,4	83,2	12,5	4,4
10 mM de citrato pH 5,2	0	36,2	61,0	2,8	31,9	47,4	20,7	42,9	52,6	4,6
	7	43,8	51,7	4,5	40,1	43,8	16,1	55,9	37,9	6,2
	14	50,9	43,8	5,2	44,7	35,9	19,4	77,0	15,8	7,2
	21	57,1	37,5	5,5	54,0	34,0	12,0	82,8	11,8	5,4
	28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10 mM de citrato pH 6,0	0	36,4	60,9	2,6	37,1	54,6	8,3	53,0	43,3	3,7
	7	42,0	54,2	3,8	39,4	46,9	13,8	54,3	40,0	5,7
	14	47,9	48,0	4,1	44,0	40,8	15,2	60,3	34,0	5,6
	21	53,2	42,3	4,5	52,1	38,6	9,3	81,5	14,0	4,5

	28	57,7	38,6	3,7	50,8	31,3	17,9	69,1	24,9	6,0
10 mM de citrato pH 6,8	0	37,2	60,0	2,8	37,4	53,3	9,3	52,8	42,0	5,3
	7	44,3	52,9	2,8	41,8	45,4	12,8	57,8	36,2	6,0
	14	51,8	45,5	2,7	47,5	38,2	14,3	66,0	27,5	6,5
	21	58,0	39,5	2,5	54,5	33,8	11,7	78,7	16,6	4,7
	28	62,6	35,0	2,4	55,4	28,4	16,3	76,1	17,6	6,2

Ejemplo 7: Selección del estabilizador en condiciones de estrés

A partir del Ejemplo 6, se identificó la L-histidina a pH 6,0 y 10 mM como el sistema amortiguador óptimo para los anticuerpos formulados individualmente y la coformulación de 3 anticuerpos a 100 mg/ml. En este ejemplo se evaluaron excipientes adicionales tales como estabilizadores térmicos, surfactantes y antioxidantes para determinar los efectos sobre la degradación forzada y la estabilidad. Los estabilizadores tales como sacarosa, surfactantes, prolina o metionina a menudo se añaden a formulaciones de anticuerpos para aumentar la estabilidad térmica de la proteína en formulaciones líquidas. Los anticuerpos anti-EBOV formulados por separado o en combinación en una formulación líquida exhibieron mejor estabilidad en condiciones aceleradas cuando se formularon con 5 % p/v de sacarosa y 0,1 % p/v de polisorbato 80 o 0,1 % de polisorbato 20 y mostraron resultados de estabilidad comparables bajo estrés por vórtex. (Tablas 27-32). La Tabla 26 proporciona las variables de excipientes y las formulaciones respectivas para las Tablas 16-21. Las formulaciones base contienen anticuerpo anti-EBOV a 33,3 mg/ml, 5 % p/v de sacarosa y 10 mM de histidina.

Tabla 26: Excipientes analizados y componentes de formulación

Formulaciones	pH del amortiguador	% P/V de sacarosa adicional	% P/V de Surfactante PS20	% P/V de Surfactante PS80	Arginina, mM	Prolina, mM	Metionina, mM
F1	10 mM de L-histidina pH 6,0	0,0 %	0,00 %	0,00 %	0	0	0
F2	10 mM de L-histidina pH 6,0	5,0 %	0,10 %	0,00 %	0	0	20
F3	10 mM de L-histidina pH 6,0	5,0 %	0,00 %	0,00 %	0	0	0

Formula- ciones	pH del amortiguador	% P/V de sacaro- sa adiciona l	% P/V de Surfactan- te PS20	% P/V de Surfactan- te PS80	Arginina , mM	Prolina , mM	Metio- nina, mM
F4	10 mM de L- histidina pH 6,0	0,0 %	0,00 %	0,10 %	0	0	20
F5	10 mM de L- histidina pH 6,0	5,0 %	0,10 %	0,00 %	100	0	0
F6	10 mM de L- histidina pH 6,0	0,0 %	0,10 %	0,00 %	100	0	20
F7	10 mM de L- histidina pH 6,0	0,0 %	0,00 %	0,10 %	100	0	0
F8	10 mM de L- histidina pH 6,0	5,0 %	0,00 %	0,00 %	100	0	20
F9	10 mM de L- histidina pH 6,0	5,0 %	0,00 %	0,10 %	0	200	0
F10	10 mM de L- histidina pH 6,0	0,0 %	0,10 %	0,00 %	0	200	0
F11	10 mM de L- histidina pH 6,0	0,0 %	0,00 %	0,00 %	0	200	20
F12	10 mM de L- histidina pH 6,0	5,0 %	0,00 %	0,10 %	0	200	20

Tabla 27: Efecto de los excipientes sobre la estabilidad del anticuerpo H1H17203P a 33 mg/ml incubado a 40 °C durante un máximo de dos meses - Visual, DO, pH, SE-UPLC, concentración por RP-UPLC, CEX-UPLC

Formu- lación	Muestra	Vi- sual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nati- vo	% de LMW	Con, mg/ml	% de Áci- das	% de Prin- cipal	% de Bási- cas
F1	t=0	0	0,087	6,1	1,0	98,1	0,9	34,9	33,57	54,25	12,19
	VTX 120 minutos	0	0,086	6,1	1,0	98,1	0,9	34,7	33,44	54,28	12,26
	8 ciclos de C/D	0	0,090	6,1	1,0	98,2	0,9	33,4	33,47	54,5	12,03
	40 °C 8 días	0	0,087	6,2	0,9	97,9	1,3	33,4	35,36	53,43	11,22
	40 °C 14 días	0	0,088	6,0	0,9	97,6	1,5	33,3	37,3	51,88	10,81
	40 °C 28 días	0	0,092	6,1	1,0	97,1	1,9	33,8	43,52	46,39	10,09
	40 °C 2 meses	0	0,093	6,1	1,3	95,6	3,1	34,5	53,22	37,88	8,9
F2	t=0	0	0,089	6,1	0,9	98,2	0,9	34,6	33,56	54,22	12,21
	VTX 120 minutos	0	0,091	6,1	0,9	98,2	0,9	34,3	33,46	54,33	12,21

	8 ciclos de C/D	0	0,089	6,0	0,9	98,2	0,9	33,6	33,49	54,43	12,08
	40 °C 8 días	0	0,089	6,1	0,8	98,0	1,2	33,7	35,19	53,66	11,16
	40 °C 14 días	0	0,090	6,0	0,8	97,7	1,5	33,7	37,14	52,06	10,8
	40 °C 28 días	0	0,091	6,1	0,9	97,1	1,9	33,7	43,38	46,39	10,23
	40 °C 2 meses	0	0,094	6,0	1,2	95,7	3,1	34,6	52,95	38,02	9,03
F3	t=0	0	0,087	6,1	0,9	98,2	0,9	33,9	33,46	54,56	11,97
	VTX 120 minutos	0	0,086	6,1	1,0	98,1	0,9	33,8	33,38	54,63	12
	8 ciclos de C/D	0	0,091	6,0	0,9	98,2	0,9	33,0	33,41	54,5	12,08
	40 °C 8 días	0	0,087	6,1	0,8	98,0	1,2	32,9	35,15	53,59	11,27
	40 °C 14 días	0	0,087	6,0	0,8	97,8	1,4	32,7	37,07	52,09	10,84
	40 °C 28 días	0	0,089	6,1	0,9	97,2	1,9	33,1	43,25	46,52	10,22
	40 °C 2 meses	0	0,092	6,1	1,2	95,8	3,1	34,0	52,67	38,19	9,14
F4	t=0	0	0,088	6,1	0,9	98,2	0,9	33,6	33,57	54,61	11,82
	VTX 120 minutos	0	0,089	6,1	0,9	98,2	1,0	33,4	33,45	54,55	12,01
	8 ciclos de C/D	0	0,089	6,0	0,9	98,2	0,9	32,9	33,43	54,4	12,18
	40 °C 8 días	0	0,089	6,1	0,8	98,0	1,2	32,6	35,29	53,64	11,06
	40 °C 14 días	0	0,088	6,1	0,8	97,7	1,5	32,6	37,35	52,02	10,63
	40 °C 28 días	0	0,090	6,1	0,9	97,1	1,9	33,1	43,71	46,4	9,88
	40 °C 2 meses	0	0,094	6,1	1,2	95,7	3,1	34,4	53,4	37,85	8,76
F5	t=0	0	0,098	6,1	0,9	98,2	0,9	33,3	33,23	54,61	12,16
	VTX 120 minutos	0	0,098	6,1	0,9	98,2	0,9	33,4	33,01	54,87	12,13
	8 ciclos de C/D	0	0,099	6,1	0,9	98,2	0,9	33,0	33,12	54,53	12,36
	40 °C 8 días	0	0,098	6,1	0,8	98,0	1,2	32,9	33,5	54,31	12,21
	40 °C 14 días	0	0,098	6,1	0,9	97,6	1,5	33,0	34,66	53,21	12,13
	40 °C 28 días	0	0,100	6,1	1,2	96,9	2,0	33,1	40,01	48,03	11,95
	40 °C 2 meses	0	0,101	6,1	1,8	95,1	3,1	34,2	48,34	41,07	10,59
F6	t=0	0	0,098	6,1	0,9	98,2	0,9	32,6	33,21	54,7	12,08
	VTX 120 minutos	0	0,098	6,1	0,8	98,2	0,9	32,5	33,15	54,67	12,18
	8 ciclos de C/D	0	0,100	6,1	0,9	98,2	0,9	32,0	33,23	54,5	12,27
	40 °C 8 días	0	0,099	6,1	0,9	97,9	1,2	31,8	33,61	54,42	11,97
	40 °C 14 días	0	0,097	6,1	1,0	97,6	1,5	32,0	34,91	53,31	11,77
	40 °C 28 días	0	0,099	6,1	1,3	96,8	2,0	32,1	40,39	48,17	11,45
	40 °C 2 meses	0	0,100	6,1	2,0	95,0	3,1	33,1	48,96	41,05	9,99
F7	t=0	0	0,099	6,1	0,9	98,1	1,0	33,1	33,3	54,63	12,07

	VTX 120 minutos	0	0,102	6,1	0,9	98,2	1,0	33,3	33,13	54,53	12,33
	8 ciclos de C/D	0	0,100	6,1	0,9	98,2	1,0	33,0	33,27	54,49	12,23
	40 °C 8 días	0	0,099	6,1	0,9	97,9	1,3	33,1	33,64	54,23	12,13
	40 °C 14 días	0	0,098	6,1	0,9	97,6	1,5	32,7	35,05	52,89	12,06
	40 °C 28 días	0	0,100	6,1	1,2	96,9	1,9	32,9	40,34	48,1	11,57
	40 °C 2 meses	0	0,103	6,1	1,8	95,1	3,1	33,9	48,94	40,76	10,29
F8	t=0	0	0,097	6,1	0,9	98,2	0,9	34,4	33,36	54,61	12,03
	VTX 120 minutos	0	0,101	6,1	1,0	98,1	0,9	34,0	33,09	54,58	12,34
	8 ciclos de C/D	0	0,098	6,1	0,9	98,2	0,9	33,5	33,21	54,47	12,33
	40 °C 8 días	0	0,097	6,1	0,8	98,0	1,3	33,5	33,52	54,38	12,1
	40 °C 14 días	0	0,098	6,1	0,8	97,8	1,5	33,3	34,92	53,05	12,05
	40 °C 28 días	0	0,100	6,1	0,9	97,2	2,0	33,4	40,11	48,22	11,67
	40 °C 2 meses	0	0,102	6,1	1,2	95,8	3,1	34,5	48,51	41,2	10,29
F9	t=0	0	0,089	6,1	0,9	98,2	0,9	34,6	33,6	54,38	12,01
	VTX 120 minutos	0	0,091	6,1	0,9	98,2	1,0	34,8	33,61	54,3	12,1
	8 ciclos de C/D	0	0,090	6,0	0,9	98,2	0,9	34,1	33,64	54,07	12,29
	40 °C 8 días	0	0,090	6,1	0,7	98,1	1,2	34,0	35,24	53,74	11,02
	40 °C 14 días	0	0,091	6,1	0,7	97,8	1,4	33,6	37,17	52,17	10,67
	40 °C 28 días	0	0,091	6,1	0,8	97,3	1,9	34,0	43,32	46,82	9,85
	40 °C 2 meses	0	0,096	6,1	1,0	95,9	3,1	35,2	52,79	38,64	8,57
F10	t=0	0	0,088	6,1	0,9	98,2	0,9	33,1	33,47	54,48	12,05
	VTX 120 minutos	0	0,092	6,1	0,9	98,2	0,9	33,3	33,47	54,22	12,31
	8 ciclos de C/D	0	0,090	6,1	0,9	98,2	0,9	32,9	33,64	54,22	12,14
	40 °C 8 días	0	0,090	6,1	0,8	98,0	1,2	33,1	35,4	53,71	10,89
	40 °C 14 días	0	0,090	6,1	0,8	97,8	1,4	32,4	37,37	52,15	10,47
	40 °C 28 días	0	0,090	6,1	0,9	97,1	2,0	32,9	43,57	46,76	9,65
	40 °C 2 meses	0	0,093	6,1	1,2	95,7	3,1	34,2	53,03	38,64	8,33
F11	t=0	0	0,087	6,1	0,9	98,2	0,9	33,3	33,51	54,53	11,98
	VTX 120 minutos	0	0,088	6,1	0,9	98,2	0,9	33,6	33,48	54,66	11,87
	8 ciclos de C/D	0	0,088	6,1	0,9	98,2	0,9	32,7	33,75	54,16	12,08
	40 °C 8 días	0	0,088	6,1	0,7	98,1	1,2	32,4	35,31	53,79	10,9
	40 °C 14 días	0	0,090	6,1	0,7	97,9	1,4	32,6	37,4	52,26	10,34
	40 °C 28 días	0	0,090	6,1	0,8	97,3	2,0	32,6	43,56	46,89	9,56
	40 °C 2 meses	0	0,094	6,1	0,9	96,0	3,1	34,0	53,08	38,74	8,16

	meses										
F12	t=0	1	0,087	6,1	0,9	98,2	1,0	33,5	33,48	54,38	12,14
	VTX 120 minutos	1	0,088	6,1	0,9	98,2	0,9	33,6	33,49	54,56	11,95
	8 ciclos de C/D	0	0,089	6,0	0,9	98,2	0,9	32,8	33,72	54,22	12,06
	40 °C 8 días	0	0,089	6,1	0,7	98,1	1,2	32,5	35,29	53,69	11,02
	40 °C 14 días	0	0,090	6,1	0,7	97,9	1,4	32,7	37,14	52,24	10,62
	40 °C 28 días	0	0,091	6,1	0,8	97,3	1,9	32,9	43,38	46,9	9,73
	40 °C 2 meses	0	0,095	6,1	0,9	96,0	3,1	34,1	52,74	38,78	8,47

Tabla 28: Efecto de los excipientes en la estabilidad del anticuerpo H1H17139P a 33 mg/ml incubado a 40 °C durante un máximo de dos meses - Visual, DO, pH, SE-UPLC, concentración por RP-UPLC, CEX-UPLC

Formula- ción	Muestra	Vi- sual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nati- vo	% de LM W	Con, mg/ml	% de Áci- das	% de Prin- cipal	% de Bási- cas
F1	t=0	0	0,084	6,1	0,7	98,2	1,1	31,1	36,5	60,0	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,082	6,1	0,7	98,2	1,1	31,5	36,4	59,9	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,083	6,0	0,7	98,1	1,1	31,1	36,7	59,6	3,7
	40 °C 8 días	0	0,083	6,1	0,6	97,9	1,4	31,3	38,4	57,2	4,3
	40 °C 14 días	0	0,083	6,1	0,7	97,7	1,6	31,6	39,6	56,2	4,2
	40 °C 28 días	0	0,083	6,2	0,7	97,2	2,1	31,9	43,9	51,8	4,3
	40 °C 2 meses	0	0,089	6,1	0,9	95,8	3,3	31,8	52,4	43,9	3,8
F2	t=0	0	0,086	6,1	0,7	98,2	1,2	32,5	36,5	60,0	3,5
	VTX 120 minutos	0	0,085	6,1	0,7	98,2	1,1	32,5	36,5	59,8	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,085	6,0	0,7	98,2	1,1	32,4	36,8	59,5	3,7
	40 °C 8 días	0	0,086	6,1	0,6	98,0	1,4	32,3	38,5	57,2	4,3
	40 °C 14 días	0	0,086	6,0	0,6	97,8	1,6	32,4	39,5	56,3	4,2
	40 °C 28 días	0	0,086	6,1	0,6	97,2	2,2	32,7	43,8	51,9	4,3
	40 °C 2 meses	0	0,092	6,0	0,7	96,0	3,3	32,9	52,3	44,0	3,7
F3	t=0	0	0,085	6,1	0,7	98,1	1,1	32,4	36,4	60,0	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,086	6,1	0,7	98,2	1,1	32,7	36,4	59,9	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,084	6,0	0,7	98,1	1,1	32,3	36,8	59,5	3,8
	40 °C 8 días	0	0,083	6,1	0,6	98,0	1,4	32,3	38,4	57,3	4,3

