

FORMULACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-C1S DEL COMPLEMENTO SOLICITUD RELACIONADA

Esta solicitud reivindica el beneficio a tenor de 35 U.S.C. § 119(e) de la solicitud provisional de los EE. UU. con número de serie 63/352,475,

5 presentada el 15 de junio de 2022, cuyo contenido íntegro se incorpora en el presente documento por referencia.

REFERENCIA A UN LISTADO DE SECUENCIAS ELECTRÓNICO

El contenido del listado electrónico de secuencias (B155370017WO00-SEQ-JRV.xml; Tamaño: 21.726 bytes; y Fecha de creación: 9 de junio de 2023)

10 se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES

El sistema del complemento es un mecanismo efector bien conocido de la respuesta inmunitaria, que proporciona no sólo protección contra patógenos y otros agentes nocivos, sino también recuperación de lesiones. La vía clásica
15 del complemento se desencadena por la activación del primer componente del complemento, denominado complejo C1, que incluye las proteínas C1q, C1r y C1s. Tras la unión de C1 a un complejo inmunitario, el componente C1s, una serina proteasa sensible a fluorofosfato de di-isopropilo (DFP), escinde los componentes del complemento C4 y C2 para iniciar la activación de la vía
20 clásica del complemento. La vía clásica del complemento parece desempeñar una función en muchas enfermedades y trastornos y existe la necesidad de formulaciones estables de anticuerpos dirigidos a esta vía.

SUMARIO

La presente divulgación proporciona composiciones que comprenden un
25 anticuerpo humanizado que se une específicamente a la proteína C1s del complemento (es decir, un anticuerpo anti-C1s del complemento humanizado, también denominado en el presente documento un "anticuerpo anti-C1s humanizado", un "anticuerpo contra C1s humanizado" o un "anticuerpo en cuestión"). La presente divulgación también proporciona métodos de
30 tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediados por el complemento, que comprenden administrar una composición de la presente divulgación.

Se descubrió que el anticuerpo en cuestión tiene una mayor propensión a autoasociarse y también tiene una tendencia a la isomerización en un resto ácido aspártico en la posición número 32 en la secuencia de dominio variable de cadena ligera, ubicada en la primera región determinante de la complementariedad (CDR1) de la cadena ligera (isomerización de D32 LC). Se realizó un conjunto de estudios exhaustivos para comprender el efecto de la composición de formulación y las condiciones del proceso sobre la estabilidad biofísica y química del anticuerpo en cuestión. Los estudios descritos en el presente documento demuestran que la presencia de arginina o una sal de la misma reduce la tasa de isomerización de D32. Se observó resistencia a la isomerización en formulaciones de muestras usando diferentes lotes de anticuerpo en cuestión en condiciones de almacenamiento refrigerado, ambiente y acelerado cuando se usaron las composiciones de la divulgación. Las composiciones de la divulgación conservan la estabilidad de los anticuerpos durante el almacenamiento a largo plazo y proporcionan protección contra las tensiones fisicoquímicas, inhibiendo al mismo tiempo la isomerización de D32 LC, la agregación de anticuerpos y la desamidación. Las composiciones de la divulgación permiten además formular el anticuerpo en cuestión en forma de un líquido.

En un aspecto, la divulgación proporciona una composición que comprende: (a) un anticuerpo humanizado que se une específicamente al componente del complemento C1s, en donde el anticuerpo comprende una región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una CDR1 de cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, y una CDR3 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; y (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de arginina o una sal de la misma.

En algunas realizaciones, la composición comprende de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 200 mM o de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM de arginina o una sal de la misma. En algunas realizaciones, la sal de arginina es clorhidrato de arginina, citrato de arginina, oxalato de arginina, fosfato de arginina, succinato de arginina o tartrato de arginina. En algunas realizaciones, la sal de arginina es clorhidrato de arginina. En algunas realizaciones, la composición comprende aproximadamente 150 mM de clorhidrato de arginina. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la composición comprende un tampón. En algunas realizaciones, la composición comprende un tampón a una concentración de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 25 mM o de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 20 mM. En algunas realizaciones, el tampón es histidina, acetato, citrato, oxalato, fosfato, succinato o tartrato. En algunas realizaciones, el tampón es histidina. En algunas realizaciones, la composición comprende aproximadamente 10 mM de histidina.

En algunas realizaciones, la composición comprende además un estabilizante. En algunas realizaciones, la composición comprende además un estabilizante a una concentración de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 8 % (p/v) o de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 5 % (p/v). En algunas realizaciones, el estabilizante es sacarosa, sorbitol o trehalosa. En algunas realizaciones, el estabilizante es sacarosa. En algunas realizaciones, la composición comprende aproximadamente el 3 % (p/v) de sacarosa.

En algunas realizaciones, la composición comprende además un quelante. En algunas realizaciones, la composición comprende un quelante a una concentración de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M, de aproximadamente 5 μ M a aproximadamente 25 μ M o de aproximadamente 10 μ M a aproximadamente 25 μ M. En algunas realizaciones, el quelante es pentaacetato de dietilentriamina (DTPA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). En algunas realizaciones, la composición comprende

aproximadamente 10 μ M de pentaacetato de dietilentriamina (DTPA). En algunas realizaciones, el quelante es metionina. En algunas realizaciones, la composición comprende de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM de metionina.

- 5 En algunas realizaciones, la composición comprende además un tensioactivo. En algunas realizaciones, la composición comprende un tensioactivo a una concentración de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) o de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0.06 % (p/v). En algunas realizaciones, el tensioactivo es
- 10 polisorbato 80 (PS80) o poloxámero 188 (P188). En algunas realizaciones, el tensioactivo es PS80, opcionalmente en donde la composición comprende aproximadamente el 0.06 % (p/v) de polisorbato 80.

- En algunas realizaciones, la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.5, de aproximadamente 6 a
- 15 aproximadamente 7, de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.5 o de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.1. En algunas realizaciones, la composición tiene un pH de aproximadamente 6.8.

- En algunas realizaciones, la composición comprende de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml o de
- 20 aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml del anticuerpo anti-C1s. En algunas realizaciones, la composición comprende aproximadamente 150 mg/ml del anticuerpo anti-C1s.

- En algunas realizaciones, la composición comprende: (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml del anticuerpo; (b)
- 25 de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de HCl de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 8 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de pentaacetato de dietilentriamina (DTPA); y (f) de aproximadamente el 0.01 % a
- 30 aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.5. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la composición comprende: (a) aproximadamente 150 mg/ml del anticuerpo; (b) aproximadamente 150 mM de HCl de arginina; (c) aproximadamente 10 mM de histidina; (d) aproximadamente el 3 % (p/v) de sacarosa; (e) aproximadamente 10 μ M de DTPA; y (f) aproximadamente el 0.06 % (p/v) de PS80, y la composición tiene un pH de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.1, o aproximadamente 6.8. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 y una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un fragmento Fab, un fragmento F(ab')₂, un scFv o un Fv. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada del isotipo IgG4. En algunas realizaciones, la región constante de IgG4 comprende sustituciones de una prolina, un ácido glutámico, una leucina y una serina en los restos de aminoácidos 108, 115, 308 y 314, respectivamente, con respecto a la secuencia de la región constante de IgG4 de la SEQ ID NO: 11. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización inferior en D32 de la cadena ligera, ubicada en CDR1, en comparación con el anticuerpo en una formulación correspondiente sin arginina o una sal de la misma, opcionalmente en donde la isomerización de D32 se determina mediante análisis de mapas de péptidos totales. En algunas realizaciones, el anticuerpo (i) tiene una tasa de isomerización que es al menos aproximadamente un 2-3 % inferior por semana a 40 °C, al menos aproximadamente un 1-3 % inferior por mes a 25 °C o al menos

aproximadamente un 0.4-0.6 % inferior por mes a 5 °C, en comparación con el anticuerpo en una formulación correspondiente sin arginina o una sal de la misma; o (ii) tiene una tasa de isomerización después de 12 semanas de almacenamiento a 25 °C que es aproximadamente un 10 % inferior en
5 comparación con el anticuerpo en una formulación correspondiente sin arginina o una sal de la misma.

En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización de menos del 7.5 % después de 12 semanas de almacenamiento a 5 °C, menos del 20 % después de 12 semanas de almacenamiento a 25 °C o menos
10 del 35 % después de 12 semanas de almacenamiento a 40 °C.

En algunas realizaciones, la composición está en forma liofilizada líquida, liofilizada o reconstituida. En algunas realizaciones, la composición está en forma líquida.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un recipiente que
15 contiene una composición de la divulgación. En algunas realizaciones, el recipiente es un vial o una jeringa. En algunas realizaciones, el recipiente es una jeringa. En algunas realizaciones, la jeringa es una jeringa precargada.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un kit o un artículo de fabricación, que comprende un recipiente de la divulgación.

20 En un aspecto, la presente divulgación proporciona una forma farmacéutica unitaria adecuada para la administración parenteral a un ser humano, que comprende en un recipiente una composición de la divulgación.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método que comprende administrar a un ser humano una composición de la divulgación.

25 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de reducción del nivel de un producto de escisión de componentes del complemento en un ser humano, comprendiendo el método administrar al ser humano una composición de la divulgación.

30 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de inhibición de la escisión mediada por C1s de un componente del complemento en un ser humano, comprendiendo el método administrar al ser humano una composición de la divulgación.

En algunas realizaciones, el ser humano tiene la enfermedad por crioaglutininas (ECA), púrpura inmunotrombocitopénica (PIT), polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC) o rechazo mediado por anticuerpos (RMA).

- 5 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad mediada por el complemento en un ser humano que lo necesita, que comprende administrar al ser humano una composición de la divulgación. En algunas realizaciones, la enfermedad
- 10 mediada por el complemento es la enfermedad por crioaglutininas (ECA), púrpura inmunotrombocitopénica (PIT), polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC) o rechazo mediado por anticuerpos (RMA).

En algunas realizaciones, la administración es intravenosa o subcutánea.

- 15 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un dispositivo de suministro de fármacos que comprende un recipiente primario que contiene una composición de la divulgación, en donde el dispositivo de suministro de fármacos es un autoinyector activado por manguito con inserción de aguja manual.

- Cada una de entre las Publicaciones Internacionales N.º WO
- 20 2014/066744, presentada el 25 de octubre de 2013, titulada Anticuerpos anti-C1s del complemento y usos de los mismos, N.º WO 2016/164358, presentada el 5 de abril de 2016, titulada Anticuerpos anti-C1s humanizados y métodos de uso de los mismos, y N.º WO 2018/071676, presentada el 12 de octubre de 2017, titulada Anticuerpos anti-C1s y métodos de uso de los mismos, se
- 25 incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **FIG. 1** muestra el estudio de unión Biacore frente a la tasa de isomerización de D32 LC o isomerización forzada.

- 30 Las **FIG. 2A-2D** muestran el efecto del pH y el estabilizante sobre la isomerización de D32 LC. La **FIG. 2A** muestra el efecto del pH y el estabilizante a 5 °C. La **FIG. 2B** muestra el efecto del pH y el estabilizante a 25 °C. La **FIG. 2C** muestra el efecto del pH y el estabilizante a 40 °C. La **FIG. 2D** resume el

efecto del pH y el estabilizante sobre la tasa de isomerización a las diferentes temperaturas.

Las **FIG. 3A-3E** muestran los datos analíticos para el estudio de agitación orbital. **FIG. 3A**: Especies de HMW, **FIG. 3B**: Turbidez, **FIG. 3C-3E**:
 5 Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (h = horas; d = días).

