

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una composición farmacéutica con lipasa reducida, caracterizado porque comprende: someter una muestra que incluye una proteína de interés y una lipasa a cromatografía de intercambio aniónico, en donde un pH de la muestra cargada en la columna de cromatografía está entre aproximadamente 7,8 y aproximadamente 8,3.

2. Un método para producir una composición farmacéutica con actividad de lipasa reducida, caracterizado porque comprende:

(c) someter una muestra que incluye una proteína de interés y una lipasa a condiciones de estrés para formar una muestra con lipasa inactivada; y

(d) formular la muestra con lipasa inactivada para producir una composición farmacéutica con actividad de lipasa reducida.

3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque la proteína de interés es un anticuerpo, una proteína derivada de anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo biespecífico, una proteína de fusión, un conjugado de anticuerpo-fármaco o una proteína terapéutica.

4. El método de conformidad con la reivindicación 2 o 3, caracterizado porque el paso de formulación comprende agregar un éster de ácido graso a la muestra, en donde el éster de ácido graso es polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60 o polisorbato 80.

5. El método de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque el éster de ácido graso es polisorbato 80 y una concentración de ésteres de ácido oleico en el polisorbato 80 es de al menos 80%.

6. El método de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado porque una concentración de ésteres de ácido oleico en el polisorbato 80 es al menos 98% o al menos 99%.

7. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2-6, caracterizado porque las condiciones de estrés incluyen estrés de agitación y/o estrés de calor.

8. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el

estrés de agitación comprende agitar la muestra a de 50 a 500 rpm, de 200 a 300 rpm, aproximadamente 50 rpm, aproximadamente 75 rpm, aproximadamente 100 rpm, aproximadamente 125 rpm, aproximadamente 150 rpm, aproximadamente 200 rpm, aproximadamente 225 rpm, aproximadamente 250 rpm, aproximadamente 275 rpm, aproximadamente 300 rpm, aproximadamente 325 rpm, aproximadamente 350 rpm, aproximadamente 375 rpm, aproximadamente 400 rpm, aproximadamente 425 rpm, aproximadamente 450 rpm, aproximadamente 475 rpm o aproximadamente 500 rpm.

9. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el estrés de agitación comprende agitar la muestra durante 1 a 96 horas, de 24 a 48 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 30 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 42 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 84 horas o aproximadamente 96 horas.

10. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el estrés de calor comprende almacenar la muestra a aproximadamente 30 °C a aproximadamente 60 °C, aproximadamente 35 °C a aproximadamente 55 °C, aproximadamente 40 °C a aproximadamente 50 °C, aproximadamente 44 °C a aproximadamente 46 °C, aproximadamente 30 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 40 °C, aproximadamente 45 °C, aproximadamente 50 °C, aproximadamente 55 °C o aproximadamente 60 °C.

11. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque el almacenamiento es de 1 día a 6 meses, de 3 días a 3 meses, de 1 semana a 2 meses, de 0,5 meses a 1 mes, aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 0,5 meses, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 1 mes, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 2 meses, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 3,5 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 4,5 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 5,5 meses o aproximadamente 6 meses.

12. El método de cualquiera de la reivindicaciones 2-11, caracterizado porque

comprende además someter la muestra con lipasa inactivada a filtración, enriquecimiento o separación cromatográfica para eliminar especies de alto peso molecular (HMW) antes del paso (b).

13. El método de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado porque la separación cromatográfica comprende cromatografía de intercambio catiónico.

14. El método de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado porque la separación cromatográfica comprende cromatografía de exclusión por tamaño.

15. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 2-14, caracterizado porque el paso de formulación comprende agregar excipientes a la muestra.

16. Un método para producir una composición farmacéutica con actividad de lipasa reducida. caracterizado porque:

(g) someter el anticuerpo cosechado a cromatografía de afinidad;

(h) someter el anticuerpo agrupado del eluato del paso (a) a inactivación viral a un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 y luego ajustar el pH a aproximadamente 5 a aproximadamente 8;

(i) someter el anticuerpo agrupado del paso (b) a cromatografía de intercambio aniónico en modo de flujo continuo;

(j) someter el anticuerpo agrupado del eluato del paso (c) a cromatografía de interacción hidrófoba en modo de flujo continuo;

(k) someter el anticuerpo agrupado de fracciones de flujo continuo del paso (d) a filtración de retención de virus;

(l) someter una muestra del paso (e) que incluye un anticuerpo de interés y una lipasa a estrés de agitación o estrés de calor para formar una composición farmacéutica con actividad de lipasa reducida.