	40 °C 14 días	0	0,084	6,0	0,6	97,7	1,6	32,2	39,3	56,4	4,2
	40 °C 28 días	0	0,084	6,1	0,7	97,2	2,1	32,9	43,6	52,1	4,3
	40 °C 2 meses	0	0,090	6,0	0,8	95,9	3,3	32,8	52,4	43,7	4,0
F4	t=0	0	0,086	6,1	0,7	98,2	1,1	32,7	36,5	60,0	3,6
	VTX 120 minutos	1	0,087	6,1	0,7	98,2	1,1	32,9	36,5	59,9	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,088	6,0	0,7	98,2	1,1	32,8	36,8	59,4	3,8
	40 °C 8 días	0	0,088	6,1	0,6	98,0	1,4	32,4	38,5	57,3	4,2
	40 °C 14 días	0	0,087	6,1	0,6	97,8	1,6	32,9	39,6	56,3	4,2
	40 °C 28 días	0	0,087	6,1	0,7	97,2	2,1	33,2	43,9	52,0	4,2
	40 °C 2 meses	0	0,092	6,1	0,8	96,0	3,3	33,4	52,8	43,4	3,8
F5	t=0	0	0,094	6,1	0,7	98,2	1,2	32,2	36,1	60,2	3,7
	VTX 120 minutos	0	0,094	6,1	0,7	98,2	1,2	32,3	36,1	60,1	3,8
	8 ciclos de C/D	0	0,094	6,1	0,7	98,2	1,1	32,0	36,4	59,7	3,9
	40 °C 8 días	0	0,094	6,1	0,6	98,0	1,5	31,9	37,2	58,1	4,8
	40 °C 14 días	0	0,092	6,1	0,6	97,8	1,7	32,2	37,8	57,5	4,7
	40 °C 28 días	0	0,093	6,1	0,7	97,2	2,2	32,5	41,4	53,5	5,1
	40 °C 2 meses	0	0,095	6,1	0,8	95,9	3,3	33,0	48,6	46,3	5,1
F6	t=0	0	0,095	6,1	0,7	98,2	1,2	31,6	36,1	60,3	3,7
	VTX 120 minutos	0	0,094	6,1	0,7	98,2	1,2	31,9	36,2	60,0	3,8
	8 ciclos de C/D	0	0,096	6,1	0,7	98,2	1,2	31,5	36,3	59,8	3,9
	40 °C 8 días	0	0,096	6,1	0,6	98,0	1,5	31,6	37,3	58,1	4,6
	40 °C 14 días	0	0,095	6,1	0,6	97,8	1,7	31,8	38,2	57,3	4,5
	40 °C 28 días	0	0,093	6,1	0,6	97,2	2,2	32,0	41,7	53,4	4,9
	40 °C 2 meses	0	0,097	6,1	0,7	96,0	3,3	32,6	49,4	46,0	4,7
F7	t=0	0	0,095	6,1	0,7	98,1	1,2	32,1	36,1	60,3	3,7
	VTX 120 minutos	0	0,096	6,1	0,7	98,1	1,2	32,5	36,1	60,1	3,8
	8 ciclos de C/D	0	0,097	6,1	0,7	98,1	1,2	32,0	36,4	59,7	3,9
	40 °C 8 días	0	0,098	6,1	0,6	98,0	1,5	32,5	37,3	58,0	4,7
	40 °C 14 días	0	0,095	6,1	0,6	97,7	1,6	32,3	37,9	57,4	4,7
	40 °C 28 días	0	0,096	6,1	0,7	97,2	2,1	32,6	41,6	53,4	5,0
	40 °C 2 meses	0	0,096	6,1	0,8	95,8	3,4	33,1	49,1	46,1	4,9
F8	t=0	0	0,093	6,1	0,7	98,2	1,1	32,7	36,1	60,2	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,100	6,1	0,7	98,2	1,2	32,6	36,1	60,2	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,097	6,1	0,7	98,2	1,2	32,6	36,4	59,7	3,9

	40 °C 8 días	0	0,098	6,1	0,6	98,0	1,5	32,6	37,2	58,2	4,7
	40 °C 14 días	0	0,095	6,1	0,6	97,8	1,7	32,9	38,1	57,3	4,6
	40 °C 28 días	0	0,101	6,1	0,6	97,3	2,1	33,0	41,4	53,6	5,0
	40 °C 2 meses	0	0,096	6,1	0,6	96,1	3,3	33,4	48,9	46,2	4,9
F9	t=0	0	0,086	6,1	0,7	98,1	1,2	32,9	36,5	59,9	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,087	6,1	0,7	98,2	1,2	32,8	36,6	59,7	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,087	6,1	0,7	98,2	1,1	32,7	36,8	59,4	3,8
	40 °C 8 días	0	0,090	6,1	0,5	98,0	1,5	32,6	38,4	57,2	4,3
	40 °C 14 días	0	0,088	6,1	0,6	97,9	1,6	33,1	39,6	56,3	4,2
	40 °C 28 días	0	0,090	6,1	0,6	97,3	2,1	33,2	43,9	51,8	4,4
	40 °C 2 meses	0	0,092	6,1	0,7	96,1	3,2	33,6	52,1	43,9	3,9
F10	t=0	1	0,087	6,1	0,7	98,2	1,1	33,0	36,5	59,9	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,089	6,1	0,7	98,2	1,1	33,5	36,6	59,7	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,088	6,1	0,7	98,2	1,1	33,1	36,8	59,4	3,8
	40 °C 8 días	0	0,090	6,1	0,6	98,0	1,4	33,0	38,1	58,0	4,0
	40 °C 14 días	0	0,088	6,1	0,6	97,8	1,6	33,1	39,7	56,1	4,2
	40 °C 28 días	0	0,090	6,1	0,6	97,3	2,1	33,6	44,1	51,7	4,2
	40 °C 2 meses	0	0,093	6,1	0,7	96,0	3,3	34,2	52,6	43,7	3,8
F11	t=0	0	0,084	6,1	0,7	98,2	1,1	31,8	36,6	59,8	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,085	6,1	0,7	98,2	1,1	32,2	36,6	59,7	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,085	6,1	0,7	98,2	1,1	31,9	36,9	59,3	3,8
	40 °C 8 días	0	0,088	6,1	0,5	98,1	1,4	31,6	38,2	57,8	4,0
	40 °C 14 días	0	0,085	6,1	0,5	97,9	1,6	32,0	39,6	56,3	4,1
	40 °C 28 días	0	0,088	6,1	0,6	97,3	2,1	32,3	44,1	51,8	4,1
	40 °C 2 meses	0	0,093	6,1	0,6	96,1	3,3	32,7	52,5	43,8	3,7
F12	t=0	0	0,086	6,1	0,7	98,2	1,2	33,1	36,6	59,7	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,086	6,1	0,7	98,2	1,1	33,4	36,7	59,6	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,089	6,1	0,7	98,2	1,2	33,0	37,0	59,2	3,8
	40 °C 8 días	0	0,089	6,1	0,5	98,1	1,4	32,8	38,1	57,9	4,1
	40 °C 14 días	0	0,086	6,1	0,5	97,9	1,6	33,0	39,7	56,2	4,2
	40 °C 28 días	0	0,900	6,1	0,6	97,3	2,1	33,3	43,9	51,9	4,2
	40 °C 2 meses	0	0,095	6,1	0,6	96,1	3,3	33,8	52,3	44,0	3,7

Tabla 29: Efecto de los excipientes sobre la estabilidad del anticuerpo H1H17161P a 33 mg/ml incubado a 40 °C durante un máximo de dos meses - Visual, DO, pH, SE-UPLC, concentración por RP-UPLC, CEX-UPLC

For- mula- ción	Muestra	Vi- sual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nati- vo	% de LMW	Con, mg/ml	% de Áci- das	% de Prin- cipal	% de Bási- cas
F1	t=0	0	0,109	6,1	1,6	97,2	1,2	34	53,5	42,6	4,0
	VTX 120 minutos	0	0,109	6,1	1,6	97,2	1,2	34	54,1	42,2	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,108	6,0	1,7	97,2	1,2	34	54,3	42,2	3,5
	40 °C 8 días	0	0,105	6,0	1,4	97,1	1,5	34	57,4	38,8	3,9
	40 °C 14 días	0	0,107	6,0	1,4	96,9	1,7	34	59,6	36,4	3,9
	40 °C 28 días	0	0,109	6,1	1,6	96,1	2,3	34	63,5	31,2	5,3
	40 °C 2 meses	0	0,112	6,2	1,7	95,0	3,3	33	74,3	22,4	3,3
F2	t=0	0	0,111	6,1	1,6	97,2	1,2	33	53,1	43,0	4,0
	VTX 120 minutos	0	0,100	6,1	1,6	97,2	1,3	33	53,7	42,8	3,5
	8 ciclos de C/D	0	0,112	6,0	1,6	97,2	1,2	34	53,5	42,9	3,6
	40 °C 8 días	0	0,106	6,0	1,3	97,2	1,5	34	55,5	40,5	4,0
	40 °C 14 días	0	0,110	6,0	1,3	97,0	1,7	34	57,5	38,4	4,1
	40 °C 28 días	0	0,110	6,1	1,4	96,3	2,3	34	59,9	34,7	5,5
	40 °C 2 meses	0	0,114	6,1	1,5	95,2	3,3	33	69,7	26,5	3,8
F3	t=0	0	0,110	6,1	1,6	97,2	1,2	34	53,5	42,7	3,9
	VTX 120 minutos	0	0,109	6,1	1,8	96,9	1,3	33	54,0	42,3	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,109	6,0	1,6	97,1	1,2	34	54,3	42,3	3,4
	40 °C 8 días	0	0,105	6,0	1,3	97,1	1,5	34	57,2	39,0	3,8
	40 °C 14 días	0	0,107	6,0	1,4	96,9	1,7	34	59,8	36,2	4,1
	40 °C 28 días	0	0,109	6,1	1,5	96,2	2,3	34	63,2	31,7	5,2
	40 °C 2 meses	0	0,111	6,1	1,6	95,1	3,3	33	74,0	22,9	3,1
F4	t=0	0	0,110	6,1	1,6	97,2	1,3	34	53,3	43,3	3,4
	VTX 120 minutos	0	0,109	6,1	1,6	97,1	1,3	34	53,5	42,9	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,113	6,1	1,6	97,2	1,2	34	53,9	42,5	3,6
	40 °C 8 días	0	0,106	6,0	1,3	97,2	1,5	34	55,5	40,6	3,9
	40 °C 14 días	0	0,113	6,0	1,4	96,9	1,7	34	57,8	38,2	4,0
	40 °C 28 días	0	0,110	6,1	1,4	96,3	2,3	34	60,0	34,8	5,3
	40 °C 2 meses	0	0,114	6,1	1,6	95,1	3,4	33	70,2	26,4	3,4
F5	t=0	0	0,121	6,1	1,6	97,2	1,2	33	53,6	43,0	3,5

	VTX 120 minutos	0	0,122	6,1	1,6	97,1	1,3	34	53,9	42,4	3,7
	8 ciclos de C/D	0	0,124	6,1	1,6	97,2	1,2	34	54,3	41,9	3,8
	40 °C 8 días	0	0,114	6,1	1,4	97,1	1,6	34	56,0	39,8	4,2
	40 °C 14 días	0	0,118	6,1	1,5	96,8	1,8	34	59,0	36,6	4,5
	40 °C 28 días	0	0,116	6,2	1,5	96,1	2,4	34	61,9	32,5	5,6
	40 °C 2 meses	0	0,117	6,1	1,7	95,0	3,4	33	72,6	23,9	3,5
F6	t=0	0	0,121	6,1	1,6	97,2	1,2	33	53,0	43,1	3,8
	VTX 120 minutos	0	0,121	6,1	1,6	97,1	1,3	33	53,1	43,1	3,8
	8 ciclos de C/D	0	0,123	6,1	1,6	97,2	1,2	33	53,3	42,8	3,9
	40 °C 8 días	0	0,117	6,1	1,4	97,1	1,6	34	53,8	41,9	4,3
	40 °C 14 días	0	0,121	6,1	1,4	96,8	1,8	33	56,2	39,2	4,6
	40 °C 28 días	0	0,118	6,2	1,5	96,1	2,4	33	57,1	36,8	6,1
	40 °C 2 meses	0	0,119	6,1	1,6	95,0	3,4	33	66,1	30,0	3,9
F7	t=0	0	0,121	6,1	1,6	97,1	1,3	34	53,7	42,6	3,7
	VTX 120 minutos	0	0,122	6,1	1,6	97,0	1,4	34	53,9	42,3	3,9
	8 ciclos de C/D	0	0,123	6,1	1,6	97,2	1,2	34	54,1	42,2	3,7
	40 °C 8 días	0	0,115	6,1	1,5	97,0	1,6	34	56,3	39,5	4,2
	40 °C 14 días	0	0,120	6,1	1,5	96,7	1,8	34	59,1	36,4	4,6
	40 °C 28 días	0	0,117	6,2	1,6	96,0	2,4	34	63,2	31,1	5,7
	40 °C 2 meses	0	0,119	6,1	1,7	94,9	3,4	33	73,7	22,5	3,9
F8	t=0	0	0,120	6,1	1,6	97,2	1,2	33	53,3	43,2	3,5
	VTX 120 minutos	0	0,120	6,1	2,5	96,1	1,3	33	53,1	43,1	3,8
	8 ciclos de C/D	0	0,121	6,1	1,6	97,2	1,2	34	52,9	43,1	4,0
	40 °C 8 días	0	0,117	6,1	1,4	97,1	1,5	34	53,8	41,9	4,3
	40 °C 14 días	0	0,119	6,1	1,4	96,8	1,8	34	55,8	39,5	4,7
	40 °C 28 días	0	0,115	6,2	1,5	96,2	2,3	34	56,6	37,5	6,0
	40 °C 2 meses	0	0,117	6,1	1,5	95,1	3,4	33	65,4	30,4	4,3
F9	t=0	0	0,112	6,1	1,6	97,2	1,3	33	53,9	42,5	3,6
	VTX 120 minutos	0	0,112	6,1	1,6	97,2	1,3	33	54,2	42,2	3,6
	8 ciclos de C/D	0	0,114	6,1	1,6	97,2	1,2	34	54,4	42,0	3,6
	40 °C 8 días	0	0,107	6,1	1,2	97,3	1,5	34	57,1	39,1	3,8
	40 °C 14 días	0	0,114	6,0	1,3	97,0	1,8	34	59,9	36,0	4,1
	40 °C 28 días	0	0,110	6,2	1,3	96,4	2,3	34	63,0	31,5	5,6
	40 °C 2 meses	0	0,114	6,1	1,4	95,2	3,4	33	73,5	23,1	3,4

	meses										
F10	t=0	0	0,113	6,1	1,6	97,2	1,2	33	54,2	42,8	3,1
	VTX 120 minutos	0,112	0,000	FD G	1,6	97,2	1,2	33	54,3	42,3	3,5
	8 ciclos de C/D	0,114	0,001	FD G	1,6	97,2	1,2	33	54,5	42,0	3,6
	40 °C 8 días	0	0,112	6,1	1,3	97,2	1,6	34	57,1	39,1	3,7
	40 °C 14 días	0	0,111	6,1	1,3	97,0	1,7	33	59,9	36,0	4,1
	40 °C 28 días	0	0,111	6,2	1,4	96,3	2,4	34	62,9	31,7	5,4
	40 °C 2 meses	0	0,115	6,1	1,5	95,2	3,4	33	73,0	23,7	3,3
F11	t=0	0	0,110	6,1	1,6	97,2	1,3	33	53,6	43,1	3,4
	VTX 120 minutos	0	0,112	6,1	1,7	97,1	1,2	33	53,6	42,8	3,6
	8 ciclos de C/D	0	0,111	6,1	1,6	97,3	1,2	34	53,6	42,8	3,6
	40 °C 8 días	0	0,107	6,1	1,2	97,2	1,5	34	55,6	40,6	3,8
	40 °C 14 días	0	0,112	6,1	1,3	97,0	1,7	34	57,9	38,0	4,1
	40 °C 28 días	0	0,114	6,1	1,3	96,4	2,3	34	59,7	34,9	5,4
	40 °C 2 meses	0	0,118	6,1	1,4	95,3	3,3	33	69,5	27,1	3,5
F12	t=0	0	0,114	6,1	1,6	97,1	1,3	34	53,8	42,8	3,4
	VTX 120 minutos	0	0,114	6,1	1,5	97,2	1,3	34	53,8	42,6	3,6
	8 ciclos de C/D	0	0,113	6,1	1,6	97,2	1,2	34	53,8	42,7	3,6
	40 °C 8 días	0	0,109	6,1	1,2	97,3	1,5	34	55,5	40,7	3,8
	40 °C 14 días	0	0,113	6,0	1,2	97,0	1,7	34	57,9	37,9	4,2
	40 °C 28 días	0	0,113	6,1	1,3	96,4	2,4	34	60,0	34,4	5,7
	40 °C 2 meses	0	0,120	6,1	1,4	95,3	3,3	33	69,4	26,8	3,8

Tabla 30: Efecto de los excipientes sobre la estabilidad de los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a 100 mg/ml (relación 1:1:1) incubados a 40 °C durante un máximo de dos meses - Visual, DO, pH, SE-UPLC, concentración por RP-UPLC

Formula- ción	Muestra	Visual	DO @ 405 nm	ΔDO	pH	% de HMW	% de Nativo	% de LMW	Con, mg/ml
F1	t=0	0	0,178	0,00	6,1	1,24	97,70	1,06	99
	120 minutos	0	0,175	0,00	6,1	1,76	96,83	1,41	100
	8 ciclos	0	0,176	0,00	6,1	1,95	96,41	1,64	99
	40 °C 8 días	0	0,176	0,00	6,1	2,29	95,56	2,16	98
	40 °C 14 días	0	0,179	0,00	6,1	2,91	93,82	3,27	99
	40 °C 28 días	0	0,189	0,01	6,1	4,01	91,58	4,41	103