Las **FIG. 4A-4E** muestran los datos analíticos para el estudio de agitación por acción de la muñeca. **FIG. 4A**: Especies de HMW, **FIG. 4B**:
 10 Turbidez, **FIG. 4C-4E**: Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (h = horas).

Las **FIG. 5A-5D** muestran los datos analíticos para la agitación por acción de la muñeca + estudio de adiciones de silicona. **FIG. 5A**: Turbidez, **FIG. 5B-5D**:
 15 Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (h = horas).

Las **FIG. 6A-6F** muestran los datos analíticos para el estudio de dilución en bolsa IV. **FIG. 6A**: Especies de HMW, **FIG. 6B**: Turbidez, **FIG. 6C**:
 20 Concentración, **FIG. 6D-6F**: Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (h = horas).

Las **FIG. 7A-7F** muestran los datos analíticos para el estudio de fotoestabilidad. **FIG. 7A**: Especies de HMW, **FIG. 7B**: Turbidez, **FIG. 7C**:
 25 Concentración de PS80, **FIG. 7D-7F**: Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (h = horas; d = días).

Las **FIG. 8A-8E** muestran los datos analíticos de los estudios de quelantes del Lote 1. La **FIG. 8A** muestra la concentración de PS80 para EDTA
 30 10 μM frente a DTPA 10 μM , la **FIG. 8B** muestra el % de PS80 restante para EDTA 10/50 μM frente a DTPA 10/50 μM , **FIG. 8C**: Perfil de éster, **FIG. 8D**:
 Especies de HMW, **FIG. 8E**: Análisis Biacore. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

La **FIG. 9** muestra el análisis visual de las formulaciones del Lote 1 almacenadas a 40 °C durante 3 meses.

Las **FIG. 10A-10E** muestran los datos analíticos para el estudio de quelantes del Lote 2. La **FIG. 10A** muestra la concentración de PS80 para EDTA 10 μM frente a DTPA 10 μM , la **FIG. 10B** muestra el % de PS80 restante para EDTA 10/50 μM frente a DTPA 10/50 μM , **FIG. 10C**: Especies de HMW, **FIG. 10D**: Especies de LMW, **FIG. 10E**: Análisis Biacore. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 11A-11E** muestran los datos analíticos para el estudio de quelantes del Lote 3. La **FIG. 11A** muestra la concentración de PS80 para EDTA 10 μM frente a DTPA 10 μM , la **FIG. 11B** muestra el % de PS80 restante para EDTA 10/50 μM frente a DTPA 10/50 μM , **FIG. 11C**: Especies de HMW, **FIG. 11D**: Especies de LMW, **FIG. 11E**: Análisis Biacore. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 12A-12E** muestran los datos analíticos para el estudio de quelantes del Lote 4. La **FIG. 12A** muestra la concentración de PS80 para EDTA 10 μM frente a DTPA 10 μM , la **FIG. 12B** muestra la comparación del % de PS80-EDTA 10/50 μM frente a DTPA 10/50 μM , **FIG. 12C**: Especies de HMW, **FIG. 12D**: Especies de LMW, **FIG. 12E**: Análisis Biacore. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 13A-13E** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de jeringas precargadas (PFS, por sus siglas en inglés) del tipo de tampón (H = tampón de histidina; K = tampón de fosfato de potasio) y pH (valor observado después del tipo de tampón) para muestras del Lote 1. **FIG. 13A**: Especies de HMW, **FIG. 13B**: Concentración, **FIG. 13C**: pH, **FIG. 13D**: Turbidez, **FIG. 13E**: Concentración de PS80. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 14A-14C** muestran el análisis de partículas subvisibles para el estudio de estabilidad de PFS del tipo de tampón (H = tampón de histidina; K = tampón de fosfato de potasio) y pH (valor observado después del tipo de

tampón) para muestras del Lote 1. **FIG. 14A:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 14B:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 14C:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C) (OMPI = PFS de OMPI; BD = PFS de BD).

Las **FIG. 15A-15E** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de viales del tipo de tampón (H = tampón de histidina; K = tampón de fosfato de potasio) y pH (valor observado después del tipo de tampón) para muestras del Lote 1. **FIG. 15A:** Especies de HMW, **FIG. 15B:** Concentración, **FIG. 15C:** pH, **FIG. 15D:** Turbidez, **FIG. 15E:** Concentración de PS80. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 16A-16C** muestran el análisis de partículas subvisibles para el estudio de estabilidad de viales del tipo de tampón (H = tampón de histidina; K = tampón de fosfato de potasio) y pH (valor observado después del tipo de tampón) para muestras del Lote 1. **FIG. 16A:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 16B:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 16C:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 17A-17G** muestran los datos analíticos para el estudio de estabilidad de almacenamiento congelado para muestras del Lote 1. **FIG. 17A:** Especies de HMW, **FIG. 17B:** Concentración, **FIG. 17C:** pH, **FIG. 17D:** Turbidez, **FIG. 17E-17G:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (M = meses).

Las **FIG. 18A-18E** muestran el mapa de péptidos y el análisis de unión Biacore para muestras del Lote 1. **FIG. 18A:** Isomerización de D32 LC, **FIG. 18B:** Oxidación de M251 de cadena pesada (HC), **FIG. 18C:** Desamidación de HC PENNYK, **FIG. 18D:** Desamidación de HC VSNK, **FIG. 18E:** Análisis Biacore. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "6M-25C" indica 6 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 19A-19G** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de PFS para muestras del Lote 2. **FIG. 19A:** Especies de HMW, **FIG. 19B:** Especies de LMW, **FIG. 19C:** Concentración, **FIG. 19D:** pH, **FIG. 19E:** Turbidez, **FIG. 19F:** Concentración de PS80, **FIG. 19G:** Análisis de variantes cargadas. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 20A-20C** muestran el análisis de partículas subvisibles para el estudio de estabilidad de PFS para muestras del Lote 2. **FIG. 20A:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 20B:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 20C:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 21A-21G** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de viales para muestras del Lote 2. **FIG. 21A:** Especies de HMW, **FIG. 21B:** Especies de LMW, **FIG. 21C:** Concentración, **FIG. 21D:** pH, **FIG. 21E:** Turbidez, **FIG. 21F:** Concentración de PS80, **FIG. 21G:** Análisis de variantes cargadas. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 22A-22C** muestran el análisis de partículas subvisibles para el estudio de estabilidad de viales para muestras del Lote 2. **FIG. 22A:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 22B:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, **FIG. 22C:** Partículas subvisibles: partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$. (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 23A-23F** muestran los datos analíticos para el estudio de estabilidad de almacenamiento congelado para muestras del Lote 2. **FIG. 23A:** Especies de HMW, **FIG. 23B:** Especies de LMW, **FIG. 23C:** Concentración, **FIG. 23D:** pH, **FIG. 23E:** Turbidez, **FIG. 23F:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (M = meses).

Las **FIG. 24A-24E** muestran el mapa de péptidos y el análisis de unión Biacore para muestras del Lote 2. **FIG. 24A:** Isomerización de D32 LC, **FIG. 24B:** Oxidación de M251 HC, **FIG. 24C:** Desamidación de HC PENNYK, **FIG.**

24D: Desamidación de HC VSNK, **FIG. 24E:** Análisis Biacore. (V = vial; P = PFS) (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 25A-25G** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de PFS para muestras del Lote 3. **FIG. 25A:** Especies de HMW, **FIG. 25B:** Especies de LMW, **FIG. 25C:** Concentración, **FIG. 25D:** pH, **FIG. 25E:** Turbidez, **FIG. 25F:** Concentración de PS80, **FIG. 25G:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 26A-26G** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de viales para muestras del Lote 3. **FIG. 26A:** Especies de HMW, **FIG. 26B:** Especies de LMW, **FIG. 26C:** Concentración, **FIG. 26D:** pH, **FIG. 26E:** Turbidez, **FIG. 26F:** Concentración de PS80, **FIG. 26G:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 27A-27E** muestran el mapa de péptidos y el análisis de unión Biacore para muestras del Lote 3. **FIG. 27A:** Isomerización de D32 LC, **FIG. 27B:** Oxidación de M251 HC, **FIG. 27C:** Desamidación de HC PENNYK, **FIG. 27D:** Desamidación de HC VSNK, **FIG. 27E:** Análisis Biacore. (V = vial; P = PFS). (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 28A-28G** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de viales para muestras del Lote 4. **FIG. 28A:** Especies de HMW, **FIG. 28B:** Especies de LMW, **FIG. 28C:** Concentración, **FIG. 28D:** pH, **FIG. 28E:** Turbidez, **FIG. 28F:** Concentración de PS80, **FIG. 28G:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "3M-25C" indica 3 meses de almacenamiento a 25 °C).

Las **FIG. 29A-29E** muestran el mapa de péptidos y el análisis de unión Biacore para muestras del Lote 4. **FIG. 29A:** Isomerización de D32 LC, **FIG.**

29B: Oxidación de M251 HC, **FIG. 29C:** Desamidación de HC PENNYK, **FIG. 29D:** Desamidación de HC VSNK, **FIG. 29E:** Análisis Biacore. (V = vial). (S = semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "1M-5C" indica 1 mes de almacenamiento a 5 °C).

5 Las **FIG. 30A-30G** muestran los datos analíticos del estudio de estabilidad de viales para muestras del Lote 5. **FIG. 30A:** Especies de HMW, **FIG. 30B:** Especies de LMW, **FIG. 30C:** Concentración, **FIG. 30D:** pH, E: Turbidez, **FIG. 30F:** Concentración de PS80, **FIG. 30G:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 10 \mu\text{m/ml}$, partículas $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (S =
10 semanas; M = meses; C = grados Celsius; por ejemplo, "1M-5C" indica 1 mes de almacenamiento a 5 °C).

Las **FIG. 31A-31E** muestran el análisis de muestras para la agitación por acción de la muñeca en viales. **FIG. 31A:** Especie de HMW, **FIG. 31B:** Especies de LMW, **FIG. 31C:** Turbidez, **FIG. 31D:** Análisis de variantes de
15 carga (% Ácido, % de Monómeros, % Básico), **FIG. 31E:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (h = horas).

Las **FIG. 32A-32E** muestran el análisis de muestras de la agitación por acción de la muñeca en PFS. **FIG. 32A:** Especies de HMW, **FIG. 32B:** Especies de LMW, **FIG. 32C:** Turbidez, **FIG. 32D:** Análisis de variantes de carga (%
20 Ácido, % de Monómeros, % Básico), **FIG. 32E:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (h = horas).

Las **FIG. 33A-33F** muestran el análisis de muestras del ciclado de congelación-descongelación. **FIG. 33A:** Especies de HMW, **FIG. 33B:** Especies de LMW, **FIG. 33C:** Turbidez, **FIG. 33D:** Concentración, **FIG. 33E:** pH, **FIG. 33F:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (CD =
25 ciclos de congelación-descongelación).