17. Un método para producir una composición farmacéutica con actividad de lipasa reducida, caracterizado porque:

(f) someter el anticuerpo cosechado a cromatografía de afinidad;

(g) someter el anticuerpo agrupado del eluato del paso (a) a inactivación viral a un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 y luego ajustar el pH a aproximadamente 5 a aproximadamente 8;

(h) someter el anticuerpo agrupado del paso (b) a cromatografía de intercambio aniónico en modo de flujo continuo;

(i) someter el anticuerpo agrupado de fracciones de flujo continuo del paso (c) a filtración de retención de virus;

(j) someter una muestra del paso (d) que incluye un anticuerpo de interés y una lipasa a estrés de agitación o estrés de calor para formar una composición farmacéutica con actividad de lipasa reducida.

18. El método de conformidad con la reivindicación 16 o 17, caracterizado porque comprende además someter la composición farmacéutica a filtración, enriquecimiento o separación cromatográfica para eliminar especies de HMW.

19. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la separación cromatográfica comprende cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de intercambio catiónico o cromatografía de exclusión por tamaño.

20. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 16-19, caracterizado porque un pH de la muestra cargada en la columna AEX está entre aproximadamente 7,8 y aproximadamente 8,3.

21. Un método para producir una composición farmacéutica con mayor estabilidad, caracterizado porque comprende: reducir la actividad de lipasa en una composición al someter una muestra que incluye una proteína de interés y una lipasa a cromatografía de intercambio aniónico (AEX), en donde un pH de la muestra cargada en la columna AEX está entre aproximadamente 7,8 y aproximadamente 8,3.

22. El método de conformidad con la reivindicación 21, caracterizado porque comprende además el paso de someter una muestra formada después de la cromatografía de AEX a estrés de agitación o estrés de calor para reducir la actividad de lipasa.

23. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 16-22, caracterizado porque comprende además la adición de poloxámero 188 o PEG3350 para producir una formulación que comprende una composición farmacéutica con actividad de

lipasa reducida y estabilidad aumentada.

24. El método de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado porque la formulación está sustancialmente libre de polisorbato.

25. El método de conformidad con la reivindicación 23 o 24, caracterizado porque una concentración del poloxámero 188 es de 0,005% a 5%, de 0,05% a 2,5%, de 0,1% a 1%, aproximadamente 0,05%, 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 0,15%, aproximadamente 0,2%, aproximadamente 0,25%, aproximadamente 0,3%, aproximadamente 0,4%, aproximadamente 0,5%, aproximadamente 1%, aproximadamente 1,5%, aproximadamente 2%, aproximadamente 2,5%, aproximadamente 3%, aproximadamente 3,5%, aproximadamente 4%, aproximadamente 4,5% o aproximadamente 5%.

26. El método de conformidad con la reivindicación 23 o 24, caracterizado porque una concentración del PEG3350 es de 0,005% a 5%, de 0,05% a 2,5%, de 0,1% a 1%, aproximadamente 0,05%, 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 0,15%, aproximadamente 0,2%, aproximadamente 0,25%, aproximadamente 0,3%, aproximadamente 0,4%, aproximadamente 0,5%, aproximadamente 1%, aproximadamente 1,5%, aproximadamente 2%, aproximadamente 2,5%, aproximadamente 3%, aproximadamente 3,5%, aproximadamente 4%, aproximadamente 4,5% o aproximadamente 5%.

27. Un método para producir una composición farmacéutica con estabilidad aumentada, caracterizado porque comprende:

(d) someter una proteína recombinante cosechada a cromatografía de intercambio aniónico en modo de flujo continuo;

(e) someter las fracciones de flujo continuo del paso (a) a cromatografía de interacción hidrófoba en modo de flujo continuo; y

(f) formular proteína recombinante aislada del paso (b) con polisorbato 80, en donde una concentración de ésteres de ácido oleico en el polisorbato 80 es al menos 80%.

28. El método de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado porque una concentración de los ésteres de ácido oleico es al menos 98% o al menos 99%.

29. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 16-28, caracterizado porque un pH de la muestra cargada en la columna de cromatografía de intercambio aniónico es de aproximadamente 7,8 a aproximadamente 8,3, de aproximadamente 7,9 a aproximadamente 8,2, aproximadamente 7,8, aproximadamente 7,9, aproximadamente 8,0, aproximadamente 8,1, aproximadamente 8,2 o aproximadamente 8,3.