	40 °C 2 meses	0	0,191	0,01	6,1	1,32	97,63	1,04	98
	40 °C 3 meses	0	0,203	0,02	6,3	1,25	97,68	1,07	99
	Control de estrés luminoso	0	0,177	0,00	6,1	1,43	97,19	1,39	98
	Estrés luminoso leve	0	0,178	0,00	6,1	5,56	93,21	1,24	99
	Estrés luminoso extremo	0	0,286	0,11	6,1	21,67	76,26	2,07	98
F2	t=0	0	0,177	0,00	6,1	1,15	97,79	1,06	97
	120 minutos	0	0,179	0,00	6,1	1,52	97,08	1,41	98
	8 ciclos	0	0,177	0,00	6,1	1,68	96,67	1,65	97
	40 °C 8 días	0	0,175	0,00	6,1	1,96	95,88	2,16	97
	40 °C 14 días	0	0,180	0,00	6,1	2,47	94,24	3,30	97
	40 °C 28 días	0	0,185	0,01	6,1	3,33	92,34	4,33	102
	40 °C 2 meses	0	0,193	0,02	6,1	1,14	97,81	1,04	97
	40 °C 3 meses	0	0,203	0,03	6,2	1,17	97,76	1,08	97
F3	t=0	0	0,173	0,00	6,1	1,21	97,71	1,08	97
	120 minutos	0	0,174	0,00	6,1	1,64	96,97	1,40	101
	8 ciclos	0	0,181	0,01	6,1	1,81	96,57	1,63	98
	40 °C 8 días	0	0,171	0,00	6,1	2,11	95,74	2,15	97
	40 °C 14 días	0	0,178	0,00	6,1	2,65	94,13	3,23	97
	40 °C 28 días	0	0,185	0,01	6,1	3,37	92,40	4,23	102
	40 °C 2 meses	0	0,188	0,02	6,1	1,30	97,62	1,08	97
	40 °C 3 meses	0	0,203	0,03	6,3	1,22	97,70	1,08	100
F4	t=0	0	0,180	0,00	6,1	1,18	97,75	1,08	97
	120 minutos	0	0,182	0,00	6,1	1,57	97,04	1,38	97
	8 ciclos	0	0,178	0,00	6,1	1,76	96,62	1,62	97
	40 °C 8 días	0	0,172	0,00	6,1	2,09	95,76	2,15	98
	40 °C 14 días	0	0,179	0,00	6,1	2,68	94,07	3,24	99
	40 °C 28 días	0	0,187	0,01	6,1	3,48	92,26	4,26	104
	40 °C 2 meses	0	0,194	0,01	6,1	1,17	97,77	1,07	99
	40 °C 3 meses	0	0,205	0,02	6,3	1,19	97,73	1,08	98
	Control de estrés luminoso	0	0,178	0,00	6,1	1,27	97,47	1,26	98
	Estrés luminoso leve	0	0,178	0,00	6,1	4,60	94,18	1,22	98
	Estrés luminoso	0	0,233	0,05	6,1	17,01	81,07	1,92	97

	extremo								
F5	t=0	0	0,194	0,00	6,1	1,12	97,78	1,10	96
	120 minutos	0	0,196	0,00	6,1	1,30	97,26	1,44	96
	8 ciclos	0	0,198	0,00	6,1	1,43	96,89	1,68	96
	40 °C 8 días	0	0,187	0,00	6,1	1,65	96,14	2,22	98
	40 °C 14 días	0	0,190	0,00	6,1	2,07	94,59	3,34	97
	40 °C 28 días	0	0,195	0,00	6,1	2,88	92,77	4,35	102
	40 °C 2 meses	0	0,198	0,00	6,1	1,11	97,79	1,10	96
	40 °C 3 meses	0	0,204	0,01	6,3	1,13	97,78	1,10	97
F6	t=0	0	0,197	0,00	6,1	1,10	97,82	1,07	96
	120 minutos	0	0,197	0,00	6,2	1,31	97,25	1,44	96
	8 ciclos	0	0,200	0,00	6,1	1,44	96,86	1,70	96
	40 °C 8 días	0	0,191	0,00	6,1	1,69	96,09	2,22	96
	40 °C 14 días	0	0,195	0,00	6,1	2,28	94,37	3,35	96
	40 °C 28 días	0	0,200	0,00	6,2	3,02	92,66	4,32	102
	40 °C 2 meses	0	0,199	0,00	6,1	1,10	97,78	1,13	96
	40 °C 3 meses	0	0,208	0,01	6,3	1,12	97,77	1,11	96
F7	t=0	0	0,198	0	6,13	1,13	97,82	1,05	95
	120 minutos	0	0,196	0	6,14	1,38	97,19	1,43	97
	8 ciclos	0	0,209	0,011	6,13	1,53	96,79	1,69	96
	40 °C 8 días	0	0,189	0	6,09	1,75	96,04	2,22	98
	40 °C 14 días	0	0,1917	0	6,08	2,26	94,41	3,34	97
	40 °C 28 días	0	0,1973	0	6,15	3,38	92,08	4,54	104
	40 °C 2 meses	0	0,1994	0,0014	6,15	1,14	97,79	1,08	97
	40 °C 3 meses	0	0,2086	0,0106	6,28	1,14	97,76	1,09	97
	Control de estrés luminoso	0	0,1977	0	6,12	1,15	97,56	1,28	98
	Estrés luminoso leve	0	0,2001	0,0021	6,11	4,87	93,85	1,28	98
	Estrés luminoso extremo	0	0,287	0,089	6,11	17,14	80,69	2,17	97
F8	t=0	0	0,191	0,00	6,1	1,10	97,84	1,06	97
	120 minutos	0	0,192	0,00	6,1	1,24	97,33	1,44	96
	8 ciclos	0	0,195	0,00	6,1	1,32	97,00	1,67	96
	40 °C 8 días	0	0,184	0,00	6,1	1,49	96,29	2,22	97
	40 °C 14 días	0	0,189	0,00	6,1	1,85	94,82	3,32	97
	40 °C 28 días	0	0,198	0,01	6,2	2,35	93,33	4,32	102

	días								
	40 °C 2 meses	0	0,194	0,00	6,2	1,26	97,69	1,06	97
	40 °C 3 meses	0	0,204	0,01	6,3	1,11	97,79	1,10	101
F9	t=0	0	0,177	0	6,11	1,15	97,77	1,09	97
	120 minutos	0	0,18	0,003	6,11	1,38	97,25	1,38	97
	8 ciclos	0	0,181	0,004	6,1	1,51	96,87	1,63	96
	40 °C 8 días	0	0,177	0	6,08	1,71	96,12	2,17	97
	40 °C 14 días	0	0,1813	0,0043	6,08	2,09	94,63	3,28	97
	40 °C 28 días	0	0,187	0,01	6,13	2,63	93,08	4,29	103
	40 °C 2 meses	0	0,1914	0,0144	6,11	1,12	97,84	1,03	97
	40 °C 3 meses	0	0,1987	0,0217	6,23	1,15	97,78	1,08	98
	Control de estrés luminoso	0	0,1776	0,0006	6,12	1,19	97,56	1,26	99
	Estrés luminoso leve	0	0,1777	0,0007	6,12	4,15	94,59	1,26	98
	Estrés luminoso extremo	0	0,2888	0,1118	6,11	15,33	82,28	2,39	99
F10	t=0	0	0,18	0	6,11	1,17	97,77	1,07	96
	120 minutos	0	0,179	0	6,12	1,45	97,13	1,41	96
	8 ciclos	0	0,184	0,004	6,1	1,59	96,76	1,65	96
	40 °C 8 días	0	0,177	0	6,08	1,83	95,99	2,19	97
	40 °C 14 días	0	0,1812	0,0012	6,09	2,28	94,43	3,30	96
	40 °C 28 días	0	0,1892	0,0092	6,143	2,95	92,76	4,28	102
	40 °C 2 meses	0	0,1873	0,0073	6,11	1,15	97,81	1,04	96
	40 °C 3 meses	0	0,1982	0,0182	6,23	1,17	97,76	1,07	97
F11	t=0	0	0,177	0	6,12	1,13	97,79	1,08	100
	120 minutos	0	0,178	0,001	6,12	1,34	97,25	1,40	97
	8 ciclos	0	0,18	0,003	6,1	1,46	96,90	1,65	97
	40 °C 8 días	0	0,177	0	6,09	1,67	96,16	2,18	96
	40 °C 14 días	0	0,1807	0,0037	6,08	2,02	94,66	3,31	97
	40 °C 28 días	0	0,1897	0,0127	6,14	2,48	93,26	4,26	102
	40 °C 2 meses	0	0,1886	0,0116	6,13	1,20	97,75	1,04	97
	40 °C 3 meses	0	0,1934	0,0164	6,24	1,15	97,80	1,06	101
F12	t=0	0	0,178	0	6,1	1,13	97,78	1,10	99
	120 minutos	0	0,178	0	6,11	1,30	97,30	1,40	96
	8 ciclos	0	0,181	0,003	6,09	1,40	96,96	1,64	97
	40 °C 8 días	0	0,176	0	6,07	1,59	96,25	2,16	98

	días								
	40 °C 14 días	0	0,1815	0,0035	6,07	1,92	94,82	3,26	97
	40 °C 28 días	0	0,1895	0,0115	6,1	2,35	93,42	4,24	102
	40 °C 2 meses	0	0,1955	0,0175	6,11	1,10	97,86	1,04	97
	40 °C 3 meses	0	0,2008	0,0228	6,22	1,12	97,78	1,10	98
	Control de estrés luminoso	0	0,1786	0,0006	6,12	1,13	97,60	1,26	99
	Estrés luminoso leve	0	0,179	0,001	6,11	3,37	95,38	1,26	98
	Estrés luminoso extremo	0	0,241	0,063	6,12	11,99	85,85	2,16	99

Tabla 31: Efecto de los excipientes sobre la estabilidad de los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a 100 mg/ml (en relación 1:1:1) incubados a 40 °C durante un máximo de dos meses - CEX-UPLC

For- mula- ción	Mues- tra	H1H17139P			H1H17203P			H1H17161P		
		% de Áci- das	% de Princi- pal	% de Bási- cas	% de Áci- das	% de Princi- pal	% de Bási- cas	% de Áci- das	% de Princi- pal	% de Bási- cas
F1	t=0	36,1	61,2	2,7	31,9	47,6	20,6	41,2	49,9	8,9
	120 minutos	36,0	61,3	2,7	31,8	47,8	20,4	40,9	49,5	9,7
	8 ciclos	36,2	61,1	2,7	31,8	47,7	20,5	40,3	49,8	9,8
	40 °C 8 días	38,2	58,6	3,3	33,9	46,8	19,3	46,1	44,1	9,9
	40 °C 14 días	39,9	56,6	3,5	35,9	45,3	18,8	48,4	42,2	9,4
	40 °C 28 días	44,8	51,3	3,9	39,6	41,1	19,3	56,8	37,0	6,2
	40 °C 2 meses	54,5	42,0	3,5	46,7	32,6	20,7	68,5	27,6	3,8
	40 °C 3 meses	62,2	32,8	5,0	54,2	27,0	18,8	78,3	16,9	4,8
F2	t=0	36,2	61,1	2,7	31,7	47,8	20,5	40,6	50,2	9,1
	120 minutos	36,0	61,4	2,6	31,6	48,1	20,3	41,2	51,2	7,6
	8 ciclos	36,3	61,1	2,7	31,8	47,8	20,4	39,6	49,6	10,7
	40 °C 8 días	38,1	58,6	3,3	33,6	46,9	19,4	42,2	46,7	11,1
	40 °C 14 días	39,8	56,7	3,5	35,4	45,6	19,0	44,9	45,1	10,0

	40 °C 28 días	44,9	51,1	4,0	39,3	41,2	19,5	56,7	36,8	6,4
	40 °C 2 meses	54,2	42,3	3,5	46,1	32,6	21,3	62,9	32,7	4,4
	40 °C 3 meses	61,5	33,9	4,7	54,5	28,3	17,2	71,3	23,5	5,2
F3	t=0	36,1	61,2	2,7	31,7	47,8	20,5	41,4	50,2	8,4
	120 minutos	36,0	61,4	2,6	31,6	48,1	20,3	41,2	50,4	8,4
	8 ciclos	36,2	61,2	2,6	31,8	47,8	20,4	40,3	49,6	10,0
	40 °C 8 días	38,1	58,7	3,3	33,6	46,9	19,4	44,8	45,5	9,6
	40 °C 14 días	39,6	56,8	3,6	35,4	45,6	19,0	47,4	42,5	10,1
	40 °C 28 días	44,5	51,5	4,0	39,3	41,2	19,5	56,6	37,3	6,1
	40 °C 2 meses	53,9	42,5	3,6	46,1	32,6	21,3	67,8	27,8	4,5
	40 °C 3 meses	61,6	34,9	3,5	54,5	28,3	17,2	77,8	17,7	4,4
F4	t=0	36,2	61,1	2,7	31,9	47,8	20,3	40,5	50,7	8,8
	120 minutos	35,9	61,5	2,6	31,7	48,2	20,1	40,2	51,5	8,3
	8 ciclos	36,2	61,1	2,7	31,8	47,9	20,3	39,2	50,8	10,0
	40 °C 8 días	38,1	58,6	3,4	33,8	47,1	19,1	42,6	47,8	9,6
	40 °C 14 días	40,0	56,6	3,5	35,7	45,9	18,4	44,9	45,6	9,6
	40 °C 28 días	45,1	51,1	3,8	40,0	41,1	18,9	53,0	40,4	6,6
	40 °C 2 meses	54,6	42,1	3,4	47,3	32,7	20,0	63,9	32,2	3,9
	40 °C 3 meses	61,5	34,0	4,6	54,7	28,4	16,9	72,6	23,0	4,4
F5	t=0	35,9	61,4	2,7	31,5	48,0	20,5	41,5	50,7	7,9
	120 minutos	35,7	61,8	2,5	31,2	48,5	20,2	41,6	50,1	8,3
	8 ciclos	35,9	61,5	2,7	31,4	48,1	20,5	40,3	50,1	9,6
	40 °C 8 días	36,8	59,8	3,3	32,4	48,0	19,6	45,2	46,5	8,3
	40 °C 14 días	38,4	57,7	3,8	34,0	46,4	19,6	46,6	42,1	11,3
	40 °C 28 días	42,4	53,3	4,3	37,1	43,0	19,9	55,9	37,5	6,5
	40 °C 2 meses	50,5	45,7	3,8	43,7	36,0	20,3	68,8	27,3	3,9
	40 °C 3 meses	56,9	38,2	4,9	51,0	32,3	16,7	76,8	17,9	5,4
F6	t=0	36,0	61,2	2,8	31,7	47,8	20,5	40,3	50,2	9,6

	120 minutos	36,2	60,9	2,9	31,6	47,8	20,6	39,1	50,5	10,4
	8 ciclos	35,8	61,4	2,8	31,5	48,0	20,4	39,2	50,5	10,3
	40 °C 8 días	37,0	59,6	3,4	32,7	47,9	19,4	41,7	48,4	9,9
	40 °C 14 días	38,8	57,5	3,8	34,3	46,7	19,0	43,0	45,7	11,3
	40 °C 28 días	42,7	53,2	4,1	37,6	43,2	19,1	50,3	42,8	6,9
	40 °C 2 meses	51,2	45,1	3,7	44,7	36,1	19,2	60,1	35,4	4,5
	40 °C 3 meses	57,5	37,8	4,7	52,1	32,5	15,5	68,3	26,4	5,4
F7	t=0	36,0	61,2	2,8	31,6	47,8	20,5	41,0	49,4	9,6
	120 minutos	36,1	61,2	2,8	31,6	47,8	20,7	40,0	50,2	9,9
	8 ciclos	35,9	61,3	2,7	31,5	48,1	20,4	40,1	49,6	10,3
	40 °C 8 días	37,1	59,4	3,5	32,8	47,6	19,5	44,9	44,8	10,3
	40 °C 14 días	38,8	57,4	3,8	34,3	46,5	19,2	47,2	42,8	10,1
	40 °C 28 días	42,8	53,0	4,1	37,5	43,0	19,5	56,3	37,3	6,4
	40 °C 2 meses	51,2	45,1	3,7	44,8	36,2	19,0	69,5	27,1	3,4
	40 °C 3 meses									
F8	t=0	35,8	61,5	2,7	31,5	48,0	20,5	40,5	51,5	8,0
	120 minutos	36,0	61,2	2,7	31,6	47,9	20,6	39,5	50,9	9,7
	8 ciclos	35,7	61,8	2,5	31,3	48,7	19,9	40,2	49,9	10,0
	40 °C 8 días	36,9	59,6	3,5	32,7	47,6	19,7	41,5	48,0	10,5
	40 °C 14 días	38,7	57,5	3,9	34,3	46,5	19,2	43,2	45,7	11,1
	40 °C 28 días	42,6	53,3	4,2	37,4	43,1	19,5	50,4	42,9	6,7
	40 °C 2 meses	50,8	45,5	3,7	44,3	36,0	19,7	60,1	35,7	4,2
	40 °C 3 meses	57,8	37,3	4,9	52,1	32,1	15,9	68,8	25,8	5,4
F9	t=0	36,2	61,1	2,7	31,9	47,8	20,2	41,3	49,7	9,0
	120 minutos	36,4	60,9	2,7	31,9	47,7	20,5	40,0	50,2	9,9
	8 ciclos	36,1	61,3	2,7	31,8	47,9	20,3	39,2	51,0	9,9
	40 °C 8 días	37,9	58,8	3,3	33,6	47,3	19,1	44,9	45,8	9,3
	40 °C 14 días	40,0	56,3	3,7	35,7	45,5	18,8	46,8	42,2	11,0
	40 °C	44,7	51,3	4,0	39,5	41,5	19,0	56,3	37,9	5,8

	28 días									
	40 °C 2 meses	53,8	42,6	3,6	46,2	33,3	20,5	67,7	28,9	3,3
	40 °C 3 meses	60,8	34,4	4,9	54,3	29,2	16,5	76,9	18,2	4,9
F10	t=0	36,0	61,5	2,5	31,9	47,7	20,4	41,1	50,5	8,4
	120 minutos	36,4	60,9	2,7	31,9	47,8	20,3	40,1	50,8	9,1
	8 ciclos	36,2	61,2	2,6	31,8	48,0	20,2	39,1	51,1	9,8
	40 °C 8 días	37,9	58,8	3,3	33,8	47,2	18,9	44,8	46,0	9,2
	40 °C 14 días	40,2	56,4	3,5	35,8	45,6	18,7	46,3	42,0	11,6
	40 °C 28 días	44,9	51,1	3,9	39,7	41,7	18,6	56,9	37,5	5,6
	40 °C 2 meses	54,2	42,4	3,4	46,6	33,2	20,2	67,5	29,2	3,3
	40 °C 3 meses	60,9	34,6	4,5	53,9	29,0	17,1	75,8	19,5	4,7
F11	t=0	36,0	61,5	2,5	31,7	48,4	20,0	41,0	51,8	7,2
	120 minutos	36,4	60,9	2,7	31,8	47,8	20,4	39,9	50,5	9,6
	8 ciclos	36,2	61,2	2,6	31,7	48,1	20,2	38,9	50,8	10,3
	40 °C 8 días	37,9	58,8	3,3	33,8	47,3	18,9	42,4	47,5	10,1
	40 °C 14 días	40,2	56,4	3,5	35,7	45,8	18,5	44,2	44,8	10,9
	40 °C 28 días	44,9	51,1	3,9	39,8	41,7	18,5	52,5	41,6	5,9
	40 °C 2 meses	54,2	42,4	3,4	45,0	32,1	22,9	59,7	36,2	4,1
	40 °C 3 meses	60,9	34,6	4,5	54,5	29,4	16,1	72,0	24,3	3,7
F12	t=0	36,1	61,3	2,6	31,9	48,1	20,0	40,8	51,5	7,7
	120 minutos	36,1	61,2	2,7	31,8	47,8	20,4	39,5	49,5	11,0
	8 ciclos	36,1	61,2	2,7	31,8	47,9	20,3	38,4	50,8	10,8
	40 °C 8 días	38,2	58,4	3,4	33,8	47,3	19,0	42,6	47,0	10,3
	40 °C 14 días	40,0	56,4	3,6	35,6	45,9	18,5	44,1	45,4	10,4
	40 °C 28 días	44,7	51,3	4,0	39,6	41,7	18,7	52,4	41,7	5,9
	40 °C 2 meses	53,9	42,6	3,5	44,2	32,0	23,8	58,9	36,6	4,6
	40 °C 3 meses	60,2	35,1	4,7	53,2	29,4	17,4	71,3	25,1	3,5