Las **FIG. 34A-34I** muestran el análisis de muestras para determinar la fotoestabilidad. **FIG. 34A:** Especies de HMW, **FIG. 34B:** Especies de LMW, **FIG. 34C:** Turbidez, **FIG. 34D:** Concentración, **FIG. 34E:** pH, F: concentración de PS 80, **FIG. 34G:** Análisis de variantes de carga, **FIG. 34H:** Análisis de
30 mapas de péptidos totales, **FIG. 34I:** Partículas subvisibles (partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$, $\leq 25 \mu\text{m/ml}$). (d = días).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Anticuerpos anti-C1s humanizados

Las composiciones de la presente divulgación comprenden un anticuerpo anti-C1s humanizado. Un anticuerpo anti-C1s humanizado de la divulgación se une e inhibe la forma activada de C1s dentro de la vía clásica (CP, por sus siglas en inglés). El sistema del complemento es un componente del sistema inmunitario innato que media en la inmunidad humoral. El mecanismo del anticuerpo es específico de la CP, dejando la lectina y las vías alternativas funcionalmente intactas.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación inhibe la escisión mediada por C1s del componente C4 del complemento, por ejemplo, inhibiendo la actividad enzimática del dominio serina-proteasa de C1s. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación inhibe la escisión mediada por C1s del componente C2 del complemento. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación inhibe la escisión mediada por C1s de C4 y C2.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento que tiene la secuencia de aminoácidos representada en la SEQ ID NO: 15. La secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 15, que se proporciona a continuación, representa la proteína C1s del complemento de *Homo sapiens*:

EPTMYGEILSPNYPQAYPSEVEKSWDIEVPEGYGIHLYFTHLDIELSENCAYSVQIIS
 GDTEEGRLCGQRSSNNPHSPIVEEFQVPYNKLQVIFKSDFSNEERFTGFAAYYVATDIN
 ECTDFVDVPCSHFCNNFIGGYFCSCPPEYFLHDDMKNCGVNCSGDVFTALIGEIASPNY
 PKPYPENSRCEYQIRLEKGFQVVVTLRREDFDVEAADSAGNCLDSL VFVAGDRQFGPYC
 GHGFPGPLNIETKSNALDIIFQTDLTGQKKGWKLRYHGDPMPCPKEDTPNSVWEPAKAK
 YVFRDVVQITCLDGFVVEGRVGATSFYSTCQSNGKWSNSKLCQPVD CGIPESIENGK
 VEDPESTLFGSVIRYTCEEPYYMENG GGGGEYHCAGNGSWVNEVLGPELPKCVPVCGVP
 REPFEKQRIIGGSDADIKNFPWQVFFDNPWAGGALINEYWVL TAAHVVEGNREPTMYV
 GSTSVQTSRLAKSKMLTPEHVFIHPGWKLLEVPEGRTNFDNDIALVRLKDPVKMGPTVS
 PICLPGTSSDYNLMDGDLGLISGWGRTEKRDRAVRLKAARLPVAPLRKCKEVKVEKPTA

DAEAYVFTPNMICAGGEKGMDSCKGDSGGFAVQDPNDKTKFYAAGLVSWGPQCGTYGL
YTRVKNYVDWIMKTMQENSTPRED (SEQ ID NO: 15).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una constante de disociación (KD) de no más de 2.5 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una KD de no más de 2 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una KD de no más de 1 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una KD de no más de 0.9 nM, no más de 0.8 nM, no más de 0.7 nM, no más de 0.6 nM, no más de 0.5 nM, no más de 0.4 nM, no más de 0.3 nM, no más de 0.2 nM o no más de 0.1 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una KD de no más de 0.3 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una KD de no más de 0.2 nM. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una KD de no más de 0.1 nM. Un experto en la materia puede determinar los métodos para medir la unión de un anticuerpo a la proteína C1s del complemento humano.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación se une a una proteína C1s del complemento humano con una KD de no más de 90 pM, no más de 80 pM, no más de 70 pM, no más de 60 pM, no más de 50 pM, no más de 40 pM, no más de 30 pM, no más de 20 pM, no más de 10 pM, no más de 9 pM, no más de 8 pM, no más de 7 pM, no más de 6 pM, no más de 5 pM, no más de 4 pM, no más de 3 pM, no más de 2 pM o no más de 1 pM.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación inhibe la vía clásica del complemento con una

concentración inhibidora semimáxima (CI_{50}) de 10^{-8} M o menos, 5×10^{-9} M o menos, o 10^{-9} M o menos.

"Anticuerpo" abarca anticuerpos o inmunoglobulinas de cualquier isotipo, incluyendo, pero sin limitación, anticuerpos humanizados y anticuerpos quiméricos. Un anticuerpo puede ser un anticuerpo monocatenario (scAb) o un anticuerpo de dominio único (dAb) (por ejemplo, un anticuerpo de cadena pesada de dominio único o un anticuerpo de cadena ligera de dominio único; véase Holt *et al.* (2003) *Trends Biotechnol.* 21:484). El término "anticuerpo" también abarca fragmentos de anticuerpos (fragmentos de anticuerpo) que conservan la unión específica a un antígeno. "Anticuerpo" incluye además fragmentos variables monocatenarios (scFv), que son proteínas de fusión de las regiones variables de las cadenas pesadas (V_H) y ligeras (V_L) de los anticuerpos, conectados con un péptido enlazador corto, y diacuerpos, que son dímeros no covalentes de fragmentos scFv que incluyen las V_H y V_L conectados por un enlazador peptídico pequeño (Zapata *et al.*, *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 (1995)). Otras proteínas de fusión que comprenden una porción de unión a antígeno de un anticuerpo y una proteína no anticuerpo también están abarcadas en el término "anticuerpo".

Los "fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, por ejemplo, la región variable o de unión a antígeno del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen un fragmento de unión a antígeno (Fab), Fab', $F(ab')_2$, un fragmento Fv de dominio variable (Fv), un fragmento Fd y un fragmento de unión a antígeno de un receptor de antígeno quimérico.

La digestión de anticuerpos por papaína produce dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, denominados fragmentos "Fab", cada uno con un único sitio de unión a antígeno, y un fragmento "Fc" residual, una designación que refleja la capacidad de cristalizar fácilmente. El tratamiento con pepsina produce un fragmento $F(ab')_2$ que tiene dos sitios de combinación de antígenos y todavía es capaz de entrecruzar el antígeno.

"Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio completo de reconocimiento y unión a antígeno. Esta región incluye un dímero

de un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera en estrecha asociación no covalente. Es en esta configuración que las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a antígeno en la superficie del dímero V_H - V_L . Colectivamente, las seis CDR

5 confieren especificidad de unión a antígeno al anticuerpo. Sin embargo, incluso un dominio variable único (o la mitad de un Fv que comprende solo tres CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque con una afinidad inferior a la del sitio de unión completo.

Los fragmentos "Fab" contienen el dominio constante de la cadena ligera

10 y el primer dominio constante (CH_1) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab difieren de los fragmentos Fab' por la adición de unos pocos restos en el extremo carboxilo del dominio CH_1 de cadena pesada que incluye al menos una cisteína de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en el presente documento para Fab' en el que el resto o restos cisteína de los

15 dominios constantes llevan un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpos $F(ab')_2$ se produjeron originariamente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas de bisagra entre ellos. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

Los fragmentos de anticuerpos "scFv" comprenden las V_H y V_L de un

20 anticuerpo, en donde estas regiones están presentes en una única cadena polipeptídica. En algunas realizaciones, el polipéptido de Fv comprende además un enlazador polipeptídico entre las regiones V_H y V_L , que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión a antígeno. Para una revisión del scFv, véase Pluckthun en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol.

25 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, págs. 269-315 (1994).

"Diacuerpo" se refiere a un pequeño fragmento de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno, fragmentos que comprenden una V_H conectada a una V_L en la misma cadena polipeptídica (V_H - V_L). Mediante el uso de un

30 enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, los dominios se ven obligados a emparejarse con los dominios complementarios de otra cadena y crear dos

sitios de unión a antígeno. Los anticuerpos se describen con más detalle en, por ejemplo, Hollinger *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993).

Un anticuerpo puede ser monovalente o bivalente. Un anticuerpo puede ser un monómero de Ig, que es una molécula "en forma de Y" que consiste en
5 cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras conectadas por enlaces disulfuro.

Los anticuerpos pueden marcarse detectablemente, por ejemplo, con un radioisótopo, una enzima que genera un producto detectable y/o una proteína fluorescente. Los anticuerpos pueden conjugarse adicionalmente con otros
10 restos, tales como miembros de pares de unión específicos, por ejemplo, miembro de biotina del par de unión específico de biotina-avidina. Los anticuerpos también pueden unirse a un soporte sólido, incluyendo, pero sin limitación, placas y/o perlas de poliestireno.

Un anticuerpo "aislado" es aquel que se ha identificado y separado y/o
15 recuperado de un componente de su entorno natural (es decir, que no es de origen natural). Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que podrían interferir con los usos (por ejemplo, usos diagnósticos o terapéuticos) del anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos. En algunas realizaciones, un anticuerpo se
20 purifica (1) a más del 90 %, más del 95 %, más del 98 % o más del 99 % en peso de anticuerpo como se determina mediante el método de Lowry, por ejemplo, (2) a un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de secuencia de aminoácidos N-terminal o interna mediante el uso de un secuenciador de tazas giratorias, o (3) a homogeneidad mediante electroforesis
25 en gel de dodecil sulfato de sodio y poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones reductoras o no reductoras usando tinción de plata o azul de Coomassie. Los anticuerpos aislados abarcan anticuerpos *in situ* dentro de células recombinantes, ya que no habrá presente al menos un componente del entorno natural del anticuerpo. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado se
30 prepara mediante al menos una etapa de purificación.

Un "anticuerpo monoclonal" es un anticuerpo producido por un grupo de células idénticas, todas las cuales se produjeron a partir de una única célula

mediante replicación celular repetitiva. Es decir, el clon de células sólo produce una única especie de anticuerpo. Aunque un anticuerpo monoclonal puede producirse usando tecnología de producción de hibridoma, también pueden usarse otros métodos de producción conocidos por los expertos en la materia (por ejemplo, anticuerpos derivados de bibliotecas de presentación en fagos de anticuerpos).

Una "región determinante de la complementariedad (CDR, *complementarity determining region*)" es los sitios de combinación de antígenos no contiguos que se encuentran dentro de la región variable de los polipéptidos de cadena tanto pesada como ligera. Las CDR han sido descritas por Lefranc *et al.* (2003) *Developmental and Comparative Immunology* 27:55; Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat *et al.*, Departamento de Salud y Servicios Sociales de los EE. UU., "Secuencias de Proteínas de Inmunológico Interest" (1991); de Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); y MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), donde las definiciones incluyen el solapamiento o subconjuntos de restos de aminoácidos cuando se comparan entre sí. Sin embargo, se pretende que la aplicación de cualquiera de las definiciones de Kabat, Lefranc, Chothia o MacCallum (también denominadas sistemas de numeración) para referirse a una CDR de un anticuerpo o anticuerpos injertados o variantes de los mismos esté dentro del alcance del término como se define y se usa en el presente documento.

Las expresiones "CDR1 LC", "CDR2 LC" y "CDR3 LC" se refieren, respectivamente, a la primera, segunda y tercera CDR en una región variable de cadena ligera. Como se usan en el presente documento, las expresiones "CDR1 HC", "CDR2 HC" y "CDR3 HC" se refieren, respectivamente, a la primera, segunda y tercera CDR en una región variable de cadena pesada. Como se usan en el presente documento, los términos "CDR1", "CDR2" y "CDR3" se refieren, respectivamente, a la primera, segunda y tercera CDR de la región variable de cualquiera de las cadenas.

Un "armazón", cuando se usa en referencia a una región variable de anticuerpo, incluye todos los restos de aminoácidos fuera de las regiones CDR dentro de la región variable de un anticuerpo. Un armazón de región variable es

generalmente una secuencia de aminoácidos discontinua que incluye sólo aquellos aminoácidos fuera de las CDR. Una "región marco conservada" incluye cada dominio del armazón que está separado por las CDR.