Tabla 32: Efecto de los excipientes sobre la estabilidad de los anticuerpos H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a 100 mg/ml (en relación 1:1:1) incubados a 40 °C durante un máximo de dos meses – Resultados de MFI

		2-10 µm	≥2 µm	≥10 µm	≥25 µm
Mues- tra	Condición de estrés	Conc.(#/ml)	Conc.(#/ml)	Conc.(#/ml)	Conc.(#/ml)
F1	t=0	1127	1150	23	0
F2		4778	1044	79	13
F3		4112	4201	90	6
F4		1459	1509	50	10
F5		649	695	46	8
F6		831	929	98	27
F7		1136	1249	113	13
F8		2311	2414	102	13
F9		632	655	23	0
F10		990	1028	38	4
F11		1845	1931	86	4
F12		678	722	44	4
F1	VTX	4778	4995	217	31
F2		2461	2544	83	8
F3		3003	3064	61	0
F4		2497	2553	56	6
F5		1744	1771	27	0
F6		4427	4540	113	8
F7		2734	2797	63	13
F8		3874	4066	192	21
F9		1697	1730	33	4
F10		1876	1926	50	4
F11		2464	2530	67	6
F12		1104	1154	50	8
F1	C/D	6406	6657	250	42
F2		2011	2074	63	6
F3		2572	2616	44	17
F4		2864	2960	96	25
F5		1354	1396	42	2
F6		4141	4379	238	23
F7		3905	3982	77	4
F8		3377	3471	94	4
F9		1965	1996	31	2
F10		1746	1792	46	2
F11		5040	5134	94	6
F12		1304	1323	19	2

Ejemplo 8: Selección del cosolvente orgánico contra el estrés por agitación

Los estabilizadores tales como surfactantes y cosolventes orgánicos a menudo se añaden a las formulaciones de anticuerpos para proteger la proteína de la agregación inducida por la agitación. El efecto de los cosolventes orgánicos y los surfactantes sobre la estabilidad frente al estrés por agitación y la estabilidad térmica de anticuerpo anti-EBOV individual a 33,3 mg/ml, y 100 mg/ml del cóctel coformulado de tres anticuerpos (relación 1:1:1) se examinó en formulaciones líquidas. El ejemplo anterior identificó al polisorbato 80 como un componente excipiente crítico. El presente ejemplo evalúa diferentes polisorbato 80 en % p/v bajo estrés por agitación inducido por la agitación orbital a 250 rpm durante 48 horas. Ver las Tablas 33-40. Las formulaciones base contienen anticuerpo individual a 33,3 mg/ml (o 100 mg/ml de anticuerpo total en coformulación), 10 mM de histidina, pH 6,0, 5 % p/v de sacarosa, con 0,04 % a 0,2 % de polisorbato 80, como se muestra. Las formulaciones que no contienen surfactante son menos estables bajo estrés por agitación en comparación con la formulación con $\geq 0,04$ % p/v de PS80. Además, no hay diferencias significativas en los resultados de MFI y SE-UPLC entre las formulaciones que contienen $\geq 0,04$ % p/v de polisorbato 80.

Tabla 33: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene anti-EBOV H1H17203P - Visual, DO, pH, % de HMW, % de Nativo, % de LMW y concentración en % p/v de PS80

Formulación base +	Estrés	Visual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nativo	% de LMW	Con, mg/ml
0,04 % p/v de PS80	t=0	0	0,087	6,1	1,3	97,7	1,0	33,9
	OB 250 rpm 48 h	0	0,088	6,0	1,2	97,8	1,0	34,5
0,08 % p/v de PS80	t=0	0	0,087	6,0	1,3	97,7	1,0	33,8
	OB 250 rpm 48 h	0	0,087	6,0	1,2	97,8	1,0	34,8
0,12 % p/v de PS80	t=0	0	0,086	6,0	1,9	97,0	1,1	33,4
	OB 250 rpm 48 h	0	0,086	6,0	1,8	97,2	1,1	33,8

	h							
0,20 % p/v de PS80	t=0	0	0,087	6,0	1,3	97,6	1,1	33,3
	OB 250 rpm 48 h	0	0,087	6,0	1,2	97,8	1,1	34,2
0,00 % p/v de PS80	t=0	0	0,086	6,0	2,4	96,7	1,0	32,5
	OB 250 rpm 48 h	2	0,365	6,0	55,2	44,1	0,7	32,6

Tabla 34: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene anti-EBOV H1H17139P - Visual, DO, pH, % de HMW, % de Nativo, % de LMW y concentración en % p/v de PS80

Formula- ción base +	Estrés	Visual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nativo	% de LMW	Con, mg/ml
0,04 % p/v de PS80	t=0	0	0,084	6,0	0,9	97,8	1,2	32,4
	OB 250 rpm 48 h	0	0,083	6,0	0,8	97,9	1,2	32,6
0,08 % p/v de PS80	t=0	0	0,083	6,0	0,9	97,8	1,2	32,4
	OB 250 rpm 48 h	0	0,082	6,0	0,8	97,9	1,2	32,5
0,12 % p/v de PS80	t=0	0	0,084	6,0	0,9	97,8	1,2	32,5
	OB 250 rpm 48 h	0	0,083	6,0	0,8	97,9	1,2	32,8
0,20 % p/v de PS80	t=0	0	0,084	6,0	0,9	97,8	1,3	32,7
	OB 250 rpm 48 h	0	0,082	6,0	0,8	97,9	1,3	32,9
0,00 % p/v de PS80	t=0	0	0,090	6,0	1,6	97,3	1,1	32,3
	OB 250 rpm 48 h	0	0,086	6,0	3,3	95,6	1,1	32,0

Tabla 35: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene anti-EBOV H1H17161P - Visual, DO, pH, % de HMW, % de Nativo, % de LMW y concentración en % p/v de PS80

Formula- ción base +	Estrés	Visual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nativo	% de LMW	Con, mg/ml
0,04 % p/v de PS80	t=0	0	0,114	6,0	1,9	96,8	1,3	33
	OB 250 rpm 48 h	0	0,111	6,1	1,8	96,9	1,3	33
0,08 % p/v de PS80	t=0	0	0,112	6,0	1,9	96,8	1,3	33
	OB 250 rpm 48 h	0	0,111	6,1	1,8	97,0	1,3	33
0,12 % p/v de PS80	t=0	0	0,110	6,0	1,9	96,8	1,3	33
	OB 250 rpm 48 h	0	0,110	6,0	1,8	97,0	1,3	34
0,20 % p/v de PS80	t=0	0	0,106	6,0	1,9	96,8	1,3	33
	OB 250 rpm 48 h	0	0,111	6,1	1,8	96,9	1,3	33
0,00 % p/v de PS80	t=0	0	0,111	6,0	1,9	96,9	1,2	33
	OB 250 rpm 48 h	0	0,112	6,0	10,7	88,2	1,1	33

Tabla 36: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene anti-EBOV H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P - Visual, DO, pH, % de HMW, % de Nativo, % de LMW y concentración en % p/v de PS80

Formu- lación	Estrés	Vi- sual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nativo	% de LMW	Con, mg/ml	80 % p/v de PS
F1	t=0	0	0,182	6,1	1,6	97,3	1,2	98	0,058
	OB 250 rpm 48 h	0	0,188	6,1	1,6	97,3	1,1	98	0,059
F2	t=0	0	0,180	6,1	1,6	97,3	1,1	97	0,095
	OB 250 rpm 48 h	0	0,180	6,1	1,6	97,3	1,1	98	0,095

F3	t=0	0	0,175	6,1	1,8	97,1	1,1	93	0,13
	OB 250 rpm 48 h	0	0,176	6,1	1,7	97,2	1,1	93	0,129
F4	t=0	0	0,179	6,1	1,6	97,3	1,1	97	0,207
	OB 250 rpm 48 h	0	0,182	6,1	1,6	97,3	1,1	97	0,207
F5	t=0	0	0,191	6,1	2,1	96,9	1,1	99	
	OB 250 rpm 48 h	0	0,178	6,0	8,8	90,2	1,0	98	

Tabla 37: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene Anti-EBOV H1H17203P – Resultados de MFI

Formulación base +	Estrés	10-300 µm (#/ml)	25-300 µm (#/ml)
0,04 % p/v de PS80	t=0	405,12	10,44
	OB 250 rpm 48 h	513,71	20,88
0,08 % p/v de PS80	t=0	279,82	4,18
	OB 250 rpm 48 h	743,41	31,32
0,12 % p/v de PS80	t=0	281,91	12,53
	OB 250 rpm 48 h	1150,62	18,79
0,20 % p/v de PS80	t=0	524,15	12,53
	OB 250 rpm 48 h	657,45	8,35
0,00 % p/v de PS80	t=0	389,9	22,94
	OB 250 rpm 48 h	1524,14	129,27

Tabla 38: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene anti-EBOV H1H17139P – Resultados de MFI

Formulación base +	Estrés	10-300 µm (#/ml)	25-300 µm (#/ml)
0,04 % p/v de PS80	t=0	1675,63	37,61
	OB 250 rpm 48 h	421,82	18,79
0,08 % p/v de PS80	t=0	208,82	10,44
	OB 250 rpm	355	12,53

	48 h		
0,12 % p/v de PS80	t=0	402,82	64,70
	OB 250 rpm 48 h	1002,87	22,98
0,20 % p/v de PS80	t=0	421,82	18,79
	OB 250 rpm 48 h	1423,56	10,45
0,00 % p/v de PS80	t=0	98	8,34
	OB 250 rpm 48 h	369,24	6,26

Tabla 39: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene anti-EBOV H1H17161P – Resultados de MFI

Formulación base +	Estrés	10-300 µm (#/ml)	25-300 µm (#/ml)
0,04 % p/v de PS80	t=0	17	0
	OB 250 rpm 48 h	2	0
0,08 % p/v de PS80	t=0	6	0
	OB 250 rpm 48 h	25	4
0,12 % p/v de PS80	t=0	8	4
	OB 250 rpm 48 h	17	8
0,20 % p/v de PS80	t=0	33	4
	OB 250 rpm 48 h	10	2
0,00 % p/v de PS80	t=0	15	2
	OB 250 rpm 48 h	8	4

Tabla 40: Efecto del polisorbato 80 sobre el estrés por agitación en la formulación que contiene anti-EBOV H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P – Resultados de MFI

Formulación base +	Estrés	10-300 µm (#/ml)	25-300 µm (#/ml)
0,04 % p/v de PS80	t=0	21	6
	OB 250 rpm 48 h	15	0
0,08 % p/v de PS80	t=0	8	0
	OB 250 rpm 48 h	2	0
0,12 % p/v de PS80	t=0	25	2
	OB 250 rpm	15	0

	48 h		
0,20 % p/v de PS80	t=0	8	0
	OB 250 rpm 48 h	19	2
0,00 % p/v de PS80	t=0	2	0
	OB 250 rpm 48 h	25	6

Los anticuerpos anti-EBOV fueron inestables cuando se agitaron mediante agitación orbital a 250 rpm en ausencia de un cosolvente orgánico o surfactante. Después de la agitación mediante agitación orbital a 250 rpm en ausencia de cosolvente o surfactante, la solución se volvió turbia, exhibió un aumento sustancial de la turbidez y tuvo un aumento en los agregados según lo determinado por SE-UPLC, así como también una pérdida en la recuperación de proteínas por RP-UPLC. Por el contrario, el 0,1 % de polisorbato 80 protegió a los anticuerpos de la inestabilidad inducida por la agitación.

Ejemplo 9: Selección de la concentración de estabilizador

El objetivo del presente ejemplo fue identificar los niveles del componente estabilizador que podría usarse para desarrollar una formulación de producto farmacéutico que respalda anticuerpo anti-EBOV individual a 33,3 mg/ml, y 100 mg/ml del cóctel coformulado de tres anticuerpos (relación 1:1:1). Se seleccionó 10 % de sacarosa en la formulación inicial, y se analizó en cantidades variables para evaluar cualquier cambio en la estabilidad de anticuerpos: 5 %, 10 %, 15 % y 20 %. Las formulaciones base contenían 100 mg/ml de anticuerpo, 10 mM de histidina a pH 6,0 y 0,1 % de polisorbato 80.

La sacarosa se eligió como el estabilizador térmico para los anticuerpos anti-EBOV durante el desarrollo de la formulación de baja concentración. Para el desarrollo de la formulación de alta concentración, se evaluaron diferentes concentraciones de sacarosa sobre la estabilidad de los anticuerpos a concentraciones de 100 mg/ml a 25 °C durante 0 a 6 meses y a 40 °C durante 0 a 3 meses. La formación de especies de HMW disminuyó con el aumento de las concentraciones de sacarosa cuando las formulaciones se incubaron a 40 °C durante 28 días.

Este estudio demostró que la estabilidad de la proteína es comparable para la formulación que contiene 10 % p/v de sacarosa en comparación con las

formulaciones que contienen 15 % o 20 % de sacarosa, y como tal, no se necesitó sacarosa adicional más allá del 10 % p/v. Ver las Tablas 41-48.

Tabla 41: Estabilidad acelerada del anticuerpo anti-EBOV H1H17203P a alta concentración (100 mg/ml) con estabilizadores térmicos - Visual, DO y pH

Formulación base +	Estrés	Visual	DO @ 405 nm	pH
5 % de sacarosa	t=0	0	0,085	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,084	6,0
	25 °C 1 m	0	0,085	6,1
	25 °C 3 m	0	0,082	6,1
	25 °C 6 m	0	0,091	6,1
	40 °C 7d	0	0,085	6,0
	40 °C 14d	0	0,086	6,0
	40 °C 21d	0	0,086	6,1
	40 °C 28d	0	0,087	6,1
10 % de sacarosa	t=0	0	0,085	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,084	6,0
	25 °C 1 m	0	0,085	6,1
	25 °C 3 m	0	0,084	6,0
	25 °C 6 m	0	0,093	6,0
	40 °C 7d	0	0,086	6,0
	40 °C 14d	0	0,085	6,0
	40 °C 21d	0	0,086	6,0
	40 °C 28d	0	0,088	6,1
15 % de sacarosa	t=0	0	0,086	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,084	6,0
	25 °C 1 m	0	0,084	6,0
	25 °C 3 m	0	0,083	6,0
	25 °C 6 m	0	0,090	6,0
	40 °C 7d	0	0,086	6,0
	40 °C 14d	0	0,086	6,0
	40 °C 21d	0	0,087	6,0
	40 °C 28d	0	0,086	6,0
20 % de sacarosa	t=0	0	0,086	5,9
	25 °C 0,5 m	0	0,087	5,9
	25 °C 1 m	0	0,084	6,0
	25 °C 3 m	0	0,095	6,0
	25 °C 6 m	0	0,089	6,0
	40 °C 7d	0	0,086	6,0
	40 °C 14d	0	0,085	6,0
	40 °C 21d	0	0,085	6,0
	40 °C 28d	0	0,086	6,0

Tabla 42: Estabilidad acelerada del anticuerpo anti-EBOV H1H17203P a alta concentración (100 mg/ml) con estabilizadores térmicos - Resultados de SE-UPLC, RP-UPLC y CEX-UPLC

Formu- lación base +	Estrés	% de HMW por SE- UPLC	% de Monóme- -ro por SE- UPLC	% de LMW por SE- UPLC	RP- UPLC, mg/ml	% de Ácidas por CEX	% de Princi- pal por CEX	% de Bási- cas por CEX
5 % de saca- rosa	t=0	2,4	96,6	1,0	32,9	33,7	53,4	12,9
	25 °C 0,5 m	2,1	96,9	1,1	32,4	33,9	53,7	12,4
	25 °C 1 m	2,1	96,8	1,2	32,7	35,0	52,8	12,2
	25 °C 3 m	2,1	96,3	1,6	32,6	38,6	50,9	10,5
	25 °C 6 m	2,2	95,7	2,1	32,8	42,9	47,1	9,9
	40 °C 7d	2,0	96,7	1,3	32,3	35,3	52,3	12,5
	40 °C 14d	2,0	96,5	1,5	32,4	37,5	50,7	11,8
	40 °C 21d	2,1	96,1	1,8	32,5	40,0	48,7	11,3
	40 °C 28d	2,2	95,8	2,0	32,8	42,9	46,2	10,9
10 % de saca- rosa	t=0	2,4	96,6	1,0	33,1	33,7	53,3	13,0
	25 °C 0,5 m	2,0	96,9	1,1	32,7	33,9	53,6	12,5
	25 °C 1 m	2,0	96,8	1,2	33,0	35,0	52,7	12,3
	25 °C 3 m	2,1	96,3	1,6	32,8	38,4	50,8	10,8
	25 °C 6 m	2,2	95,7	2,2	33,1	42,7	47,3	10,1
	40 °C 7d	2,0	96,8	1,2	32,5	35,1	52,3	12,6
	40 °C 14d	2,0	96,5	1,5	32,7	37,6	50,6	11,9
	40 °C 21d	2,1	96,2	1,8	32,8	39,8	48,7	11,5
	40 °C 28d	2,1	95,9	2,0	32,9	42,6	46,3	11,2
15 % de saca- rosa	t=0	2,4	96,7	1,0	33,1	33,7	53,3	13,0
	25 °C 0,5 m	2,0	96,9	1,1	33,0	33,9	53,5	12,6
	25 °C 1 m	2,0	96,8	1,2	32,6	34,8	52,7	12,5
	25 °C 3 m	2,1	96,4	1,6	32,8	38,2	50,9	10,9
	25 °C 6 m	2,1	95,8	2,2	32,8	42,4	47,1	10,4

	40 °C 7d	2,0	96,8	1,2	32,9	35,1	52,4	12,6
	40 °C 14d	2,0	96,5	1,5	32,4	37,3	50,6	12,2
	40 °C 21d	2,0	96,2	1,8	32,6	39,5	48,8	11,7
	40 °C 28d	2,1	96,0	1,9	32,8	42,3	46,3	11,4
20 % de saca- rosa	t=0	2,4	96,6	1,0	33,0	33,7	53,4	12,9
	25 °C 0,5 m	2,0	96,9	1,1	32,5	33,9	53,6	12,5
	25 °C 1 m	2,0	96,8	1,2	32,8	34,8	52,7	12,5
	25 °C 3 m	2,0	96,4	1,6	32,7	37,9	50,8	11,3
	25 °C 6 m	2,1	95,8	2,1	33,1	41,9	47,5	10,7
	40 °C 7d	2,0	96,8	1,2	32,4	34,9	52,5	12,6
	40 °C 14d	1,9	96,6	1,5	32,5	37,3	50,6	12,2
	40 °C 21d	2,0	96,3	1,7	32,7	39,1	49,0	11,9
	40 °C 28d	2,0	96,0	1,9	32,8	41,9	46,4	11,7

Tabla 43: Estabilidad acelerada del anticuerpo anti-EBOV H1H17139P a alta concentración (100 mg/ml) con estabilizadores térmicos - Visual, DO y pH

Formulación base +	Estrés	Visual	DO @ 405 nm	pH
5 % de sacarosa	t=0	0	0,083	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,083	6,0
	25 °C 1 m	0	0,083	6,0
	25 °C 3 m	0	0,086	6,0
	25 °C 6 m	0	0,085	6,0
	40 °C 7d	0	0,084	6,0
	40 °C 14d	0	0,084	6,0
	40 °C 21d	0	0,084	6,0
	40 °C 28d	0	0,082	6,1
10 % de sacarosa	t=0	0	0,083	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,082	6,0
	25 °C 1 m	0	0,081	6,1
	25 °C 3 m	0	0,087	6,0
	25 °C 6 m	0	0,084	6,0
	40 °C 7d	0	0,083	6,0
	40 °C 14d	0	0,084	6,0
	40 °C 21d	0	0,084	6,0
	40 °C 28d	0	0,083	6,0

15 % sacarosa	de	t=0	0	0,083	6,0
		25 °C 0,5 m	0	0,082	6,0
		25 °C 1 m	0	0,080	6,0
		25 °C 3 m	0	0,085	6,0
		25 °C 6 m	0	0,084	6,0
		40 °C 7d	0	0,084	6,0
		40 °C 14d	0	0,082	6,0
		40 °C 21d	0	0,083	6,0
		40 °C 28d	0	0,082	6,0
20 % sacarosa	de	t=0	0	0,083	5,9
		25 °C 0,5 m	0	0,083	5,9
		25 °C 1 m	0	0,082	6,0
		25 °C 3 m	0	0,085	6,0
		25 °C 6 m	0	0,084	6,0
		40 °C 7d	0	0,085	6,0
		40 °C 14d	0	0,083	5,9
		40 °C 21d	0	0,085	6,0
		40 °C 28d	0	0,082	6,0

Tabla 44: Estabilidad acelerada del anticuerpo anti-EBOV H1H17139P a alta concentración (100 mg/ml) con estabilizadores térmicos - Resultados de SE-UPLC, RP-UPLC y CEX-UPLC

Formu- lación base +	Estrés	% de HMW por SE- UPLC	% de Monóme- ro por SE- UPLC	% de LMW por SE- UPLC	RP- UPLC, mg/ml	% de Áci- das por CEX	% de Princi- pal por CEX	% de Bási- cas por CEX
5 % de sacaro- sa	t=0	1,6	97,2	1,1	32,1	35,9	59,6	4,5
	25 °C 0,5 m	1,4	97,4	1,3	32,3	35,8	59,7	4,6
	25 °C 1 m	1,3	97,3	1,3	32,5	37,1	58,2	4,7
	25 °C 3 m	1,4	96,9	1,7	32,4	39,9	55,2	4,9
	25 °C 6 m	1,4	96,3	2,3	32,4	43,0	51,8	5,1
	40 °C 7d	1,3	97,4	1,4	32,2	37,0	58,1	4,9
	40 °C 14d	1,3	97,1	1,6	32,3	39,0	56,0	5,0
	40 °C 21d	1,3	96,9	1,9	32,5	40,8	54,1	5,1
	40 °C 28d	1,3	96,7	2,1	32,4	43,9	51,0	5,2
10 % de sacaro-	t=0	1,6	97,2	1,2	32,3	35,7	59,8	4,5
	25 °C 0,5 m	1,3	97,4	1,2	32,5	35,7	59,7	4,6

sa	25 °C 1 m	1,3	97,4	1,3	32,6	37,1	58,1	4,8
	25 °C 3 m	1,4	96,9	1,8	32,8	39,5	55,6	4,9
	25 °C 6 m	1,4	96,4	2,3	32,8	42,7	52,2	5,2
	40 °C 7d	1,3	97,4	1,4	32,4	36,8	58,4	4,9
	40 °C 14d	1,3	97,1	1,6	32,6	38,8	56,1	5,1
	40 °C 21d	1,2	96,9	1,9	32,8	40,6	54,2	5,2
	40 °C 28d	1,3	96,7	2,1	32,6	43,8	51,0	5,3
15 % de sacaro- sa	t=0	1,6	97,2	1,1	32,3	35,7	59,8	4,5
	25 °C 0,5 m	1,3	97,5	1,2	32,4	35,7	59,7	4,6
	25 °C 1 m	1,3	97,4	1,3	32,6	37,0	58,2	4,8
	25 °C 3 m	1,3	96,9	1,8	32,8	39,6	55,3	5,1
	25 °C 6 m	1,4	96,4	2,3	32,6	42,5	52,3	5,3
	40 °C 7d	1,3	97,4	1,4	32,4	36,6	58,5	4,9
	40 °C 14d	1,3	97,1	1,6	32,5	38,7	56,2	5,1
	40 °C 21d	1,2	96,9	1,9	32,8	40,5	54,2	5,3
	40 °C 28d	1,3	96,7	2,1	32,7	43,3	51,2	5,5
20 % de sacaro- sa	t=0	1,6	97,2	1,2	32,6	35,8	59,7	4,5
	25 °C 0,5 m	1,3	97,5	1,2	32,7	35,6	59,7	4,7
	25 °C 1 m	1,3	97,4	1,3	32,9	36,7	58,5	4,8
	25 °C 3 m	1,3	96,9	1,8	33,1	39,4	55,6	5,1
	25 °C 6 m	1,3	96,4	2,3	33,1	42,4	52,3	5,4
	40 °C 7d	1,3	97,4	1,4	32,7	36,6	58,4	5,0
	40 °C 14d	1,3	97,1	1,6	32,9	38,4	56,4	5,3
	40 °C 21d	1,3	96,9	1,9	33,0	40,2	54,3	5,5
	40 °C 28d	1,3	96,7	2,0	33,0	42,9	51,5	5,6

Tabla 45: Estabilidad acelerada del anticuerpo anti-EBOV H1H17161P a alta concentración (100 mg/ml) con estabilizadores térmicos - Visual, DO y pH

Formulación base +	Estrés	Visual	DO @ 405 nm	pH
5 % de sacarosa	t=0	0	0,114	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,113	6,0
	25 °C 1 m	0	0,112	6,1
	25 °C 3 m	0	0,109	6,0
	25 °C 6 m	0	0,110	6,1
	40 °C 7d	0	0,110	6,1
	40 °C 14d	0	0,112	6,0
	40 °C 21d	0	0,115	6,0
	40 °C 28d	0	0,111	6,1
10 % de sacarosa	t=0	0	0,116	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,113	6,0
	25 °C 1 m	0	0,114	6,0
	25 °C 3 m	0	0,111	6,0
	25 °C 6 m	0	0,110	6,1
	40 °C 7d	0	0,113	6,1
	40 °C 14d	0	0,114	6,0
	40 °C 21d	0	0,112	6,0
	40 °C 28d	0	0,114	6,0
15 % de sacarosa	t=0	0	0,114	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,113	6,0
	25 °C 1 m	0	0,113	6,0
	25 °C 3 m	0	0,111	6,0
	25 °C 6 m	0	0,113	6,1
	40 °C 7d	0	0,110	6,1
	40 °C 14d	0	0,110	6,0
	40 °C 21d	0	0,112	6,0
	40 °C 28d	0	0,113	6,0
20 % de sacarosa	t=0	0	0,113	6,0
	25 °C 0,5 m	0	0,113	6,0
	25 °C 1 m	0	0,113	6,0
	25 °C 3 m	0	0,109	6,0
	25 °C 6 m	0	0,113	6,0
	40 °C 7d	0	0,109	6,0
	40 °C 14d	0	0,114	6,0
	40 °C 21d	0	0,112	6,0
	40 °C 28d	0	0,112	6,0

Tabla 46: Estabilidad acelerada del anticuerpo anti-EBOV H1H17161P a alta concentración (100 mg/ml) con estabilizadores térmicos - Resultados de SE-UPLC, RP-UPLC y CEX-UPLC

Formu- lación base +	Estrés	% de HMW por SE- UPLC	% de Monó- mero por SE- UPLC	% de LMW por SE- UPLC	RP- UPLC, mg/ml	% de Ácidas por CEX	% de Princi- pal por CEX	% de Básicas por CEX
5 % de sacaro- sa	t=0	1,9	96,9	1,3	33	53,9	41,3	4,8
	40 °C 7d	1,4	97,2	1,5	33	56,5	39,0	4,5
	40 °C 14d	1,4	96,9	1,7	33	59,1	36,4	4,5
	40 °C 21d	1,5	96,5	2,0	34	61,5	33,9	4,7
	40 °C 28d	1,5	96,2	2,3	34	64,3	30,1	5,6
	25 °C 0,5 m	1,5	97,2	1,3	33	55,7	40,5	3,8
	25 °C 1 m	1,5	97,1	1,5	34	55,8	38,6	5,7
	25 °C 3 m	1,6	96,6	1,9	33	62,1	35,3	2,6
	25 °C 6 m	1,7	95,9	2,4	33	69,6	26,9	3,5
10 % de sacaro- sa	t=0	1,9	96,9	1,3	33	53,9	41,6	4,6
	40 °C 7d	1,3	97,2	1,5	34	56,3	39,0	4,7
	40 °C 14d	1,4	96,9	1,7	34	58,9	36,4	4,7
	40 °C 21d	1,5	96,6	2,0	34	61,5	33,8	4,7
	40 °C 28d	1,5	96,3	2,2	34	64,3	30,9	4,8
	25 °C 0,5 m	1,4	97,3	1,3	34	54,0	41,6	4,4
	25 °C 1 m	1,5	97,1	1,5	34	56,0	38,3	5,7
	25 °C 3 m	1,5	96,6	1,9	34	62,3	35,0	2,7
	25 °C 6 m	1,6	96,0	2,4	34	69,4	27,4	3,2
15 % de sacaro- sa	t=0	1,9	96,9	1,2	33	54,6	41,7	3,8
	40 °C 7d	1,3	97,2	1,5	33	56,5	39,6	3,9
	40 °C 14d	1,4	97,0	1,7	33	59,1	36,6	4,3
	40 °C 21d	1,4	96,6	2,0	34	61,4	33,5	5,1
	40 °C 28d	1,4	96,3	2,3	34	64,2	30,5	5,3
	25 °C 0,5 m	1,4	97,3	1,3	33	54,6	40,5	4,9
	25 °C 1 m	1,4	97,1	1,5	34	55,7	38,7	5,6
	25 °C 3	1,5	96,7	1,9	34	61,9	35,3	2,8

	m							
	25 °C 6 m	1,5	96,0	2,4	34	69,0	27,6	3,4
20 % de sacarosa	t=0	1,9	96,9	1,3	33	54,4	42,0	3,6
	40 °C 7d	1,3	97,2	1,5	33	56,3	38,8	4,9
	40 °C 14d	1,3	97,0	1,7	33	59,0	36,3	4,7
	40 °C 21d	1,4	96,7	2,0	34	61,4	33,8	4,8
	40 °C 28d	1,4	96,4	2,2	34	64,1	30,6	5,3
	25 °C 0,5 m	1,4	97,3	1,3	33	54,2	41,5	4,3
	25 °C 1 m	1,4	97,1	1,5	34	55,7	38,4	5,9
	25 °C 3 m	1,5	96,7	1,9	34	61,6	36,1	2,3
	25 °C 6 m	1,5	96,1	2,5	34	68,9	27,6	3,6

Tabla 47: Estabilidad acelerada de los anticuerpos anti-EBOV H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a alta concentración con estabilizadores térmicos - Visual, DO, pH, SE-UPLC y RP-UPLC

Formulación base +	Estrés	Visual	DO @ 405 nm	pH	% de HMW	% de Nativo	% de LMW	Con, mg/ml
5 % de sacarosa	t=0	0	0,182	6,0	2,08	96,9	1,03	96
	25 °C 0,5 m	0	0,183	6,1	2,2	96,66	1,14	98
	25 °C 1 m	0	0,187	6,1	2,34	96,39	1,26	96
	25 °C 3 m	0	0,177	6,1	2,65	95,6	1,75	95
	25 °C 6 m	0	0,184	6,1	2,95	94,84	2,2	94
	40 °C 7d	0	0,179	6,1	2,29	96,39	1,31	98
	40 °C 14d	0	0,182	6,1	2,51	95,96	1,54	98
	40 °C 21d	0	0,191	6,1	2,68	95,45	1,87	95
	40 °C 28d	0	0,191	6,1	2,83	95,11	2,06	96
	40 °C 2 m	0	0,193	6,1	3,56	93,35	3,09	96
	40 °C 3 m	0	0,205	6,1	4,22	91,61	4,17	93
10 % de sacarosa	t=0	0	0,175	6,0	2,06	96,89	1,04	97
	25 °C 0,5 m	0	0,180	6,0	2,14	96,71	1,15	99
	25 °C 1 m	0	0,195	6,1	2,26	96,44	1,29	96
	25 °C 3 m	0	0,177	6,1	2,56	95,68	1,76	95
	25 °C 6 m	0	0,182	6,1	2,84	94,93	2,22	95
	40 °C 7d	0	0,180	6,1	2,23	96,44	1,33	97
	40 °C 14d	0	0,184	6,0	2,42	96,04	1,55	98
	40 °C 21d	0	0,187	6,1	2,57	95,57	1,85	96
	40 °C 28d	0	0,187	6,1	2,69	95,26	2,05	96

	40 °C 2 m	0	0,194	6,1	3,29	93,66	3,05	97
	40 °C 3 m	0	0,208	6,1	3,93	91,89	4,18	95
15 % de sacarosa	t=0	0	0,175	6,0	2,06	96,9	1,04	96
	25 °C 0,5 m	0	0,177	6,0	2,11	96,73	1,16	98
	25 °C 1 m	0	0,178	6,1	2,22	96,52	1,26	96
	25 °C 3 m	0	0,179	6,1	2,49	95,78	1,73	96
	25 °C 6 m	0	0,179	6,1	2,72	95,09	2,19	95
	40 °C 7d	0	0,181	6,1	2,17	96,5	1,32	98
	40 °C 14d	0	0,179	6,0	2,34	96,13	1,54	99
	40 °C 21d	0	0,183	6,1	2,48	95,72	1,81	95
	40 °C 28d	0	0,189	6,1	2,61	95,33	2,06	96
	40 °C 2 m	0	0,194	6,1	3,12	93,85	3,03	96
	40 °C 3 m	0	0,201	6,1	3,71	92,13	4,15	95
20 % de sacarosa	t=0	0	0,178	6,0	2,05	96,91	1,03	96
	25 °C 0,5 m	0	0,174	6,0	2,07	96,78	1,14	99
	25 °C 1 m	0	0,178	6,1	2,2	96,51	1,31	96
	25 °C 3 m	0	0,181	6,0	2,42	95,81	1,77	95
	25 °C 6 m	0	0,175	6,1	2,64	95,13	2,22	95
	40 °C 7d	0	0,184	6,1	2,15	96,53	1,33	98
	40 °C 14d	0	0,178	6,0	2,28	96,18	1,54	99
	40 °C 21d	0	0,185	6,1	2,42	95,71	1,87	96
	40 °C 28d	0	0,192	6,1	2,53	95,41	2,06	96
	40 °C 2 m	0	0,192	6,0	3,02	93,93	3,05	96
	40 °C 2 m	0	0,199	6,1	3,51	92,37	4,13	95

Tabla 48: Estabilidad acelerada de anticuerpos anti-EBOV H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P a alta concentración (100 mg/ml) con estabilizadores térmicos - Resultados de CEX-UPLC

Formulación	Estrés	H1H17139P			H1H17203P			H1H17161P		
		% de Ácidas	% de Principal	% de Básicas	% de Ácidas	% de Principal	% de Básicas	% de Ácidas	% de Principal	% de Básicas
5 % de sacarosa	t=0	35,7	61,4	2,9	31,1	46,4	22,5	46,1	48,8	5,1
	40 °C	37,0	59,5	3,5	32,5	45,6	21,9	50,4	44,3	5,3
	40 °C	39,1	57,1	3,8	34,7	44,1	21,3	53,8	41,1	5,1
	40 °C	41,2	55,0	3,8	36,7	43,0	20,4	54,8	39,0	6,2
	40 °C	43,7	52,2	4,1	38,7	41,1	20,2	56,7	36,2	7,1
	40 °C	53,2	42,5	4,3	46,1	31,7	22,2	71,2	24,4	4,4
	40 °C	60,6	35,0	4,4	53,6	28,3	18,1	79,8	16,2	4,0
	25 °C	35,7	61,2	3,2	31,3	46,4	22,3	48,0	46,5	5,5
	25 °C	36,3	60,4	3,3	31,8	46,8	21,3	46,7	46,7	6,5
	25 °C	39,3	57,6	3,1	35,3	45,3	19,4	56,9	40,4	2,6
	25 °C	43,8	52,5	3,8	39,3	42,1	18,5	63,3	32,3	4,4