Un "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo que comprende porciones
 5 de anticuerpos de diferente origen, en donde al menos una porción comprende secuencias de aminoácidos de origen humano. Por ejemplo, el anticuerpo humanizado puede comprender porciones derivadas de un anticuerpo de origen no humano con la especificidad requerida, tal como un ratón, y de secuencias de anticuerpos de origen humano (por ejemplo, inmunoglobulina
 10 quimérica), unidas entre sí químicamente mediante técnicas convencionales (por ejemplo, sintéticas) o preparadas como un polipéptido contiguo usando técnicas de modificación por ingeniería genética (por ejemplo, el ADN que codifica las porciones proteicas del anticuerpo quimérico puede expresarse para producir una cadena polipeptídica contigua). Otro ejemplo de un
 15 anticuerpo humanizado es un anticuerpo que contiene al menos una cadena que comprende una CDR derivada de un anticuerpo de origen no humano y una región marco conservada derivada de una cadena ligera y/o pesada de origen humano (por ejemplo, anticuerpos injertados con CDR con o sin cambios de armazón). Los anticuerpos monocatenarios quiméricos o injertados
 20 con CDR también están abarcados en la expresión inmunoglobulina humanizada. Véase, por ejemplo, Cabilly *et al.*, Pat. de los EE. UU. N.º 4,816,567; Cabilly *et al.*, Patente Europea N.º 0,125,023 B1; Boss *et al.*, Pat. de los EE. UU. N.º 4,816,397; Boss *et al.*, Patente Europea N.º 0,120,694 B1; Neuberger, M. S. *et al.*, WO 86/01533; Neuberger, M. S. *et al.*, Patente
 25 Europea N.º 0,194,276 B1; Winter, Pat. de los EE. UU. N.º 5,225,539; Winter, Patente Europea N.º 0,239,400 B1; Padlan, E. A. *et al.*, Solicitud de Patente Europea N.º 0,519,596 A1. Véase también, Ladner *et al.*, Pat. de los EE. UU. N.º 4,946,778; Huston, Pat. de los EE. UU. N.º 5,476,786; y Bird, R. E. *et al.*, Science, 242: 423-426 (1988)), con respecto a los anticuerpos monocatenarios.
 30 En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado se produce usando ácidos nucleicos sintéticos y/o recombinantes para preparar genes (por ejemplo, ADNc) que codifican la cadena humanizada deseada. Por ejemplo, las

secuencias de ácido nucleico (por ejemplo, ADN) que codifican regiones variables humanizadas pueden construirse usando métodos de mutagénesis por PCR para alterar secuencias de ADN que codifican una cadena humana o humanizada, tal como un molde de ADN de una región variable previamente humanizada (véase, por ejemplo, Kamman, M., *et al.*, Nucl. Acids Res., 17: 5404 (1989)); Sato, K., *et al.*, Cancer Research, 53: 851-856 (1993); Daugherty, B. L. *et al.*, Nucleic Acids Res., 19(9): 2471-2476 (1991); y Lewis, A. P. y J. S. Crowe, Gene, 101: 297-302 (1991)). Usando estos u otros métodos adecuados, también pueden producirse variantes fácilmente. Por ejemplo, pueden mutagenizarse regiones variables clonadas y pueden seleccionarse secuencias que codifican variantes con la especificidad deseada (por ejemplo, de una biblioteca de fagos; véase, por ejemplo, Krebber *et al.*, Pat. de los EE. UU. N.º 5,514,548; Hoogenboom *et al.*, documento WO 93/06213, publicado el 1 de abril de 1993).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado descrito en el presente documento es una IgG de longitud completa, un monómero de Ig, un fragmento Fab, un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fd, un scFv, un scAb o un Fv. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado descrito en el presente documento es una IgG de longitud completa. En algunas realizaciones, la cadena pesada de cualquiera de los anticuerpos anti-C1s humanizados como se describe en el presente documento comprende una región constante de cadena pesada (CH) o una porción de la misma (por ejemplo, CH1, CH2, CH3, o una combinación de las mismas). La región constante de cadena pesada puede ser de cualquier origen adecuado, por ejemplo, humano, de ratón, de rata o de conejo. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada es de una IgG humana (una cadena pesada gamma), por ejemplo, IgG1, IgG2 o IgG4.

En algunas realizaciones, pueden introducirse mutaciones en la región constante de cadena pesada de una cualquiera de los anticuerpos anti-C1s humanizados descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, se introduce una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) en la región constante de cadena pesada (por ejemplo, en un

dominio CH2 (restos 231-340 de IgG1 humana) y/o dominio CH3 (restos 341-447 de IgG1 humana) y/o la región bisagra, con numeración de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat (por ejemplo, el índice EU en Kabat)) para aumentar o disminuir la afinidad del anticuerpo por un receptor de Fc (por ejemplo, un receptor de Fc activado) en la superficie de una célula efectora. Un experto en la materia conoce mutaciones en la región Fc de un anticuerpo que disminuyen o aumentan la afinidad de un anticuerpo por un receptor de Fc y técnicas para introducir dichas mutaciones en el receptor de Fc o fragmento del mismo. Se describen ejemplos de mutaciones en el receptor de Fc de un anticuerpo que pueden realizarse para alterar la afinidad del anticuerpo por un receptor de Fc en, por ejemplo, Smith P *et al.*, (2012) *PNAS* 109: 6181-6186, Pat. de los EE. UU. N.º 6,737,056, y Publicaciones internacionales N.º WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631, que se incorporan en el presente documento por referencia.

En algunas realizaciones, se introducen una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) en la región bisagra de la región constante de cadena pesada (dominio CH1) de manera que el número de restos cisteína en la región bisagra se alteran (por ejemplo, aumentan o disminuyen) como se describe, por ejemplo, en la Pat. de los EE. UU. N.º 5,677,425. El número de restos cisteína en la región bisagra del dominio CH1 puede alterarse para, por ejemplo, facilitar el ensamblaje de las cadenas ligera y pesada, o para alterar (por ejemplo, aumentar o disminuir) la estabilidad del anticuerpo o para facilitar la conjugación del enlazador.

En algunas realizaciones, se introducen una, dos o más mutaciones de aminoácidos (es decir, sustituciones, inserciones o supresiones) en un dominio constante de IgG, o fragmento de unión a FcRn del mismo para alterar (por ejemplo, disminuir o aumentar) la semivida del anticuerpo *in vivo*. En algunas realizaciones, la una o más mutaciones se introducen en un fragmento de dominio Fc o bisagra-Fc. Véanse, por ejemplo, las Publicaciones Internacionales N.º WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631; y las Pat. de los EE. UU. N.º 5,869,046; 6,121,022; 6,277,375; y 6,165,745 para consultar

ejemplos de mutaciones que alterarán (por ejemplo, disminuirán o aumentarán) la semivida de un anticuerpo *in vivo*.

En algunas realizaciones, el anticuerpo de región constante descrito en el presente documento es una región constante de IgG1 y comprende una

5 sustitución de metionina (M) a tirosina (Y) en la posición 252, una sustitución de serina (S) a treonina (T) en la posición 254 y una sustitución de treonina (T) a ácido glutámico (E) en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU como en Kabat. Véase la Pat. de los EE. UU. N.º 7,658,921, que se incorpora en el presente documento por referencia). Se ha demostrado que este tipo de

10 IgG mutante, denominado "mutante de YTE" presenta una semivida aumentada cuatro veces en comparación con versiones de tipo silvestre del mismo anticuerpo (véase Dall'Acqua W F *et al.*, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24). En algunas realizaciones, un anticuerpo comprende un dominio constante de IgG que comprende una, dos, tres o más sustituciones de aminoácidos de

15 restos de aminoácidos en las posiciones 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-436, numeradas de acuerdo con el índice EU como en Kabat. En la técnica se conocen mutaciones adicionales que pueden introducirse en la región constante de cadena pesada que aumentarían la semivida del anticuerpo, por ejemplo, las mutaciones M428L/N434S (numeración EU; numeración de Kabat

20 M459L/N466S) como se describen en Zalevsky *et al.*, Nat Biotechnol. Febrero de 2010; 28(2): 157–159.

En algunas realizaciones, se introducen una, dos o más sustituciones de aminoácidos en una región Fc de dominio constante de IgG para alterar la función o funciones efectoras del anticuerpo. El ligando efector al que se le

25 altera la afinidad puede ser, por ejemplo, un receptor de Fc o el componente C1 del complemento. Este enfoque se describe con más detalle en la Pat. de los EE. UU. N.º 5,624,821 y 5,648,260. En algunas realizaciones, la supresión o inactivación (a través de mutaciones puntuales u otros medios) de un dominio de región constante puede reducir la unión al receptor de Fc del anticuerpo

30 circulante aumentando de este modo la localización tumoral. Véanse, por ejemplo, las Pat. de los EE. UU. N.º 5,585,097 y 8,591,886 para consultar una descripción de mutaciones que suprimen o inactivan el dominio constante y,

por lo tanto, aumentan la localización tumoral. En algunas realizaciones, puede introducirse al menos una sustitución de aminoácido en la región Fc de un anticuerpo descrito en el presente documento para eliminar posibles sitios de glicosilación en la región Fc, lo que puede reducir la unión al receptor de Fc (véase, por ejemplo, Shields R L *et al.*, (2001) J Biol Chem 276: 6591-604).

En algunas realizaciones, al menos un aminoácido en la región constante puede reemplazarse con un resto de aminoácido diferente de manera que el anticuerpo haya alterado la unión a C1q y/o reducido o anulado la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Este enfoque se describe con más detalle en la Pat. de los EE. UU. N.º 6,194,551 (Idusogie *et al.*). En algunas realizaciones, al menos un resto de aminoácido en la región N-terminal del dominio CH2 de un anticuerpo descrito en el presente documento se altera para alterar de este modo la capacidad del anticuerpo para fijar el complemento. Este enfoque se describe con más detalle en la Publicación Internacional N.º WO 94/29351. En algunas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo descrito en el presente documento se modifica para aumentar la capacidad del anticuerpo para mediar en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o para aumentar la afinidad del anticuerpo por un receptor de Fcγ. Este enfoque se describe con más detalle en la Publicación Internacional N.º WO 00/42072.

En algunas realizaciones, para evitar posibles complicaciones debidas al intercambio Fab-brazo, que se sabe que se produce con mAb de IgG4 nativos, los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden comprender una mutación "Adair" estabilizante (Angal S., *et al.*, "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody", Mol Immunol 30, 105-108; 1993), donde la serina 228 (numeración EU; resto 241 de numeración de Kabat) se convierte en prolina dando como resultado una secuencia de bisagra similar a IgG1. En algunas realizaciones, para reducir la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos residuales, se introduce una mutación L235E (numeración EU, correspondiente a L248E en la numeración de Kabat) en la región constante de cadena pesada, por ejemplo,

como se describe en Benhnia *et al.*, J. Virology, diciembre de 2009, págs. 12355–12367.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región 1 determinante de la complementariedad de cadena
 5 ligera (CDR1 LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de KASQSVDYDGDSYMN (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región 2 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR2 LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de DASNLES (SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, un
 10 anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región 3 determinante de la complementariedad de cadena ligera (CDR3 LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de QQSNEPDWT (SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR1 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 LC que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una CDR3 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región 1 determinante de la complementariedad de cadena
 pesada (CDR1 HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de DDYIH
 20 (SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región 2 determinante de la complementariedad de cadena pesada (CDR2 HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de RIDPADGHTKYAPKFQV (SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región 3 determinante de la
 25 complementariedad de cadena pesada (CDR3 HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de YGYGREVFDY (SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR1 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, y una
 30 CDR3 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR1 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la

SEQ ID NO: 1, una CDR2 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una CDR3 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, una CDR1 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, una CDR3 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCKASQSVDDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKILY
DASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAIYYCQQSNEDPWTFGGGT
KVEIK (SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR1 LC, CDR2 LC y CDR3 LC de una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

15 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCTASGFNIKDDYIHWVKQAPGQGLEWIGRID
PADGHTKYAPKFQVKVTITADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARYGYGREV
20 FDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 8). CDR1 de HC, CDR2 de HC y CDR3 de HC de un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 y una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR1 LC, CDR2 LC y CDR3 LC de una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 y CDR1 de HC, CDR2 de HC y

30 CDR3 de HC de un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de

DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKILY
 5 DASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAIYYCQQSNEDPWTFGGGT
 KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
 SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
 SFNRGEC (SEQ ID NO: 9).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado
 10 comprende una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCTASGFNIKDDYIHWVKQAPGQGLEWIGRID
 PADGHTKYAPKFQVKVTITADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARYGYGREV
 FDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
 15 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPS
 NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
 VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE
 20 GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 10).

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

25 En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR1 de LC que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 3 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de aminoácidos de CDR1 LC de la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, un
 30 anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR2 de LC que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 3 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con

respecto a la secuencia de aminoácidos de CDR2 LC de la SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR3 de LC que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 3 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de aminoácidos de CDR3 LC de la SEQ ID NO: 3.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR1 de HC que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 3 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de aminoácidos de CDR1 HC de la SEQ ID NO: 4. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR2 de HC que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 3 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de aminoácidos de CDR2 HC de la SEQ ID NO: 5. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una CDR3 de HC que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 3 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de aminoácidos de CDR3 HC de la SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 20 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de aminoácidos de VL de la SEQ ID NO: 7.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que contiene no más de 20 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de aminoácidos de VH de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VL que comprende una CDR1 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, y comprende regiones marco conservadas que contienen no más de 20 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de VL de la SEQ ID NO: 7.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VH que comprende una CDR1 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, una CDR3 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y comprende regiones marco conservadas que contienen no más de 20 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de VH de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende (a) una VL que comprende una CDR1 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, y comprende regiones marco conservadas que contienen no más de 20 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de VL de la SEQ ID NO: 7, y (b) una VH que comprende una CDR1 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, una CDR3 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y comprende regiones marco conservadas que contienen no más de 20 variaciones de aminoácidos (por ejemplo, no más de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14,

13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 variaciones de aminoácidos) con respecto a la secuencia de VH de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 80 % (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) de identidad con la secuencia de aminoácidos de VL de la SEQ ID NO: 7.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 80 % (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) de identidad con la secuencia de aminoácidos de VH de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VL que comprende una CDR1 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y comprende regiones marco conservadas que tienen al menos un 80 % (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) de identidad con las regiones marco conservadas de la secuencia de VL de la SEQ ID NO: 7.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende una VH que comprende una CDR1 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, una CDR3 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 y comprende regiones marco conservadas que tienen al menos un 80 % (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) de identidad con las regiones marco conservadas de la secuencia de VH de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-C1s humanizado comprende (a) una VL que comprende una CDR1 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 LC que

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, y comprende regiones marco conservadas que tienen al menos un 80 % (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) de identidad con las regiones marco conservadas de la secuencia de VL de la SEQ ID NO: 7, y (b)

5 una VH que comprende una CDR1 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, una CDR3 HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y comprende regiones marco conservadas que tienen al menos un 80 % (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) de identidad con las regiones marco conservadas de la secuencia de VH de la SEQ ID NO: 8.

En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada en uno cualquiera de los anticuerpos anti-C1s humanizados descritos en el presente documento es una región constante de IgG4, o una variante de la misma. En la

15 **Tabla 1** se proporcionan ejemplos de variantes y regiones constantes de IgG4.

Tabla 1. Ejemplos de regiones constantes de cadena pesada

20	Región constante de cadena pesada	Secuencia de aminoácidos
25	Región constante de IgG4 TS	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 11)
30	Variante 1 de región constante de IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV

Región constante de cadena pesada	Secuencia de aminoácidos
5	LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 12)
10 15	Variante 2 de región constante de IgG4 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLT LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 13)

En algunas realizaciones, la cadena ligera de cualquiera de los anticuerpos anti-C1s humanizados descritos en el presente documento puede comprender además una región constante de cadena ligera (C_L). En algunos ejemplos, la C_L es una cadena ligera kappa. En otros ejemplos, la C_L es una cadena ligera lambda. En algunas realizaciones, la C_L es una cadena ligera kappa, cuya secuencia se proporciona a continuación:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO: 14)

Se conocen bien en la técnica otras regiones constantes de cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos, por ejemplo, las proporcionadas en la base de datos IMGT (imgt.org) o en vbase2.org/vbstat.php, las cuales se incorporan en el presente documento por referencia.

30 Composiciones

La presente divulgación proporciona composiciones, incluyendo composiciones o formulaciones farmacéuticas, que comprenden un anticuerpo

anti-C1s humanizado. Un anticuerpo anti-C1s humanizado de la presente divulgación puede formularse en composiciones farmacéuticas mediante combinación con portadores farmacéuticamente aceptables adecuados, diluyentes farmacéuticamente aceptables u otros excipientes

5 farmacéuticamente aceptables.

Las concentraciones de anticuerpos de ejemplo en una composición de la divulgación pueden variar de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml, de aproximadamente 75 mg/ml a aproximadamente 225 mg/ml, de aproximadamente 100 mg/ml a
 10 aproximadamente 200 mg/ml, de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, de aproximadamente 150 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, de aproximadamente 125 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml o de aproximadamente 140 mg/ml a aproximadamente 160 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración de
 15 anticuerpos en una composición de la divulgación es de aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 125 mg/ml, aproximadamente 130 mg/ml, aproximadamente 140 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml, aproximadamente 160 mg/ml, aproximadamente 170 mg/ml, aproximadamente 175 mg/ml, aproximadamente
 20 200 mg/ml o aproximadamente 250 mg/ml. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 150 mg/ml del anticuerpo anti-C1s humanizado.

En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende arginina o una sal de la misma. La arginina puede actuar como estabilizante.
 25 Como se describe en el presente documento, la presencia de arginina reduce la tasa de isomerización del resto ácido aspártico en la posición número 32 en la secuencia de dominio variable de cadena ligera (tasa de isomerización de D32) del anticuerpo en cuestión. Las concentraciones de ejemplo de arginina o una sal de la misma en una composición pueden variar de aproximadamente
 30 50 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 75 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM o de

aproximadamente 125 mM a aproximadamente 150 mM. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 50 mM, aproximadamente 55 mM, aproximadamente 60 mM, aproximadamente 65 mM, aproximadamente 70 mM, aproximadamente 75 mM, aproximadamente 80 mM, aproximadamente 85 mM, aproximadamente 90 mM, aproximadamente 95 mM, aproximadamente 100 mM, aproximadamente 105 mM, aproximadamente 110 mM, aproximadamente 115 mM, aproximadamente 120 mM, aproximadamente 125 mM, aproximadamente 130 mM, aproximadamente 135 mM, aproximadamente 140 mM, aproximadamente 145 mM, aproximadamente 150 mM, aproximadamente 155 mM, aproximadamente 160 mM, aproximadamente 165 mM, aproximadamente 170 mM, aproximadamente 175 mM, aproximadamente 180 mM, aproximadamente 185 mM, aproximadamente 190 mM o aproximadamente 200 mM de arginina o una sal de la misma. Las sales de ejemplo de arginina incluyen citrato de arginina, clorhidrato de arginina, oxalato de arginina, fosfato de arginina, succinato de arginina o tartrato de arginina. También pueden usarse otras sales de arginina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende clorhidrato de arginina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 75 mM a aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 175 mM o de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 150 mM de clorhidrato de arginina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 50 mM, aproximadamente 55 mM, aproximadamente 60 mM, aproximadamente 65 mM, aproximadamente 70 mM, aproximadamente 75 mM, aproximadamente 80 mM, aproximadamente 85 mM, aproximadamente 90 mM, aproximadamente 95 mM, aproximadamente 100 mM, aproximadamente 105 mM, aproximadamente 110 mM, aproximadamente 115 mM, aproximadamente 120 mM, aproximadamente 125 mM, aproximadamente 130 mM, aproximadamente 135 mM, aproximadamente 140 mM, aproximadamente 145 mM, aproximadamente 150 mM, aproximadamente 155 mM,

aproximadamente 160 mM, aproximadamente 165 mM, aproximadamente 170 mM, aproximadamente 175 mM, aproximadamente 180 mM, aproximadamente 185 mM, aproximadamente 190 mM o aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 150 mM de clorhidrato de arginina. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende un agente tamponante. Las concentraciones de ejemplo de un agente tamponante en una composición pueden variar de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 40 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM o de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 1 mM, aproximadamente 2 mM, aproximadamente 3 mM, aproximadamente 4 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 6 mM, aproximadamente 7 mM, aproximadamente 8 mM, aproximadamente 9 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 11 mM, aproximadamente 12 mM, aproximadamente 13 mM, aproximadamente 14 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 16 mM, aproximadamente 17 mM, aproximadamente 18 mM, aproximadamente 19 mM o aproximadamente 20 mM de un agente tamponante. Los agentes tamponantes de ejemplo incluyen acetato, citrato, histidina, oxalato, fosfato, succinato y tartrato. También pueden usarse otros agentes tamponantes. En algunas realizaciones, el agente tamponante es histidina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 40 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 25 mM, de

aproximadamente 5 mM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM o de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM de histidina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 1 mM,

5 aproximadamente 2 mM, aproximadamente 3 mM, aproximadamente 4 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 6 mM, aproximadamente 7 mM, aproximadamente 8 mM, aproximadamente 9 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 11 mM, aproximadamente 12 mM, aproximadamente 13 mM, aproximadamente 14 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 16 mM,

10 aproximadamente 17 mM, aproximadamente 18 mM, aproximadamente 19 mM o aproximadamente 20 mM de histidina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 10 mM de histidina. El tampón de histidina puede comprender histidina y una sal de histidina. La concentración de histidina se refiere a la concentración de histidina

15 y cualquier sal opcional de histidina que esté presente. La contribución de los componentes individuales a la concentración depende del pH diana. En algunas realizaciones, el tampón de histidina comprende histidina y un clorhidrato de histidina. En algunas realizaciones, la concentración de histidina se refiere a la concentración tanto de histidina como de clorhidrato de histidina.