10 % de saca- rosa	t=0	35,9	61,2	2,9	31,1	46,4	22,5	46,1	48,8	5,1
	40 °C	36,9	59,5	3,6	32,5	45,5	22,0	50,2	44,0	5,8
	40 °C	38,9	57,2	3,9	34,5	44,1	21,5	53,6	41,3	5,1
	40 °C	41,1	54,9	4,0	36,6	43,0	20,4	54,1	38,6	7,3
	40 °C	43,4	52,4	4,2	38,6	41,3	20,1	56,8	35,7	7,5
	40 °C	52,7	42,9	4,4	45,8	32,4	21,8	71,0	24,6	4,5
	40 °C	59,5	36,5	4,1	52,9	28,4	18,6	81,0	15,3	3,8
	25 °C	35,6	61,2	3,2	31,3	46,3	22,4	48,0	46,6	5,4
	25 °C	36,2	60,3	3,5	31,7	46,9	21,3	46,5	46,5	7,0
	25 °C	39,1	57,7	3,2	35,1	45,1	19,8	56,7	40,2	3,1
	25 °C	44,0	52,3	3,7	39,2	41,8	19,1	62,6	32,7	4,7
15 % de saca- rosa	t=0	35,9	61,2	2,9	31,1	46,5	22,4	46,0	48,7	5,4
	40 °C	36,7	59,5	3,8	32,5	45,6	21,9	50,5	43,9	5,6
	40 °C	38,7	57,4	3,9	34,5	44,1	21,4	53,1	41,2	5,6
	40 °C	40,9	54,9	4,1	36,4	42,9	20,7	53,4	38,9	7,7
	40 °C	43,1	52,7	4,2	38,4	41,5	20,1	57,1	36,0	6,9
	40 °C	52,4	43,0	4,6	45,5	32,8	21,8	70,1	24,9	4,9
	40 °C	59,4	36,3	4,4	54,2	29,4	16,4	81,2	15,5	3,2
	25 °C	35,6	61,2	3,2	31,3	46,5	22,2	47,9	46,7	5,4
	25 °C	36,2	60,5	3,3	31,7	47,0	21,3	46,7	46,6	6,7
	25 °C	39,0	57,7	3,3	35,0	44,9	20,1	56,1	39,6	4,3
	25 °C	43,5	52,7	3,8	38,6	41,8	19,6	62,2	33,4	4,4
20 % de sacaro sa	t=0	35,9	61,2	2,9	31,1	46,2	22,7	46,1	48,9	5,0
	40 °C	36,7	59,6	3,6	32,4	45,1	22,5	50,1	44,5	5,4
	40 °C	38,6	57,4	4,0	34,2	43,9	21,9	53,5	41,1	5,4
	40 °C	40,6	55,2	4,2	36,2	43,0	20,8	53,5	38,9	7,6
	40 °C	42,9	52,7	4,4	37,8	41,3	20,9	57,0	36,7	6,3
	40 °C	51,7	43,6	4,7	44,8	32,5	22,7	66,4	27,4	6,2
	40 °C	58,8	36,8	4,5	55,3	30,7	14,0	79,7	14,4	5,8
	25 °C	35,6	61,2	3,2	31,3	46,4	22,3	47,9	46,7	5,5
	25 °C	35,7	60,9	3,4	31,6	46,8	21,6	46,6	45,8	7,7
	25 °C	38,6	58,1	3,3	34,7	45,4	20,0	56,9	40,6	2,5
	25 °C	43,1	53,0	3,9	38,4	42,0	19,7	61,7	33,3	5,1

Ejemplo 10: Estudios de estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada (FDS) (12 meses) para FDS H1H17203P C2P1, FDS H1H17139P C2P1 y FDS H1H17161P C2P1 formulados individualmente

Las FDS clínicas y de investigación se fabrican mediante el uso de procesos comparables, y los métodos usados para evaluar la estabilidad del material de investigación son similares a los métodos usados para evaluar la estabilidad del material destinado a estudios clínicos. En consecuencia, los resultados obtenidos a partir de los estudios de estabilidad en investigación pueden usarse para

evaluar la estabilidad del material destinado a estudios clínicos.

El presente estudio de estabilidad en almacenamiento a largo plazo evaluó la estabilidad de FDS H1H17203P C2P1, FDS H1H17139P C2P1 y FDS H1H17161P C2P1 durante 12 meses de almacenamiento a -80 °C y -30 °C. FDS H1H17203P C2P1, FDS H1H17139P C2P1 y FDS H1H17161P C2P1 son estables durante al menos 12 meses cuando se almacenan a -80 °C y -30 °C.

Los estudios de estabilidad a largo plazo en curso continúan durante todo el protocolo de estabilidad, como se presenta en la Tabla 49. Las muestras se analizaron siguiendo el plan de análisis descrito en la Tabla 50. El plan de análisis, los criterios de aceptación preliminares y el plan de obtención de muestras se proporcionan en la Tabla 50.

Tabla 49: Resumen de los estudios de estabilidad de la sustancia farmacéutica formulada para H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P

Núm. de estudio	Tipo de estudio	Cierre del contenedor	Condiciones de almacenamiento	Duración del estudio	Datos disponibles
H1H17203P-SS018	Investigación	Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre con revestimiento de silicona	-80 °C	84 meses	12 meses
			-30 °C	84 meses	12 meses
			-20 °C	3 meses	3 meses
			5 °C	56 días	56 días
			25 °C/60 % de HR	28 días	28 días
			40 °C/75 % de HR	28 días	28 días
			Agitación	120 minutos	120 minutos
			Congelación/descongelación	8 ciclos	8 ciclos
H1H17139P-SS018	Investigación	Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre con revestimiento de silicona	-80 °C	84 meses	12 meses
			-30 °C	84 meses	12 meses
			-20 °C	3 meses	3 meses
			5 °C	56 días	56 días
			25 °C/60 % de HR	28 días	28 días
			40 °C/75 % de HR	28 días	28 días
			Agitación	120 minutos	120 minutos
			Congelación/descongelación	8 ciclos	8 ciclos

Núm. de estudio	Tipo de estudio	Cierre del contenedor	Condiciones de almacenamiento	Duración del estudio	Datos disponibles
			ción		
H1H1716 1P- SS018	Investi- gación	Vial de polycarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre con revestimiento de silicona	-80 °C	84 meses	12 meses
			-30 °C	84 meses	12 meses
			-20 °C	3 meses	3 meses
			5 °C	56 días	56 días
			25 °C/60 % de HR	28 días	28 días
			40 °C/75 % de HR	28 días	28 días
			Agitación	120 minutos	120 minutos
			Congelación/descongelación	8 ciclos	8 ciclos

HR, humedad relativa

Tabla 50: Plan de análisis y criterios de aceptación preliminares para los estudios de estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17203P, H1H17139P, H1H17161P

Ensayo	Criterios de aceptación preliminares	Muestras de investigación a analizar
Forma física / Condición	Líquido esencialmente libre de partículas visibles	Todas las muestras
Transparencia	No más turbia que la suspensión de referencia IV	Todas las muestras
Color	Color no más intenso que el de la solución de referencia BY2	Todas las muestras
pH	5,8 a 6,2	Todas las muestras
Contenido total de proteína (A280)	90 a 110 mg/ml	N/C
Contenido total de proteína (RP-UPLC)	90 a 110 mg/ml	Todas las muestras
Potencia: Ensayo de neutralización de pseudovirus	50 % a 150 % de estándar de referencia	t=0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a -80 °C y -30 °C, 3 meses (-20 °C), 56 días (5 °C), 28 días (25 °C/60 % de HR) y 28 días (40 °C/75 % de HR)

Ensayo	Criterios de aceptación preliminares	Muestras de investigación a analizar
Potencia: Ensayo de ADCC	50 % a 150 % de estándar de referencia	t=0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a -80 °C y -30 °C, 3 meses (-20 °C), 56 días (5 °C), 28 días (25 °C/60 % de HR) y 28 días (40 °C/75 % de HR)
Pureza por MCE reductora a. % de Pureza b. % de NGHC c. % de LMW	a. Pico de HC + pico de LC $\geq$ 80 % del área total del pico b. $\leq$ 15 % de NGHC c. $\leq$ 10 % de especies de LMW	t=0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a -80 °C y -30 °C, 3 meses (-20 °C), 56 días (5 °C), 28 días (25 °C/60 % de HR) y 28 días (40 °C/75 % de HR)
Pureza por MCE no reductora a. % de Pureza b. % de LMW c. % de HMW	a. MP + PGMP $\geq$ 80 % del área total del pico b. $\leq$ 15 % de especies de LMW c. N/C	t=0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a -80 °C y -30 °C, 3 meses (-20 °C), 56 días (5 °C), 28 días (25 °C/60 % de HR) y 28 días (40 °C/75 % de HR)
Pureza por SE-UPLC a. % de Pureza del pico principal b. % de LMW c. % de HMW	a. $\geq$ 90 % del área total del pico b. $\leq$ 5 % de especies de LMW c. $\leq$ 7 % de especies de HMW	Todas las muestras
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC a. % de Región 1 b. % de Región 2 c. % de Región 3	a. $\leq$ 65 % Región 1 b. $\geq$ 35 % Región 2 c. $\leq$ 20 % Región 3	Todas las muestras

A₂₈₀, absorbancia a 280 nm; CEX, cromatografía de intercambio catiónico; SE-UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento de exclusión portamaño; HMW, peso molecular alto; HC, cadena pesada; LC, cadena ligera; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada

Resultados del estudio de estabilidad de la sustancia farmacéutica formulada

Resultados del estudio de estabilidad en investigación del almacenamiento a largo plazo del FDS H1H17203P

En los estudios de estabilidad en investigación, se determinó que el FDS C2P1 es física y químicamente estable cuando se almacena a -80 °C y -30 °C (Tabla 51 y Tabla 52, respectivamente). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. Los estudios de estabilidad en investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento a largo plazo continuarán durante 84 meses.

Resultados del estudio de estabilidad acelerada del FDS H1H17203P

Los estudios de estabilidad en investigación indicaron que el FDS C2P1 fue física y químicamente estable cuando se almacenó a -20 °C durante 3 meses y a 5 °C durante 56 días (Tabla 53 y Tabla 54). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. Después del almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (Tabla 54) durante 28 días, se observó un aumento menor de 0,3 % en las especies de HMW por SE-UPLC para H1H17203P. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados después de la incubación a 25 °C/60 % de HR durante 28 días. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento aceleradas de -20 °C, 5 °C y 25 °C/60 % de HR.

Resultados del estudio de estabilidad frente al estrés del FDS H1H17203P

Los resultados del estudio de estabilidad en investigación del análisis del FDS C2P1 en condiciones de estrés de 40 °C/75 % de HR se proporcionan en la Tabla 55. Se observó un aumento del 1,2 % en HMW y del 0,4 % en especies de LMW por SE-UPLC; y se observaron aumentos del 11,1 % en la Región 1 por CEX-UPLC. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados. El FDS C2P1 mantuvo la potencia tras la incubación a 40 °C/75 % de HR durante 28 días. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento de estrés de 40 °C/75 % de HR.

Los resultados de estabilidad en investigación del análisis del FDS C2P1 después de las condiciones de agitación y congelación/descongelación se proporcionan en la Tabla 56. El FDS C2P1 fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos o cuando se sometió a 8 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -30 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se observó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química de H1H17203P en ninguno de los atributos monitoreados. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en

condiciones de agitación y congelación/descongelación.

Resultados del estudio de estabilidad en investigación del almacenamiento a largo plazo del FDS H1H17139P

En los estudios de estabilidad en investigación, se determinó que el FDS C2P1 es física y químicamente estable cuando se almacena a -80 °C y -30 °C (Tabla 57 y Tabla 58). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. Los estudios de estabilidad en investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento a largo plazo continuarán durante 84 meses.

Resultados del estudio de estabilidad acelerada del FDS H1H17139P

Los estudios de estabilidad en investigación indicaron que el FDS C2P1 fue física y químicamente estable cuando se almacenó a -20 °C durante 3 meses y a 5 °C durante 56 días (Tabla 59 y Tabla 60). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. Después del almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (Tabla 60) durante 28 días, se observó un aumento menor de 0,3 % en las especies de HMW por SE-UPLC. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados después de la incubación a 25 °C/60 % de HR durante 28 días. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento aceleradas de -20 °C, 5 °C y 25 °C/60 % de HR.

Resultados del estudio de estabilidad frente al estrés del FDS H1H17139P

Los resultados del estudio de estabilidad en investigación del análisis del FDS C2P1 en condiciones de estrés de 40 °C/75 % de HR se proporcionan en la Tabla 61. Se observó un aumento de 0,9 % en las especies de HMW y de 0,4 % en las especies de LMW por SE-UPLC; y se observó un aumento de 11,1 % en la Región 1 y una disminución de 12,9 % en la Región 2 por CEX-UPLC. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados. El FDS C2P1 mantuvo la potencia tras la incubación a 40 °C/75 % de HR durante 28 días. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento de estrés de 40 °C/75 % de HR.

Los resultados de estabilidad en investigación del análisis del FDS C2P1 después de las condiciones de agitación y congelación/descongelación se proporcionan en la Tabla 62. El FDS C2P1 fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos o cuando se sometió a 8

ciclos de congelación/descongelación (congelación a -30 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se observó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química del H1H17139P en ninguno de los atributos monitoreados. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de agitación y congelación/descongelación.

Resultados del estudio de estabilidad en investigación del almacenamiento a largo plazo del FDS H1H17161P

En los estudios de estabilidad en investigación, se determinó que el FDS C2P1 es física y químicamente estable cuando se almacena a -80 °C y -30 °C (Tabla 63 y Tabla 64). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. Los estudios de estabilidad en investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento a largo plazo continuarán durante 84 meses.

Resultados del estudio de estabilidad acelerada del FDS H1H17161P

Los estudios de estabilidad en investigación indicaron que el FDS C2P1 fue física y químicamente estable cuando se almacenó a -20 °C durante 3 meses y a 5 °C durante 56 días (Tabla 65 y Tabla 66). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados. Después del almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (Tabla 66) durante 28 días, se observó un aumento menor de 0,4 % en las especies de HMW por SE-UPLC. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados después de la incubación a 25 °C/60 % de HR durante 28 días. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento aceleradas de -20 °C, 5 °C y 25 °C/60 % de HR.

Resultados del estudio de estabilidad frente al estrés del FDS H1H17161P

Los resultados del estudio de estabilidad en investigación del análisis del FDS C2P1 en condiciones de estrés de 40 °C/75 % de HR se proporcionan en la Tabla 67. Se observó un aumento de 1,0 % en las especies de HMW y de 0,4 % en las especies de LMW por SE-UPLC; y se observó un aumento de 14,4 % en la Región 1 por CEX-UPLC. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados. El FDS C2P1 mantuvo la potencia tras la incubación a 40 °C/75 % de HR durante 28 días. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de almacenamiento de estrés de 40 °C/75 % de HR.

Los resultados de estabilidad en investigación del análisis del FDS C2P1 después de las condiciones de agitación y congelación/descongelación se proporcionan en la Tabla 68. El FDS C2P1 fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos o cuando se sometió a 8 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -30 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se observó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química de H1H17161P en ninguno de los atributos monitoreados. Se han completado los estudios de investigación que examinan el FDS C2P1 en condiciones de agitación y congelación/descongelación.

Conclusiones sobre la estabilidad

FDS H1H17203P C2P1, FDS H1H17139P C2P1 y FDS H1H17161P C2P1 pueden soportar cada uno exposiciones cortas a la refrigeración, temperatura ambiente y estrés por agitación, y pueden congelarse y descongelarse sin comprometer la estabilidad física o química de la proteína. Estos resultados indican que el FDS H1H17203P C2P1, el FDS H1H17139P C2P1 y el FDS H1H17161P C2P1 son estables durante la fabricación del producto farmacéutico (DP) combinado de tres anticuerpos. Debe evitarse la exposición de FDS H1H17203P C2P1, FDS H1H17139P C2P1 y FDS H1H17161P C2P1 a temperaturas superiores a la temperatura ambiente.

Condiciones de almacenamiento recomendadas

La temperatura de almacenamiento a largo plazo recomendada para FDS H1H17203P C2P1, FDS H1H17139P C2P1 y FDS H1H17161P C2P1 es -30 °C.