20 En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende un estabilizante además de arginina. Las concentraciones de ejemplo de un estabilizante en una composición pueden variar de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 8 % (p/v), de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 5 % (p/v), de aproximadamente el 1 % a

25 aproximadamente el 3 % (p/v) o de aproximadamente el 3 % a aproximadamente el 5 % (p/v). En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente el 1 % (p/v), aproximadamente el 2 % (p/v), aproximadamente el 3 % (p/v), aproximadamente el 4 % (p/v), aproximadamente el 5 % (p/v), aproximadamente el 6 % (p/v),

30 aproximadamente el 7 % (p/v) o aproximadamente el 8 % (p/v) de un estabilizante. En algunas realizaciones, el estabilizante es un azúcar, alcohol de azúcar o un amino azúcar. Los azúcares de ejemplo, alcoholes de azúcar y

amino azúcares incluyen fructosa, galactosa, glucosa, lactosa, maltosa, manosa, rafinosa, sorbitol, sorbosa, sacarosa, galactosamina, glucosamina, N-metilglucosamina y ácido neuramínico. También pueden usarse otros estabilizantes. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación

5 comprende sacarosa, trehalosa o sorbitol. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende sacarosa. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 8 % (p/v), de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 5 % (p/v), de aproximadamente el 1 % a

10 aproximadamente el 3 % (p/v) o de aproximadamente el 3 % a aproximadamente el 5 % (p/v) de sacarosa. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente el 1 % (p/v), aproximadamente el 2 % (p/v), aproximadamente el 3 % (p/v), aproximadamente el 4 % (p/v), aproximadamente el 5 % (p/v),

15 aproximadamente el 6 % (p/v), aproximadamente el 7 % (p/v) o aproximadamente el 8 % (p/v) de sacarosa. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente el 3 % (p/v) de sacarosa. La sacarosa también puede actuar como crioprotector. En algunas realizaciones, una composición puede comprender un crioprotector diferente

20 seleccionado de etilenglicol, sulfóxido de dimetilo (DMSO), glicerol, trehalosa y propilenglicol. También pueden usarse otros crioprotectores. En algunas realizaciones, la concentración de un crioprotector en una composición puede variar de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v), de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 5 % (p/v), de

25 aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 3 % (p/v) o de aproximadamente el 3 % a aproximadamente el 5 % (p/v). En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente el 1 % (p/v), aproximadamente el 2 % (p/v), aproximadamente el 3 % (p/v), aproximadamente el 4 % (p/v), aproximadamente el 5 % (p/v),

30 aproximadamente el 6 % (p/v), aproximadamente el 7 % (p/v), aproximadamente el 8 % (p/v), aproximadamente el 9 % (p/v) o aproximadamente el 10 % (p/v) de un crioprotector.

En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende un quelante. Las concentraciones de ejemplo de un quelante en una composición pueden variar de aproximadamente 1 μM a aproximadamente 50 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 40 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 30 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 25 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 20 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 15 μM , de aproximadamente 10 μM a aproximadamente 20 μM , de aproximadamente 10 μM a aproximadamente 25 μM o de aproximadamente 10 μM a 30 μM . En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende un quelante a una concentración de aproximadamente 1 μM , aproximadamente 2 μM , aproximadamente 3 μM , aproximadamente 4 μM , aproximadamente 5 μM , aproximadamente 6 μM , aproximadamente 7 μM , aproximadamente 8 μM , aproximadamente 9 μM , aproximadamente 10 μM , aproximadamente 11 μM , aproximadamente 12 μM , aproximadamente 13 μM , aproximadamente 14 μM , aproximadamente 15 μM , aproximadamente 16 μM , aproximadamente 17 μM , aproximadamente 18 μM , aproximadamente 19 μM o aproximadamente 20 μM . Los quelantes de ejemplo incluyen ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), pentaacetato de dietilentriamina (DTPA), dihidroxi etil glicina, ácido cítrico, ácido tartárico y metionina. También pueden usarse otros quelantes. En algunas realizaciones, el quelante es metionina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 7.5 mM, de aproximadamente 7.5 mM a aproximadamente 10 mM, de aproximadamente 6 mM a aproximadamente 8 mM o de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 10 mM de metionina. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 5 mM, aproximadamente 5.5 mM, aproximadamente 6 mM, aproximadamente 6.5 mM, aproximadamente 7 mM, aproximadamente 7.5 mM, aproximadamente 8 mM, aproximadamente 8.5 mM, aproximadamente 9 mM, aproximadamente 9.5 mM o aproximadamente 10 mM de metionina. El artesano experto reconocería que la concentración de un quelante puede variar dependiendo del quelante que se

esté usando. En algunas realizaciones, el quelante es DTPA. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende de aproximadamente 1 μM a aproximadamente 50 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 40 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 30 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 25 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 20 μM , de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 15 μM , de aproximadamente 10 μM a aproximadamente 20 μM , de aproximadamente 10 μM a aproximadamente 25 μM o de aproximadamente 10 μM a 30 μM de DTPA. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 1 μM , aproximadamente 2 μM , aproximadamente 3 μM , aproximadamente 4 μM , aproximadamente 5 μM , aproximadamente 6 μM , aproximadamente 7 μM , aproximadamente 8 μM , aproximadamente 9 μM , aproximadamente 10 μM , aproximadamente 11 μM , aproximadamente 12 μM , aproximadamente 13 μM , aproximadamente 14 μM , aproximadamente 15 μM , aproximadamente 16 μM , aproximadamente 17 μM , aproximadamente 18 μM , aproximadamente 19 μM o aproximadamente 20 μM de DTPA. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente 10 μM de DTPA.

En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende un tensioactivo. Las concentraciones de ejemplo de un tensioactivo en una composición pueden variar de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v), de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0.6 % (p/v), de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0.08 % (p/v), de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v), de aproximadamente el 0.05 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) o de aproximadamente el 0.06 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v). En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende un tensioactivo a una concentración de aproximadamente el 0.01 % (p/v), aproximadamente el 0.02 % (p/v), aproximadamente el 0.03 % (p/v), aproximadamente el 0.04 % (p/v), aproximadamente el 0.05 % (p/v), aproximadamente el 0.06 % (p/v), aproximadamente el 0.07 % (p/v), aproximadamente el 0.08 % (p/v), aproximadamente el 0.09 % (p/v) o aproximadamente el 0.1 % (p/v). Los

tensioactivos de ejemplo incluyen polisorbatos (por ejemplo, polisorbato 20 (PS20), polisorbato 40 (PS40), polisorbato 60 (PS60) y polisorbato 80 (PS80)), ácidos dicarboxílicos, ácido oxálico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido ftálico, monooleato de polioxietilén sorbitán, poloxámeros (por ejemplo, P188) y polietilenglicol. También pueden usarse otros tensioactivos. En algunas realizaciones, el tensioactivo es P188. En algunas realizaciones, el tensioactivo es PS80. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v), de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0,6 % (p/v), de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0.08 % (p/v), de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v), de aproximadamente el 0.05 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v), de aproximadamente el 0.06 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de PS80. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente el 0.01 % (p/v), aproximadamente el 0.02 % (p/v), aproximadamente el 0.03 % (p/v), aproximadamente el 0.04 % (p/v), aproximadamente el 0.05 % (p/v), aproximadamente el 0.06 % (p/v), aproximadamente el 0.07 % (p/v), aproximadamente el 0.08 % (p/v), aproximadamente el 0.09 % (p/v) o aproximadamente el 0.1 % (p/v) de PS80. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación comprende aproximadamente el 0.06 % (p/v) de PS80.

Una composición de la divulgación puede tener un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.5, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7, de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.5 o de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.1. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación tiene un pH de aproximadamente 6.0, aproximadamente 6.1, aproximadamente 6.2, aproximadamente 6.3, aproximadamente 6.4, aproximadamente 6.5, aproximadamente 6.6, aproximadamente 6.7, aproximadamente 6.8, aproximadamente 6.9, aproximadamente 7.0, aproximadamente 7.1, aproximadamente 7.2, aproximadamente 7.3, aproximadamente 7.4 o aproximadamente 7.5. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación tiene un pH de

aproximadamente 6.5-7.1. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación tiene un pH de aproximadamente 6.8. Los estudios descritos en el presente documento demuestran que ajustar el pH en composiciones que comprenden arginina fue beneficioso para reducir la isomerización de D32 del anticuerpo en cuestión. El pH de la composición puede medirse por cualquier medio conocido por los expertos en la materia. Un medio para medir el pH es usar un medidor de pH con un microelectrodo. El pH de la composición puede ajustarse usando cualquier medio conocido en la técnica (por ejemplo, añadiendo o ajustando la concentración de un agente ácido, base o tamponante).

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado, arginina o una sal de la misma, y uno o más de: un tampón, un estabilizante o crioprotector, un quelante y un tensioactivo.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de HCl de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de citrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de

aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición
5 que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de oxalato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de
10 aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición
15 que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de fosfato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de
20 aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición
25 que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de succinato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de
30 aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato

80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de tartrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de acetato; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de citrato; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a

aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de oxalato; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de fosfato; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de succinato; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato

80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de tartrato; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sorbitol; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de trehalosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de

aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

5 En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de
10 aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de EDTA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es
15 clorhidrato de L-arginina.

 En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de
20 aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 10 mM de metionina; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a
25 aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

 En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente
30 50 mM a aproximadamente 200 mM de clorhidrato de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de

aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de poloxámero 188 (P188), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es

5 clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición que comprende (a) aproximadamente 150 mg/ml del anticuerpo; (b) aproximadamente 150 mM de HCl de arginina; (c) aproximadamente 10 mM de histidina; (d) aproximadamente el 3 % (p/v) de sacarosa; (e) aproximadamente

10 10 μ M de DTPA; y (f) aproximadamente el 0.06 % (p/v) de PS80, y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.1, o aproximadamente 6.8. En algunas realizaciones, una composición comprende (a) aproximadamente 150 mg/ml del anticuerpo; (b) aproximadamente 150 mM de HCl de arginina; (c) aproximadamente 20 mM de citrato; y (f)

15 aproximadamente el 0.02 % (p/v) de PS80, y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6.5. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

Una composición de la divulgación puede comprender otros excipientes incluyendo, pero sin limitación, agua para inyección, diluyentes, agentes

20 solubilizantes, agentes calmantes, tampones adicionales, sales inorgánicas u orgánicas, antioxidantes o similares. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación no comprende ningún otro excipiente, excepto aquellos descritos anteriormente. En la formulación pueden incluirse otros portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables tales como los

25 descritos en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16.^a edición, Osol, A. Ed. (1980) siempre que no afecten negativamente a las características deseadas de la formulación. En algunas realizaciones, puede añadirse un conservante. En algunas realizaciones, la composición está sustancialmente exenta de conservantes. Pueden incluirse crioprotectores o lioprotectores en

30 formulaciones liofilizadas.

Una composición de la divulgación puede estar en forma líquida, una forma liofilizada en donde la preparación liofilizada ha de reconstituirse con una

solución estéril antes de la administración, o una forma líquida reconstituida a partir de una forma liofilizada. El procedimiento convencional para reconstituir una composición liofilizada es añadir de nuevo un volumen de agua pura (normalmente equivalente al volumen eliminado durante la liofilización); sin embargo, pueden usarse soluciones que comprenden agentes antibacterianos para la producción de composiciones farmacéuticas para la administración parenteral; véase también Chen (1992) *Drug Dev Ind Pharm* 18, 1311-54. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación es una forma líquida. Una formulación líquida puede estar lista para la inyección o puede diluirse antes de la inyección.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una formulación de anticuerpos líquida estable que comprende un anticuerpo anti-C1s humanizado, arginina o una sal de la misma, y uno o más de: un tampón, un estabilizante o crioprotector, un quelante y un tensioactivo.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una formulación de anticuerpos líquida estable que comprende (a) de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo anti-C1s humanizado; (b) de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 200 mM de HCl de arginina; (c) de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM de histidina; (d) de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (p/v) de sacarosa; (e) de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 50 μ M de DTPA; y (f) de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 % (p/v) de polisorbato 80 (PS80), y en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una formulación de anticuerpos líquida estable que comprende (a) aproximadamente 150 mg/ml del anticuerpo; (b) aproximadamente 150 mM de HCl de arginina; (c) aproximadamente 10 mM de histidina; (d) aproximadamente el 3 % (p/v) de sacarosa; (e) aproximadamente 10 μ M de DTPA; y (f) aproximadamente el 0.06 % (p/v) de PS80, y en donde la composición tiene un pH de

aproximadamente 6.5 a aproximadamente 7.1, o de aproximadamente 6.8. En algunas realizaciones, el clorhidrato de arginina es clorhidrato de L-arginina.