Tabla 51: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17203P C2P1 a 100 mg/ml almacenada a -80 °C

Formulación	H1H17203P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Contenedor/Cierre	Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE					
Ensayo	Duración del almacenamiento a -80 °C (meses)					
	0	1	3	6	9	12
Forma física / Condición	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH	6,0	6,0	6,0	6,1	6,0	6,0

Formulación		H1H17203P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE					
Ensayo		Duración del almacenamiento a -80 °C (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,7	99,7	98,7	98,1	99,0	99,2
MCE no reductora (%)	Pureza	95,9	NR	NR	95,9	NR	95,7
	LMW	3,6	NR	NR	3,5	NR	4,0
MCE reductora (%)	Pureza	91,1	NR	NR	92,0	NR	92,1
	NGHC	7,2	NR	NR	7,0	NR	7,2
	LMW	0,4	NR	NR	0,2	NR	0,2
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC (%)	Región 1	34,7	34,7	34,5	34,5	34,7	34,7
	Región 2	53,5	53,5	53,7	53,6	54,0	54,0
	Región 3	11,8	11,8	11,8	11,9	11,3	11,3
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	90	NR	NR	96	NR	104
	Ensayo de ADCC	80	NR	NR	118	NR	91

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos;

Tabla 52: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17203P C2P1 a 100 mg/ml almacenada a -30 °C

Formulación		H1H17203P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE					
Ensayo		Duración del almacenamiento a -30 °C (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Forma física / Condición		LEFV P	LEFV P	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,1	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,7	99,2	98,0	98,3	99,0	99,6
MCE no reductora (%)	Pureza	95,9	NR	NR	96,0	NR	95,6
	LMW	3,6	NR	NR	3,5	NR	4,1
MCE reductora (%)	Pureza	91,1	NR	NR	91,1	NR	92,2
	NGHC	7,2	NR	NR	7,3	NR	7,0
	LMW	0,4	NR	NR	0,4	NR	0,2
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC (%)	Región 1	34,7	34,8	34,5	34,5	34,7	34,7
	Región 2	53,5	53,5	53,7	53,5	53,9	54,0
	Región 3	11,8	11,8	11,8	12,0	11,4	11,3
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudo-virus	90	NR	NR	90	NR	106
	Ensayo de ADCC	80	NR	NR	101	NR	84

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 53: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17203P C2P1 a 100 mg/ml — Efecto de condiciones aceleradas a -20 °C

Formulación		H1H17203P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0			
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE			
Ensayo		Duración del almacenamiento a -20 °C (meses)			
		0	1	2	3
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,7	99,8	98,2	99,0
MCE no reductora (%)	Pureza	95,9	NR	NR	95,9
	LMW	3,6	NR	NR	3,4
MCE reductora (%)	Pureza	91,1	NR	NR	91,9
	NGHC	7,2	NR	NR	6,9
	LMW	0,4	NR	NR	0,4
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,1	99,1	99,1	99,1
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,8	0,8	0,8	0,8
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,7	34,7	34,5	34,5
	Región 2	53,5	53,5	53,8	53,6
	Región 3	11,8	11,8	11,7	11,9
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	90	NR	NR	92
	Ensayo de ADCC	80	NR	NR	102

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos;

Tabla 54: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17203P C2P1 a 100 mg/ml — Efecto de condiciones aceleradas

Formulación		H1H17203P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0						
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE						
Ensayo		t=0	Almacenamiento a 5 °C (días)			Almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (días)		
			14	28	56	7	14	28
Forma física / Condición		LEFVP	LEFV P	LEF VP	LEF VP	LEFVP	LEF VP	LEFV P
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,7	98,2	100,0	99,0	99,6	98,0	100,9
MCE no reductora (%)	Pureza	95,9	NR	NR	95,5	NR	NR	95,5
	LMW	3,6	NR	NR	3,5	NR	NR	3,8
MCE reductora (%)	Pureza	91,1	NR	NR	92,2	NR	NR	91,6
	NGHC	7,2	NR	NR	7,0	NR	NR	7,1
	LMW	0,4	NR	NR	0,1	NR	NR	0,5
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,1	99,1	99,0	99,0	99,0	98,9	98,8
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
	HMW	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	1,1
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,7	34,7	34,7	34,4	34,6	34,9	35,5
	Región 2	53,5	53,6	53,6	53,9	53,8	53,8	53,7
	Región 3	11,8	11,7	11,7	11,7	11,6	11,3	10,9
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	90	NR	NR	87	NR	NR	86
	Ensayo de ADCC	80	NR	NR	142	NR	NR	98

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica;

RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 55: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17203P C2P1 a 100 mg/ml – Efectos de condiciones de estrés

Formulación		H1H17203P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0			
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE			
Ensayo		t=0	Almacenamiento a 40 °C/75 % de HR (días)		
			7	14	28
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,7	100,8	99,2	102,3
MCE no reductora (%)	Pureza	95,9	NR	NR	93,6
	LMW	3,6	NR	NR	5,6
MCE reductora (%)	Pureza	91,1	NR	NR	91,5
	NGHC	7,2	NR	NR	6,9
	LMW	0,4	NR	NR	0,4
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,1	98,8	98,4	97,5
	LMW	0,1	0,2	0,3	0,5
	HMW	0,8	1,0	1,4	2,0
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,7	36,0	39,5	45,8
	Región 2	53,5	52,7	49,8	43,8
	Región 3	11,8	11,3	10,7	10,4
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	90	NR	NR	85
	Ensayo de ADCC	80	NR	NR	103

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 56: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica de formulación H1H17203P C2P1 a 100 mg/ml - Efecto de la agitación y la congelación y descongelación

Formulación		H1H17203P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0				
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE				
Ensayo		t=0	Agitación (minutos)		Congelación/descon-gelación (ciclos)	
			60	120	4	8
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,7	100,2	100,3	99,7	100,2
MCE no reductora (%)	Pureza	95,9	NR	96,2	NR	95,9
	LMW	3,6	NR	3,4	NR	3,5
MCE reductora (%)	Pureza	91,1	NR	91,5	NR	91,4
	NGHC	7,2	NR	7,3	NR	7,0
	LMW	0,4	NR	0,2	NR	0,3
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,7	34,8	34,7	34,8	34,8
	Región 2	53,5	53,5	53,6	53,5	53,5
	Región 3	11,8	11,8	11,7	11,8	11,7
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutraliza-ción de pseudovirus	90	NR	89	NR	86
	Ensayo de ADCC	80	NR	109	NR	96

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 57: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17139P C2P1 a 100 mg/ml almacenada a -80 °C

Formulación		H1H17139P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE					
Ensayo		Duración del almacenamiento a -80 °C (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Forma física / Condición		LEFVP	LEFV P	LEFVP	LEFV P	LEFV P	LEFV P
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,1	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		94,4	93,8	96,8	95,3	97,0	96,8
MCE no reductora (%)	Pureza	95,0	NR	NR	95,2	NR	94,9
	LMW	4,8	NR	NR	4,7	NR	4,8
MCE reductora (%)	Pureza	95,6	NR	NR	95,7	NR	95,7
	NGHC	3,4	NR	NR	3,4	NR	3,5
	LMW	0,2	NR	NR	0,2	NR	0,1
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,3	99,4	99,3	99,3	99,4	99,3
	LMW	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC (%)	Región 1	34,3	34,2	34,2	32,9	32,8	34,1
	Región 2	62,1	62,2	62,2	64,0	64,0	62,2
	Región 3	3,6	3,6	3,6	3,1	3,1	3,6
Potencia relativa (%)	Ensayo de ADCC	92	NR	NR	99	NR	91

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 58: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17139P C2P1 a 100 mg/ml almacenada a -30 °C

Formulación		H1H17139P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE					
Ensayo		Duración del almacenamiento a -30 °C (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Forma física / Condición		LEFVP	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,1	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		94,4	94,2	96,4	95,9	96,2	97,4
MCE no reductora (%)	Pureza	95,0	NR	NR	94,7	NR	94,9
	LMW	4,8	NR	NR	5,0	NR	4,9
MCE reductora (%)	Pureza	95,6	NR	NR	95,8	NR	96,0
	NGHC	3,4	NR	NR	3,3	NR	3,3
	LMW	0,2	NR	NR	0,2	NR	0,1
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3	99,3
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC (%)	Región 1	34,3	34,2	34,2	33,1	32,8	34,2
	Región 2	62,1	62,2	62,2	63,9	64,1	62,1
	Región 3	3,6	3,6	3,6	3,0	3,1	3,8
Potencia relativa (%)	Ensayo de ADCC	92	NR	NR	79	NR	94

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 59: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17139P C2P1 a 100 mg/ml — Efecto de condiciones aceleradas a -20 °C

Formulación		H1H17139P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0			
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE			
Ensayo		Duración del almacenamiento a -20 °C (meses)			
		0	1	2	3
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,1
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		94,4	94,7	94,4	96,8
MCE no reductora (%)	Pureza	95,0	NR	NR	95,1
	LMW	4,8	NR	NR	4,8
	HMW	0,2	NR	NR	0,2
MCE reductora (%)	Pureza	95,6	NR	NR	95,7
	NGHC	3,4	NR	NR	3,4
	LMW	0,2	NR	NR	0,1
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,3	99,3	99,3	99,3
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,6	0,6	0,6	0,6
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,3	34,2	34,3	34,2
	Región 2	62,1	62,2	62,1	62,2
	Región 3	3,6	3,6	3,6	3,6
Potencia relativa (%)	Ensayo de ADCC	92	NR	NR	107

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 60: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17139P C2P1 a 100 mg/ml — Efecto de condiciones aceleradas

Formulación		H1H17139P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0						
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE						
Ensayo		t=0	Almacenamiento a 5 °C (días)			Almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (días)		
			14	28	56	7	14	28
Forma física / Condición		LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	5,9	6,1	6,0	6,1	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		94,4	94,2	94,7	99,5	93,7	94,7	94,9
MCE no reductora (%)	Pureza	95,0	NR	NR	94,9	NR	NR	94,8
	LMW	4,8	NR	NR	4,8	NR	NR	5,1
MCE reductor a (%)	Pureza	95,6	NR	NR	95,9	NR	NR	95,7
	NGHC	3,4	NR	NR	3,2	NR	NR	3,4
	LMW	0,2	NR	NR	0,1	NR	NR	0,2
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,3	99,3	99,3	99,2	99,2	99,1	99,0
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8	0,9
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,3	34,1	34,1	34,1	33,9	34,2	34,7
	Región 2	62,1	62,2	62,2	62,2	62,2	61,7	61,1
	Región 3	3,6	3,7	3,7	3,8	3,9	4,1	4,3
Potencia relativa (%)	Ensayo de ADCC	92	NR	NR	113	NR	NR	100

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 61: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17139P C2P1 a 100 mg/ml – Efectos de condiciones de estrés

Formulación		H1H17139P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0			
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE			
Ensayo		T = 0	Duración del almacenamiento a 40 °C/75 % de HR (días)		
			7	14	28
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		94,4	95,3	95,4	96,7
MCE no reductora (%)	Pureza	95,0	NR	NR	92,3
	LMW	4,8	NR	NR	6,8
MCE reductora (%)	Pureza	95,6	NR	NR	94,7
	NGHC	3,4	NR	NR	3,4
	LMW	0,2	NR	NR	0,7
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,3	98,8	98,5	98,0
	LMW	0,1	0,2	0,3	0,5
	HMW	0,6	1,0	1,2	1,5
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,3	36,3	39,3	45,4
	Región 2	62,1	59,0	55,6	49,2
	Región 3	3,6	4,7	5,1	5,5
Potencia relativa (%)	Ensayo de ADCC	92	NR	NR	97

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 62: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica de formulación H1H17139P C2P1 a 100 mg/ml - Efecto de la agitación y la congelación y descongelación

Formulación		H1H17139P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0				
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE				
Ensayo		t=0	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
			60	120	4	8
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		94,4	94,0	94,4	94,4	94,9
MCE no reductora (%)	Pureza	95,0	NR	95,0	NR	94,9
	LMW	4,8	NR	4,9	NR	4,8
MCE reductora (%)	Pureza	95,6	NR	95,9	NR	95,8
	NGHC	3,4	NR	3,3	NR	3,2
	LMW	0,2	NR	0,1	NR	0,2
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,3	99,3	99,3	99,3	99,4
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
CEX-UPLC (%)	Región 1	34,3	34,3	34,2	34,1	34,3
	Región 2	62,1	62,1	62,2	62,2	62,1
	Región 3	3,6	3,6	3,7	3,7	3,6
Potencia relativa (%)	Ensayo de ADCC	92	NR	120	NR	92

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Tabla 63: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17161P C2P1 a 100 mg/ml almacenada a -80 °C

Formulación		H1H17161P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE					
Ensayo		Duración del almacenamiento a -80 °C (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH		6,0	6,0	6,1	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		95,8	95,8	95,8	97,0	99,1	97,3
MCE no reductora (%)	Pureza	95,7	NR	NR	95,7	NR	95,6
	LMW	3,9	NR	NR	3,9	NR	3,9
MCE reductora (%)	Pureza	96,0	NR	NR	96,2	NR	96,2
	NGHC	3,5	NR	NR	3,3	NR	3,5
	LMW	0,0	NR	NR	0,0	NR	0,0
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	98,8	98,8	98,8	98,7	98,5	98,8
	LMW	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1
	HMW	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC (%)	Región 1	48,2	47,9	47,7	47,7	48,2	48,7
	Región 2	45,2	45,5	46,1	46,9	45,3	45,3
	Región 3	6,7	6,6	6,2	5,4	6,6	6,1
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	110	NR	NR	137	NR	112

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento

Tabla 64: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17161P C2P1 a 100 mg/ml almacenada a -30 °C

Formulación		H1H17161P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0					
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE					
Ensayo		Duración del almacenamiento a -30 °C (meses)					
		0	1	3	6	9	12
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH		6,0	6,0	6,1	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		95,8	95,8	95,8	96,8	99,4	97,5
MCE no reductora (%)	Pureza	95,7	NR	NR	95,7	NR	95,7
	LMW	3,9	NR	NR	3,9	NR	3,9
MCE reductora (%)	Pureza	96,0	NR	NR	96,1	NR	96,2
	NGHC	3,5	NR	NR	3,4	NR	3,3
	LMW	0,0	NR	NR	0,0	NR	0,0
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	98,8	98,8	98,8	98,7	98,5	98,8
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
	HMW	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC (%)	Región 1	48,2	48,0	47,7	47,6	48,3	48,9
	Región 2	45,2	45,4	46,2	47,1	45,1	45,1
	Región 3	6,7	6,6	6,2	5,3	6,6	6,0
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	110	NR	NR	132	NR	106

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento

Tabla 65: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17161P C2P1 a 100 mg/ml — Efecto de condiciones aceleradas a -20 °C

Formulación		H1H17161P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0			
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE			
Ensayo		Duración del almacenamiento a -20 °C (meses)			
		0	1	2	3
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH		6,0	6,0	6,0	6,1
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		95,8	96,3	95,9	95,6
MCE no reductora (%)	Pureza	95,7	NR	NR	95,6
	LMW	3,9	NR	NR	3,9
MCE reductora (%)	Pureza	96,0	NR	NR	95,9
	NGHC	3,5	NR	NR	3,7
	LMW	0,0	NR	NR	0,0
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	98,8	98,8	98,7	98,8
	LMW	0,1	0,1	0,2	0,1
	HMW	1,1	1,1	1,1	1,1
CEX-UPLC (%)	Región 1	48,2	47,8	47,7	47,8
	Región 2	45,2	45,5	46,1	46,0
	Región 3	6,6	6,7	6,2	6,2
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	110	NR	NR	126

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento

Tabla 66: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17161P C2P1 a 100 mg/ml — Efecto de condiciones aceleradas

Formulación		H1H17161P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0						
Contenedor/Cierre		Vial de polycarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE						
Ensayo		t=0	Almacenamiento a 5 °C (días)			Almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (días)		
			14	28	56	7	14	28
Forma física / Condición		LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEF VP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		95,8	97,2	97,1	96,9	95,1	97,2	96,7
MCE no reductora (%)	Pureza	95,7	NR	NR	95,5	NR	NR	95,1
	LMW	3,9	NR	NR	3,9	NR	NR	4,0
MCE reductora (%)	Pureza	96,0	NR	NR	96,1	NR	NR	95,7
	NGHC	3,5	NR	NR	3,4	NR	NR	3,5
	LMW	0,0	NR	NR	0,0	NR	NR	0,1
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	98,8	98,8	98,7	98,5	98,6	98,5	98,3
	LMW	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	HMW	1,1	1,1	1,2	1,3	1,2	1,4	1,5
CEX-UPLC (%)	Región 1	48,2	48,1	48,4	48,0	49,0	49,3	50,1
	Región 2	45,2	45,3	44,9	45,6	44,3	43,6	42,8
	Región 3	6,6	6,7	6,8	6,4	6,6	7,0	7,1
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	110	NR	NR	108	NR	NR	111

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento

Tabla 67: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada H1H17161P C2P1 a 100 mg/ml – Efectos de las condiciones de estrés

Formulación		H1H17161P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0			
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE			
Ensayo		T = 0	Duración del almacenamiento a 40 °C/75 % de HR (días)		
			7	14	28
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH		6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		95,8	97,0	96,4	97,4
MCE no reductora (%)	Pureza	95,7	NR	NR	93,0
	LMW	3,9	NR	NR	5,7
MCE reductora (%)	Pureza	96,0	NR	NR	95,0
	NGHC	3,5	NR	NR	3,5
	LMW	0,0	NR	NR	0,4
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	98,8	98,2	97,9	97,4
	LMW	0,1	0,2	0,3	0,5
	HMW	1,1	1,5	1,8	2,1
CEX-UPLC (%)	Región 1	48,2	52,1	56,2	62,6
	Región 2	45,2	40,5	36,4	30,3
	Región 3	6,6	7,4	7,4	7,1
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	110	NR	NR	114

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; DO, densidad óptica; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento

Tabla 68: Estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica de formulación H1H17161P C2P1 a 100 mg/ml - Efecto de la agitación y la congelación y descongelación

Formulación		H1H17161P a 100 mg/ml, 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0				
Contenedor/Cierre		Vial de policarbonato irradiado con rayos gamma de 5 ml con cierre de HDPE				
Ensayo		t=0	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
			60	120	4	8
Forma física / Condición		0	0	0	0	0
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	5,9
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		95,8	96,5	94,0	96,2	96,2
MCE no reductora (%)	Pureza	95,7	NR	95,8	NR	95,7
	LMW	3,9	NR	3,8	NR	3,8
MCE reductora (%)	Pureza	96,0	NR	96,2	NR	96,1
	NGHC	3,5	NR	3,4	NR	3,4
	LMW	0,0	NR	0,0	NR	0,0
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	98,8	98,8	98,8	98,8	98,8
	LMW	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
	HMW	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
CEX-UPLC (%)	Región 1	48,2	48,7	48,6	48,6	48,6
	Región 2	45,2	44,9	44,9	44,9	44,8
	Región 3	6,6	6,5	6,5	6,6	6,6
Potencia relativa (%)	Ensayo de neutralización de pseudovirus	110	NR	114	NR	115

CEX, intercambio catiónico; FDS, sustancia farmacéutica formulada; FDG, grupo de desarrollo de formulaciones; HDPE, polietileno de alta densidad; HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; NGHC, cadena pesada no glicosilada; NR, no requerido por el protocolo; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento

Ejemplo 11: Estudios de estabilidad en investigación de la sustancia farmacéutica formulada para la coformulación de DP H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P C2P1

Se realizaron estudios de estabilidad en investigación para evaluar las condiciones de almacenamiento a largo plazo, aceleradas y de estrés para el DP C2P1 combinado fabricado para el uso en la investigación y el desarrollo. Seis meses de datos de estabilidad de investigación están disponibles en condiciones de almacenamiento a largo plazo de 5 °C, 6 meses en condición acelerada de 25 °C/60 % de HR. Se han completado los estudios que examinan las condiciones de estrés de 3 meses a 40 °C/75 % de HR, agitación y congelación y descongelación.

La Tabla 69 describe todos los estudios de estabilidad que examinan el DP C2P1 combinado. El plan de análisis, los criterios de aceptación preliminares y el plan de obtención de muestras para las muestras de estabilidad se proporcionan en la Tabla 70.

Los estudios de estabilidad continuarán durante todo el protocolo de estabilidad, como se presenta en la Tabla 69. Las muestras se analizaron siguiendo el plan de análisis descrito en la Tabla 70.