Las composiciones contempladas son estables a 5 °C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 meses, o más. En algunas realizaciones, las composiciones son estables a 5 °C durante al menos aproximadamente 12, 18, 24 o 30 meses, o más. En algunas realizaciones, son estables a 5 °C durante al menos aproximadamente 6 meses o más. En algunas realizaciones, son estables a 5 °C durante al menos aproximadamente 9 meses. En algunas realizaciones, son estables a 5 °C durante al menos aproximadamente 1 año o más, o más de aproximadamente 2 años.

Las composiciones de la divulgación presentan niveles altos de estabilidad. El término "estable", como se usa en el presente documento en referencia a las composiciones, significa que los anticuerpos dentro de las composiciones conservan un grado aceptable de estructura y/o función y/o actividad biológica después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida. Una composición puede ser estable incluso a pesar de que el anticuerpo contenido en la misma no mantenga el 100 % de su estructura y/o función y/o actividad biológica después del almacenamiento durante un período de tiempo definido. En determinadas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 85 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de la estructura y/o función y/o actividad biológica de un anticuerpo después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida puede considerarse "estable".

En algunas realizaciones, la estabilidad se mide determinando el porcentaje de anticuerpo nativo que queda en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo a una temperatura dada. El porcentaje de anticuerpo nativo puede determinarse, por ejemplo, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía de líquidos de alto rendimiento de exclusión por tamaño [SE-HPLC]) o cualquier otro método conocido en la técnica para caracterizar el % de

monómeros, el % de especies de alto peso molecular y el % de especies de bajo peso molecular. En algunas realizaciones, la estabilidad se mide determinando la estabilidad térmica (por ejemplo, realizando calorimetría diferencial de barrido (DSC). En algunas realizaciones, la estabilidad se mide
5 determinando la estabilidad mecánica (por ejemplo, realizando agitación controlada). En algunas realizaciones, la estabilidad se mide determinando la turbidez de la solución (por ejemplo, midiendo la densidad óptica (DO) de 340 nm a 360 nm). En algunas realizaciones, la estabilidad se determina midiendo partículas subvisibles (por ejemplo, mediante oscurecimiento de la luz
10 usando un contador de partículas líquidas o mediante formación de imágenes de microflujo (IMF)). En algunas realizaciones, la estabilidad se determina midiendo la degradación química, tal como isomerización, oxidación y desamidación usando mapeo de péptidos triptico. En algunas realizaciones, la estabilidad se determina midiendo la opalescencia de la solución usando
15 micronefelometría.

En algunas realizaciones, la estabilidad puede evaluarse indirectamente midiendo la concentración de PS80. En algunas realizaciones, la concentración de PS80 se mide mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento con detector de aerosol cargado (HPLC-CAD).

20 La estabilidad también puede evaluarse midiendo la actividad biológica y/o la afinidad de unión del anticuerpo a su diana. Por ejemplo, una formulación de la presente invención 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, de 1 a 12 meses), el anticuerpo anti-C1s
25 humanizado contenido en la composición se une a C1s humanas con una afinidad que es al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, o más, de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento.

Las composiciones de la divulgación inhiben la isomerización de anticuerpos. En algunas realizaciones, la isomerización es de ácido aspártico a
30 ácido isoaspártico. En algunas realizaciones, la isomerización es en D32 de la cadena ligera, ubicada en CDR1, del anticuerpo. Puede ser aceptable un determinado nivel de isomerización siempre que la función del anticuerpo no se

vea comprometida. Por lo tanto, una composición puede tener un nivel aceptable de isomerización incluso a pesar de que el anticuerpo contenido en la misma no mantenga el 100 % de su estructura y/o función y/o actividad biológica después del almacenamiento durante un período de tiempo definido.

- 5 En determinadas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 85 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de la estructura y/o función y/o actividad biológica de un anticuerpo después del almacenamiento
- 10 durante una cantidad de tiempo definida puede considerarse niveles aceptables de isomerización. La isomerización puede determinarse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. En algunas realizaciones, la isomerización se determina realizando un análisis de mapas de péptidos totales. En algunas realizaciones, la isomerización se mide determinando el
- 15 porcentaje de isomerización en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo a una temperatura dada. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización de menos de aproximadamente el 10 %, menos de aproximadamente el 9 %, menos de aproximadamente el 8 % o menos de aproximadamente el 7.5 % después de
- 20 12 semanas de almacenamiento a 5 °C. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización de menos de aproximadamente el 25 %, menos de aproximadamente el 24 %, menos de aproximadamente el 23 %, menos de aproximadamente el 21 % o menos de aproximadamente el 20 % después de 12 semanas de almacenamiento a 25 °C. En algunas
- 25 realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización de menos de aproximadamente el 40 %, menos de aproximadamente el 39 %, menos de aproximadamente el 38 %, menos de aproximadamente el 37 %, menos de aproximadamente el 36 % o menos de aproximadamente el 35 % después de 12 semanas de almacenamiento a 40 °C.
- 30 En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización inferior (por ejemplo, en D32 en la CDR1 de cadena ligera) en comparación con el anticuerpo en una formulación correspondiente sin arginina o una sal de la

misma. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización que es al menos aproximadamente el 2 % o al menos aproximadamente el 3 % por semana a 40 °C. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización que es al menos aproximadamente un 1-3 % inferior por mes a 25 °C o al menos aproximadamente un 0.4 %, 0.5 % o 0.6 % inferior por mes a 5 °C, en comparación con el anticuerpo en una formulación correspondiente sin arginina o una sal de la misma. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una tasa de isomerización después de 12 semanas de almacenamiento a 25 °C que es aproximadamente un 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 % o 10 % inferior en comparación con el anticuerpo en una formulación correspondiente sin arginina o una sal de la misma.

Vías de administración

Un anticuerpo de la presente divulgación puede administrarse a un sujeto usando cualquier método convencional disponible y vías adecuadas para el suministro de fármacos convencionales, incluyendo vías sistémicas o localizadas. En general, las vías de administración contempladas en la divulgación incluyen, pero no necesariamente se limitan a, las vías enteral, parenteral o de inhalación.

Las vías de administración parenteral distintas de la administración por inhalación incluyen, pero no se limitan necesariamente a, las vías tópica, transdérmica, subcutánea, intramuscular, intraorbital, intracapsular, intraspinal, intrasternal, intratecal e intravenosa, es decir, cualquier vía de administración distinta del canal alimentario. La administración parenteral puede realizarse para efectuar el suministro sistémico o local de un anticuerpo en cuestión. Cuando se desea un suministro sistémico, la administración normalmente implica la administración tópica o por mucosas invasiva o sistémicamente absorbida de preparaciones farmacéuticas.

Las vías de administración pueden combinarse, si se desea, o ajustarse dependiendo del efecto deseado. Una composición puede administrarse en una dosis única o en dosis múltiples. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación se administra por vía intravenosa. En algunas realizaciones, una composición de la divulgación se administra por vía subcutánea.

Dosis y formas farmacéuticas

Un médico especialista u otro personal médico cualificado puede determinar la dosis adecuada, basándose en diversos factores clínicos. Como es bien sabido en las técnicas médicas, las dosis para un paciente cualquiera
5 dependen de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área de superficie corporal, la edad, el compuesto particular que ha de administrarse, el sexo del paciente, el tiempo y la vía de administración, la salud general y otros fármacos que se administran simultáneamente.

Los expertos apreciarán fácilmente que los niveles de dosis y los
10 esquemas de administración pueden variar en función del anticuerpo específico, la gravedad de los síntomas y la susceptibilidad del sujeto a efectos secundarios. Los expertos en la materia pueden determinar las dosis y los esquemas de administración preferidos para un compuesto dado por una diversidad de medios.

15 La divulgación también proporciona una forma farmacéutica unitaria que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de la divulgación para el tratamiento de una o más enfermedades mediadas por el complemento en un sujeto a través de la administración de la forma posológica al sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano. La expresión
20 "forma farmacéutica unitaria" se refiere a una unidad físicamente separada adecuada como dosis unitarias para los sujetos que han de tratarse, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico/profiláctico deseado.

La forma farmacéutica unitaria puede ser un recipiente que comprende
25 la formulación. Los recipientes adecuados incluyen, pero sin limitación, ampollas selladas, viales (por ejemplo, un vial de vidrio), botellas, jeringas y tubos de ensayo. Los recipientes pueden estar formados a partir de una diversidad de materiales, tales como vidrio o plástico, y pueden tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser un frasco que tiene un
30 tapón que puede perforarse mediante una aguja de inyección hipodérmica). En algunas realizaciones, el recipiente es un vial. En algunas realizaciones, el

recipiente es una jeringa precargada. En general, el recipiente debe mantener la esterilidad y estabilidad de la formulación.

En algunas realizaciones, la composición se empaqueta en un vial (10R) que está hecho de vidrio de tipo I y se cierra con un tapón (clorobutilo recubierto con flurotec) sellado con tapas abatibles con reborde (aluminio). En algunas realizaciones, los viales se cargan con 8 ml de la composición.

En algunas realizaciones, la composición se empaqueta en una jeringa precargada hecha de vidrio (OMPI) y se cierra con un tapón de caucho (Novapure). Las jeringas precargadas, en algunas realizaciones, se cargan con 2 ml de la composición.

Un dispositivo de administración de fármacos ilustrativo puede implicar un sistema de inyección con aguja como se describe en la Tabla 1 de la sección 5.2 de la norma ISO 11608-1:2014(E). Como se describe en la norma ISO 11608-1:2014(E), los sistemas de inyección con aguja se pueden distinguir en términos generales en sistemas de recipientes multidosis y sistemas de recipientes de dosis única (con evacuación parcial o total). El recipiente puede ser un recipiente reemplazable o un recipiente integrado no reemplazable.

Como se describe con más detalle en la norma ISO 11608-1:2014(E), un sistema de recipiente multidosis puede implicar un dispositivo de inyección con aguja con un recipiente reemplazable. En dicho sistema, cada recipiente contiene múltiples dosis, cuyo tamaño puede ser fijo o variable (preestablecido por el usuario). Otro sistema de recipiente multidosis puede implicar un dispositivo de inyección con aguja con un recipiente integrado no reemplazable. En dicho sistema, cada recipiente contiene múltiples dosis, cuyo tamaño puede ser fijo o variable (preestablecido por el usuario).

Como se describe con más detalle en la norma ISO 11608-1:2014(E), un sistema de recipiente de dosis única puede implicar un dispositivo de inyección con aguja con un recipiente reemplazable. En un ejemplo de un sistema de este tipo, cada recipiente contiene una dosis única, de modo que se expulsa todo el volumen administrable (evacuación completa). En otro ejemplo, cada recipiente contiene una dosis única, de modo que se expulsa una parte del volumen suministrable (evacuación parcial). Como se describe también en la

norma ISO 11608-1:2014(E), un sistema de recipiente de dosis única puede implicar un dispositivo de inyección con aguja con un recipiente integrado no reemplazable. En un ejemplo de un sistema de este tipo, cada recipiente contiene una dosis única, de modo que se expulsa todo el volumen

- 5 administrable (evacuación completa). En otro ejemplo, cada recipiente contiene una dosis única, de modo que se expulsa una parte del volumen suministrable (evacuación parcial).