Tabla 69: Resumen de los estudios de estabilidad del producto farmacéutico combinado

Tipo de estudio	Concentración (mg/ml)	Cierre del contenedor	Condiciones de almacenamiento	Duración del estudio	Datos disponibles
Investigación	100	Vial de vidrio de USP/EP de 20 ml con tapón de butilo recubierto con FluroTec y sello de apertura fácil	5 °C	84 meses	6 meses
			25 °C/60 % de HR	12 meses	6 meses
			40 °C/75 % de HR	3 meses	3 meses
			Agitación	120 minutos	120 minutos
			Congelación y descongelación	8 ciclos	8 ciclos

DP, producto farmacéutico; USP, Farmacopea de los Estados Unidos; EP, Farmacopea Europea; HR, humedad relativa

Tabla 70: Plan de análisis para estudios de estabilidad en investigación del

producto farmacéutico

Ensayo	Muestras de investigación a analizar
Forma física / Condición	Todas las muestras
Transparencia	Todas las muestras
Color	Todas las muestras
pH	Todas las muestras
Contenido total de proteína (RP-UPLC)	Todas las muestras
Pureza por MCE reductora a. % de Pureza b. % de NGHC c. % de LMW	T = 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a 5 °C; 3 y 6 meses a 25 °C/60 % de HR; 1 y 3 meses a 40 °C/75 % de HR Muestras de agitación y congelación/descongelación
Pureza por MCE no reductora a. % de Pureza b. % de LMW c. % de HMW	T = 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a 5 °C; 3 y 6 meses a 25 °C/60 % de HR; 1 y 3 meses a 40 °C/75 % de HR Muestras de agitación y congelación/descongelación
Pureza por SE-UPLC a. % de Pureza del pico principal b. % de LMW c. % de HMW	Todas las muestras
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC a. % de Región 1c b. % de Región 2c c. % de Región 3c d. % del Pico principal H1H17203P e. % del Pico principal H1H17139P f. % del Pico principal H1H17161P	Todas las muestras
Potencia: Ensayo de ADCC	T = 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a 5 °C; 3 y 6 meses a 25 °C/60 % de HR; 1 y 3 meses a 40 °C/75 % de HR Muestras de agitación y congelación/descongelación
Potencia: Ensayo de neutralización de pseudovirus	T = 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a 5 °C; 3 y 6 meses a 25 °C/60 % de HR; 1 y 3 meses a 40 °C/75 % de HR Muestras de agitación y congelación/descongelación

Ensayo	Muestras de investigación a analizar
Material particulado (oscurecimiento de la luz)	T = 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a 5 °C; 3 y 6 meses a 25 °C/60 % de HR; 1 y 3 meses a 40 °C/75 % de HR Muestras de agitación y congelación/descongelación
Material particulado (MFI) 2 µm ≤ x < 10 µm	T = 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a 5 °C; 3 y 6 meses a 25 °C/60 % de HR; 1 y 3 meses a 40 °C/75 % de HR Muestras de agitación y congelación/descongelación
Polisorbato 80	T = 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 84 meses a 5 °C; 3 y 6 meses a 25 °C/60 % de HR; 1 y 3 meses a 40 °C/75 % de HR Muestras de agitación y congelación/descongelación

A₂₈₀, absorbancia a 280 nm; CEX, cromatografía de intercambio catiónico; EU, unidades de endotoxina; HC, cadena pesada; HMW, peso molecular alto; LC, cadena ligera; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI: Micro-Flow Imaging™; N/A, no aplicable; NGHC, cadena pesada no glicosilada; Ph. Eur., Farmacopea Europea; HR, humedad relativa; SE-UPLC, cromatografía líquida de ultra alto rendimiento de exclusión por tamaño; USP, Farmacopea de los Estados Unidos

Resultados del estudio de estabilidad a largo plazo

En el estudio de estabilidad a largo plazo en investigación, el DP combinado fue física y químicamente estable cuando se almacenó a 5 °C durante todo el período de evaluación (Tabla 71). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos monitoreados después de 6 meses a 5 °C. El estudio de estabilidad en investigación que examina el DP en condición de almacenamiento a largo plazo continuará durante 84 meses.

Resultados del estudio de estabilidad acelerada

Los resultados del estudio de estabilidad en investigación del análisis del DP en condición acelerada de 25 °C/60 % de HR se proporcionan en la Tabla 72. Durante todo el período de evaluación de 6 meses, se observaron aumentos de 0,9 % en especies de HMW y 0,3 % en LMW por SE-UPLC. Se observó una reducción de 2,0 %, 3,1 % y 5,1 % en los picos principales correspondientes a H1H17203P, H1H17139P y H1H17161P, respectivamente, por CEX-UPLC. El DP

mantuvo la potencia tras la incubación a 25 °C/60 % de HR durante 6 meses. El nivel de partículas subvisibles, según lo determinado por el HIAC, estuvo dentro de los criterios de aceptación. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados. Se han completado los estudios de investigación que examinan el DP en condiciones de almacenamiento aceleradas de 25 °C/60 % de HR.

Resultados del estudio de estabilidad frente al estrés

Los resultados del estudio de estabilidad en investigación del análisis del DP en condiciones de estrés de 40 °C/75 % de HR se proporcionan en la Tabla 72. Durante todo el período de evaluación de 3 meses, se observaron aumentos de 3,0 % en HMW y 1,3 % en LMW por SE-UPLC; se observaron reducciones en la pureza de 3,8 % o 7,8 % y aumentos en las especies de LMW de 1,8 % o 6,4 % por MCE reductora o no reductora, respectivamente; y se observaron reducciones de 9,3 %, 11,5 % y 11,4 % en los picos principales correspondientes al H1H17203P, el H1H17139P y el H1H17161P, respectivamente, por CEX-UPLC. El DP mantuvo la potencia según lo determinado por el ensayo de neutralización de pseudovirus. El DP mantuvo la potencia después de la incubación a 40 °C/75 % de HR durante 28 días, pero mostró una potencia reducida después de la incubación durante 3 meses, según lo determinado por el ensayo de ADCC. El nivel de partículas subvisibles, según lo determinado por el HIAC, estuvo dentro de los criterios de aceptación. No se observó ningún cambio significativo en otros atributos monitoreados. Se han completado los estudios de investigación que examinan el DP en condición de almacenamiento de estrés de 40 °C/75 % de HR.

Los resultados de estabilidad en investigación del análisis del DP después de las condiciones de agitación y congelación/descongelación se proporcionan en la Tabla 73. El DP fue física y químicamente estable cuando se agitó (en vórtex a temperatura ambiente) durante 120 minutos o cuando se sometió a 4 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -30 °C y descongelación a temperatura ambiente). No se observó ningún cambio significativo en la estabilidad física o química del DP en ninguno de los atributos monitoreados. Se han completado los estudios de investigación que examinan el DP en condiciones de agitación y congelación/descongelación.

Conclusiones sobre la estabilidad

El almacenamiento recomendado para el DP combinado es de 2 °C a 8 °C. Los datos de los estudios de estabilidad del DP demuestran que el producto permanecerá estable cuando se almacene de 2 °C a 8 °C.

Tabla 71: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico coformulado H1H17203P-H1H17139P-H1H17161P a 100 mg/ml, almacenado a 5 °C

Formulación	Proteínas recombinantes H1H17203P a 33,3 mg/ml, H1H17139P a 33,3 mg/ml y H1H17161P a 33,3 mg/ml, en una solución amortiguada acuosa, pH 6,0, que contiene 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % (p/v) de polisorbato 80				
Cierre del contenedor	20 ml USP/Farm. Eur. Vial de vidrio de borosilicato tipo 1; tapón de butilo con un solo orificio de ventilación recubierto con FluroTec® de 20 mm; sello Flip-Off® de 20 mm				
Condiciones de almacenamiento	5 °C				
Ensayo		Duración del almacenamiento (meses)			
		T = 0	1	3	6
Forma física / Condición		LEFV P	LEFV P	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,5	98,4	97,3	96,6
Polisorbato 80 (% p/v)		0,09	NR	NR	0,09
% de Potencia relativa por bioensayo	ADCC	89	NR	NR	95
	Neutralización de pseudovirus	105	NR	NR	120
MCE reductora (%)	Pureza	94,4	NR	NR	94,7
	NGHC	4,7	NR	NR	4,5
	LMW	0,1	NR	NR	0,2
MCE no reductora (%)	Pureza	95,4	NR	NR	95,6
	LMW	4,1	NR	NR	4,0
SE-UPLC (%)	Principal	99,1	99,0	98,8	98,8
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,9	0,9	1,2	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	Región 1C	10,9	10,8	11,0	11,5
	Región 2C	13,3	13,2	13,3	13,5
	Región 3C	18,4	18,4	18,0	18,6

Formulación	Proteínas recombinantes H1H17203P a 33,3 mg/ml, H1H17139P a 33,3 mg/ml y H1H17161P a 33,3 mg/ml, en una solución amortiguada acuosa, pH 6,0, que contiene 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % (p/v) de polisorbato 80				
Cierre del contenedor	20 ml USP/Farm. Eur. Vial de vidrio de borosilicato tipo 1; tapón de butilo con un solo orificio de ventilación recubierto con FluroTec® de 20 mm; sello Flip-Off® de 20 mm				
Condiciones de almacenamiento	5 °C				
Ensayo (%)		Duración del almacenamiento (meses)			
		T = 0	1	3	6
	H1H17203P Principal	19,3	19,4	19,4	19,2
	H1H17139P Principal	21,1	21,2	21,1	20,9
	H1H17161P Principal	17,0	16,9	17,2	16,4
Material particulado (oscurecimiento de la luz) (partículas/contenedor)	≥ 10 µm	39	NR	NR	5
	≥ 25 µm	15	NR	NR	0
Material particulado (MFI) (partículas/ml)	2 a 10 µm	195	NR	NR	90

HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, Micro-Flow Imaging™; NGHC, cadena pesada no glicosilada; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra alta presión; CEX, cromatografía de intercambio catiónico; RP, fase inversa; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; NR, no requerido

Tabla 72: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico coformulado H1H17203P-H1H17139P-H1H17161P a 100 mg/ml, almacenado a 25 °C/60 % de HR y 40 °C/75 % de HR

Formula- ción	Proteínas recombinantes H1H17203P a 33,3 mg/ml, H1H17139P a 33,3 mg/ml y H1H17161P a 33,3 mg/ml, en una solución amortiguada acuosa, pH 6,0, que contiene 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % (p/v) de polisorbato 80									
Cierre del contenedor	20 ml USP/Farm. Eur. Vial de vidrio de borosilicato tipo 1; tapón de butilo con un solo orificio de ventilación recubierto con FluroTec® de 20 mm; sello Flip-Off® de 20 mm									
Ensayo		T = 0	Almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % de HR (meses)			
			0,5	1	3	6	0,2 5	0,5	1	3
Forma física / Condición	LEF VP	LEF VP	LEF VP	LEF VP	LEF VP	LE FV P	LE FV P	LEF VP	LE FV P	
Transparencia	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	
Color	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY 4	≤ BY 4	≤ BY4	≤ BY 4	
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)	98,5	98,7	98,2	96,9	96,1	98, 2	98, 3	98,8	96, 8	
Polisorbato 80 (% p/v)	0,09	NR	NR	0,09	0,09	NR	NR	0,09	0,0 9	
% de Potencia relativa por bioensayo	ADCC	89	NR	NR	93	82	NR	NR	83	45
	Neutra- lización de pseudo- virus	105	NR	NR	112	124	NR	NR	101	99
MCE reductora (%)	Pureza	94,4	NR	NR	93,2	93,7	NR	NR	93,7	90, 6
	NGHC	4,7	NR	NR	4,4	4,6	NR	NR	4,6	5,2
	LMW	0,1	NR	NR	0,3	0,7	NR	NR	0,5	1,9
MCE no reductora (%)	Pureza	95,4	NR	NR	94,2	93,4	NR	NR	93,1	87, 6
	LMW	4,1	NR	NR	4,9	5,5	NR	NR	6,0	10, 5
SE-UPLC (%)	Principal	99,1	98,9	98,7	98,2	97,8	98, 6	98, 3	97,7	94, 7
	LMW	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,5	1,4
	HMW	0,9	1,1	1,2	1,6	1,8	1,3	1,4	1,8	3,9
Análisis de variantes de carga por CEX-	Región 1C	10,9	10,8	11,0	12,2	14,1	11, 7	12, 6	14,7	20, 9
	Región 2C	13,3	13,3	13,7	15,1	16,8	14, 5	15, 7	18,1	25, 0

Formula- ción	Proteínas recombinantes H1H17203P a 33,3 mg/ml, H1H17139P a 33,3 mg/ml y H1H17161P a 33,3 mg/ml, en una solución amortiguada acuosa, pH 6,0, que contiene 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % (p/v) de polisorbato 80									
Cierre del contenedor	20 ml USP/Farm. Eur. Vial de vidrio de borosilicato tipo 1; tapón de butilo con un solo orificio de ventilación recubierto con FluroTec® de 20 mm; sello Flip-Off® de 20 mm									
Ensayo		T = 0	Almacenamiento a 25 °C/60 % de HR (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % de HR (meses)			
UPLC (%)			0,5	1	3	6	0,2 5	0,5	1	3
	Región 3C	18,4	18,6	19,0	19,8	22,0	19,6	20,7	23,1	28,9
	H1H17203P Principal	19,3	19,5	19,4	18,7	17,3	18,8	18,0	15,9	10,0
	H1H17139P Principal	21,1	21,2	20,9	19,6	18,0	20,0	19,0	16,5	9,6
	H1H17161P Principal	17,0	16,5	16,0	14,7	11,9	15,4	14,1	11,7	5,6
Material particulado (oscurecimi- en-to de la luz) (partículas/ con- tenedor)	≥ 10 µm	39	NR	NR	10	10	NR	NR	131	121
	≥ 25 µm	15	NR	NR	0	0	NR	NR	0	5
Material particulado (MFI) (partículas/ ml)	2 a 10 µm	195	NR	NR	450	275	NR	NR	637	409

HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, Micro-Flow Imaging™; NGHC, cadena pesada no glicosilada; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra alta presión; CEX, cromatografía de intercambio catiónico; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; NR, no requerido

Tabla 73: Estabilidad en investigación del producto farmacéutico coformulado H1H17203P-H1H17139P-H1H17161P - Efecto de la agitación y congelación y descongelación

Formulación		Proteínas recombinantes H1H17203P a 33,3 mg/ml, H1H17139P a 33,3 mg/ml y H1H17161P a 33,3 mg/ml, en una solución amortiguada acuosa, pH 6,0, que contiene 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % (p/v) de polisorbato 80				
Contenedor/Cierre		20 ml USP/Farm. Eur. Vial de vidrio de borosilicato tipo 1; tapón de butilo con un solo orificio de ventilación recubierto con FluroTec® de 20 mm; sello Flip-Off® de 20 mm				
Ensayo		T = 0	Agitación (minutos)		Congelación/descon- gela-ción (ciclos)	
			60	120	4	8
Forma física / Condición		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
Transparencia		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
Color		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Contenido total de proteína por RP-UPLC (mg/ml)		98,5	98,4	98,6	98,8	97,6
Polisorbato 80 (% p/v)		0,09	NR	0,09	0,09	0,09
% de Potencia relativa por bioensayo	ADCC	89	NR	102	85	87
	Neutraliza- ción de pseudovi- rus	105	NR	119	123	119
MCE reductora (%)	Pureza	94,4	NR	94,9	95,0	94,5
	NGHC	4,7	NR	4,3	4,2	4,7
	LMW	0,1	NR	0,2	0,2	0,1
MCE no reductora (%)	Pureza	95,4	NR	95,4	95,4	95,4
	LMW	4,1	NR	4,2	4,2	4,2
Pureza por SE-UPLC (%)	Principal	99,1	99,1	99,1	99,1	99,0
	LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	HMW	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC (%)	Región 1C	10,9	10,8	10,9	10,9	10,4
	Región 2C	13,3	13,2	13,2	13,3	13,3
	Región 3C	18,4	18,4	18,4	18,5	18,4
	H1H17203 P Principal	19,3	19,4	19,4	19,4	19,4
	H1H17139 P Principal	21,1	21,2	21,2	21,2	21,3
	H1H17161 P Principal	17,0	16,9	17,0	16,7	17,2
Material	≥ 10 µm	39	NR	102	39	53

Formulación		Proteínas recombinantes H1H17203P a 33,3 mg/ml, H1H17139P a 33,3 mg/ml y H1H17161P a 33,3 mg/ml, en una solución amortiguada acuosa, pH 6,0, que contiene 10 mM de L-histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % (p/v) de polisorbato 80				
Contenedor/Cierre		20 ml USP/Farm. Eur. Vial de vidrio de borosilicato tipo 1; tapón de butilo con un solo orificio de ventilación recubierto con FluroTec® de 20 mm; sello Flip-Off® de 20 mm				
Ensayo		T = 0	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
			60	120	4	8
particulado (oscurecimiento de la luz) (partículas/contenedor)	≥ 25 µm	15	NR	5	0	0
Material particulado (MFI) (partículas/ml)	2 a 10 µm	195	NR	372	534	494

HMW, peso molecular alto; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, peso molecular bajo; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, Micro-Flow Imaging™; NGHC, cadena pesada no glicosilada; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra alta presión; CEX, cromatografía de intercambio catiónico; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; NR, no requerido

Secuencias de anticuerpos

La Tabla 74 expone los identificadores de secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y ligera y las CDR de anticuerpos antiviral del Ébola seleccionados. La Tabla 75 proporciona identificadores de secuencia para secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera de longitud completa.

Tabla 74: Identificadores de secuencias de aminoácidos

	SEQ ID NO:							
Designación de anticuerpo	HCV R	HCD R1	HCD R2	HCD R3	LCV R	LCD R1	LCDR 2	LCDR3
H1H17203P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H17139P	20	22	24	26	28	30	32	34
H1H17161P	38	40	42	44	46	48	50	52

Tabla 75: Identificadores de secuencia para secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa

Designación de anticuerpo	SEQ ID NO:	
	Cadena pesada de longitud completa	Cadena ligera de longitud completa
	Aminoácido	Aminoácido
H1H17203P	17	18
H1H17139P	35	36
H1H17161P	53	54

La presente divulgación no debe limitarse en el alcance por las modalidades específicas descritas en la presente descripción. De hecho, varias modificaciones de la invención además de las descritas en la presente descripción serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior y las figuras adjuntas. Se pretende que dichas modificaciones queden comprendidas dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.