En la publicación internacional WO2015/004052 se describe un autoinyector accionado por manguito con inserción de aguja manual de
10 ejemplo. En las publicaciones internacionales WO2016/193346 y WO2016/193348 se describen ejemplos de mecanismos con información sonora al final de la dosis. En la publicación internacional WO2016/193352 se describe un ejemplo de mecanismo de protección de la aguja tras usar un autoinyector. En la publicación internacional WO2016/193353 se describe un
15 ejemplo de mecanismo de extracción de la cubierta de la aguja para una jeringa autoinyectora. En la publicación internacional WO2016/193355 se describe un ejemplo de mecanismo de soporte para mantener una posición axial de una jeringa.

Kits y artículos de fabricación

20 La presente divulgación proporciona un kit o un artículo de fabricación que comprende una composición de la divulgación. El kit o artículo de fabricación comprende un recipiente que comprende una composición de la divulgación. El kit o artículo de fabricación puede comprender además uno o más recipientes que comprenden excipientes farmacéuticamente aceptables e
25 incluir otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y de usuario, incluyendo filtros, agujas y jeringas. Asociadas a los kits pueden incluirse instrucciones habitualmente en paquetes comerciales de productos terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico, que contienen información sobre, por ejemplo, las indicaciones, uso, dosificación, fabricación, administración,
30 contraindicaciones y/o advertencias relativas al uso de dichos productos terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico. El kit también puede asociarse a una etiqueta que puede ser cualquier tipo de soporte de datos (por ejemplo, un

folleto, una pegatina, un chip, una impresión o un código de barras) que comprende información. En determinadas realizaciones, las instrucciones enumeradas anteriormente pueden incluirse en o sobre la etiqueta. El kit puede comprender además un dispositivo para la administración de la formulación, y en particular un dispositivo que contiene la composición, es decir, un dispositivo precargado tal como, pero sin limitación, una jeringa precargada o un autoinyector precargado. El kit también puede comprender un recipiente que comprende la composición, es decir, un recipiente precargado, tal como un vial, cartucho, sobre o ampolla precargados.

10 **Enfermedades mediadas por el complemento**

Las composiciones de la presente divulgación son útiles para el tratamiento de enfermedades mediadas por el complemento. Por lo tanto, en un aspecto, la presente divulgación proporciona métodos de tratamiento de una enfermedad mediada por el complemento. El método generalmente implica administrar una cantidad eficaz de una composición de la divulgación a un sujeto que lo necesita. En algunos casos, la administración de una composición de la divulgación modula la actividad de C1s del complemento en una célula, un tejido, un fluido o un órgano de un individuo, y trata la enfermedad o el trastorno mediados por el complemento. La presente divulgación proporciona métodos de inhibición de la activación del componente C4 del complemento en un individuo, comprendiendo los métodos administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición de la presente divulgación. La presente divulgación proporciona métodos de inhibición de la actividad de C1s del complemento en un sujeto, comprendiendo los métodos administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición de la presente divulgación. La presente divulgación proporciona métodos de reducción del nivel de un producto de escisión de componentes del complemento en un sujeto (por ejemplo, en un fluido, tejido u órgano en un individuo), comprendiendo los métodos administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición de la presente divulgación.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de una composición de la presente divulgación es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto que lo necesita, reduce el nivel de un producto de escisión de

componentes del complemento en el sujeto (por ejemplo, en un fluido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de una composición de la presente divulgación, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto que lo necesita, reduce el nivel de un producto de escisión de componentes del complemento en el sujeto (por ejemplo, en un fluido, tejido u órgano en el individuo) en al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o el 100 %, en comparación con el nivel del producto de escisión de componentes del complemento en el fluido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con la composición, por ejemplo, antes del tratamiento con la composición. En algunas realizaciones, el producto de escisión de componentes del complemento es un producto de escisión C4 (por ejemplo, C4b). En algunas realizaciones, el producto de escisión de componentes del complemento es un producto de escisión C2 (por ejemplo, C2a). En algunas realizaciones, el producto de escisión de componentes del complemento es un producto de escisión C3.

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de una composición de la presente divulgación, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto que lo necesita, reduce la actividad de la vía clásica del complemento en el sujeto (por ejemplo, en un fluido, tejido u órgano en el individuo). En algunos casos, una "cantidad eficaz" de una composición de la presente divulgación, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto que lo necesita, reduce, en aproximadamente 48 horas, en aproximadamente 24 horas, en aproximadamente 12 horas, en aproximadamente 8 horas o en aproximadamente 4 horas de administración del anticuerpo anti-C1s humanizado, la actividad de la vía clásica del complemento en el sujeto (por ejemplo, en un fluido, tejido u órgano en el individuo), en al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el

90 %, al menos el 95 % o el 100 %, en comparación con la actividad de la vía clásica del complemento en el fluido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con la composición, por ejemplo, antes del tratamiento con la composición. El nivel de actividad de la vía clásica del complemento puede determinarse usando cualquiera de una diversidad de métodos. Como un ejemplo no limitante, la actividad de la vía clásica del complemento puede determinarse *ex vivo*, por ejemplo, determinando el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en una muestra de sangre, suero o plasma obtenida del individuo. Por ejemplo, la vía clásica del complemento en la muestra de sangre, suero o plasma puede activarse *ex vivo*, y puede determinarse la cantidad de un producto de escisión de componentes del complemento (tal como C5b-9) generado por dicha activación.

En algunas realizaciones, una "cantidad eficaz" de una composición de la presente divulgación, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto que lo necesita, mantiene una reducción en el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en el sujeto (por ejemplo, en un fluido, tejido u órgano en el individuo) de al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o el 100 %, en comparación con el nivel de actividad de la vía clásica del complemento en el fluido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con la composición, por ejemplo, antes del tratamiento con la composición, donde la reducción se mantiene durante un período de tiempo de aproximadamente 4 horas a aproximadamente 30 días (por ejemplo, de 4 horas a 8 horas, de 8 horas a 24 horas, de 2 días a 4 días, de 4 días a 7 días, de 7 días a 14 días, de 14 días a 21 días o de 21 días a 30 días).

En algunas realizaciones, una "cantidad eficaz" de una composición de la presente divulgación, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto que lo necesita, mantiene una reducción en el nivel de un producto de escisión de componentes del complemento en el sujeto (por ejemplo, en un fluido, tejido u órgano en el individuo) de al menos el 10 %, al

menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o el 100 %, en comparación con el nivel del producto de escisión de componentes del complemento en el fluido, tejido u órgano en ausencia de tratamiento con la composición, por ejemplo, antes del tratamiento con la composición, donde la reducción se mantiene durante un período de tiempo de aproximadamente 4 horas a aproximadamente 30 días (por ejemplo, de 4 horas a 8 horas, de 8 horas a 24 horas, de 2 días a 4 días, de 4 días a 7 días, de 7 días a 14 días, de 14 días a 21 días o de 21 días a 30 días).

En algunos casos, una "cantidad eficaz" de una composición de la presente divulgación, es una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un sujeto que lo necesita, reduce la producción de C4b2a (es decir, C4b del complemento y complejo C2a; también conocido como "C3 convertasa") en el sujeto (o en un fluido, tejido u órgano del individuo) en al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el %, al menos el %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o el 100 %, en comparación con la cantidad de C4b2a producida en el sujeto, o el fluido, tejido u órgano, en ausencia de tratamiento con la composición, por ejemplo, antes del tratamiento con la composición.

La presente divulgación proporciona un método para modular la activación del complemento. En algunas realizaciones, el método inhibe la activación del complemento, por ejemplo, para reducir la producción de C4b2a. En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona un método para modular la activación del complemento en un individuo que tiene una enfermedad mediada por el complemento, comprendiendo el método administrar al individuo una composición de la presente divulgación. En algunas realizaciones, dicho método inhibe la activación del complemento.

En algunas realizaciones, una enfermedad mediada por el complemento se caracteriza por la presencia en una célula, un tejido o un fluido de una

cantidad elevada (superior a la normal) de C1s o de un nivel elevado de actividad de C1s del complemento. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una enfermedad mediada por el complemento se caracteriza por la presencia en el tejido cerebral y/o el líquido cefalorraquídeo de una cantidad elevada y/o una actividad elevada de C1s. Una cantidad "superior a la normal" de C1s en una célula, un tejido o un fluido indica que la cantidad de C1s en la célula, tejido o fluido es superior a un nivel de control normal, por ejemplo, superior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de edad. Un nivel "superior al normal" de actividad de C1s en una célula, un tejido o un fluido indica que la escisión proteolítica efectuada por C1s en la célula, tejido o fluido es superior a un nivel de control normal, por ejemplo, superior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de edad. En algunas realizaciones, un individuo que tiene una enfermedad mediada por el complemento presenta uno o más síntomas adicionales de una enfermedad de este tipo. Debe entenderse que el término "enfermedad" abarca "trastornos". Los dos términos pueden usarse indistintamente. En algunas realizaciones, una enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad mediada por el complemento clásica.

En algunas realizaciones, una enfermedad mediada por el complemento se caracteriza por la presencia en una célula, un tejido o un fluido de una cantidad de C1s inferior a la normal o de un nivel inferior de actividad de C1s del complemento. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una enfermedad mediada por el complemento se caracteriza por la presencia en el tejido cerebral y/o el líquido cefalorraquídeo de una cantidad inferior y/o una actividad inferior de C1s. Una cantidad "inferior a la normal" de C1s en una célula, un tejido o un fluido indica que la cantidad de C1s en la célula, tejido o fluido es inferior a un nivel de control normal, por ejemplo, inferior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de edad. Un nivel "inferior al normal" de actividad de C1s en una célula, un tejido o un fluido indica que la escisión proteolítica efectuada por C1s en la célula, tejido o fluido es inferior a un nivel de control normal, por ejemplo, inferior a un nivel de control normal para un individuo o población de individuos del mismo grupo de

edad. En algunas realizaciones, un individuo que tiene una enfermedad mediada por el complemento presenta uno o más síntomas adicionales de una enfermedad de este tipo.

Una enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad en la que la cantidad o actividad de C1s del complemento es de manera que provoca enfermedad en un individuo. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento se selecciona del grupo que consiste en enfermedad aloinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria, cáncer, enfermedad hemática, enfermedad infecciosa, enfermedad inflamatoria, lesión por isquemia-reperfusión, enfermedad neurodegenerativa, trastorno neurodegenerativo, enfermedad ocular, enfermedad renal, rechazo de trasplante, enfermedad vascular y enfermedad por vasculitis. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad autoinmunitaria. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad aloinmunitaria. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es cáncer. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad infecciosa. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad hemática. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una lesión por isquemia-reperfusión. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad ocular. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad renal. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es el rechazo de trasplante. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es el rechazo de trasplante mediado por anticuerpos. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad vascular. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es un trastorno de vasculitis. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es una enfermedad neurodegenerativa.

Los ejemplos de una enfermedad o un trastorno mediados por el complemento incluyen, pero sin limitación, degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, anafilaxia, rechazo mediado por anticuerpos (RMA), demencia de grano argirofílico, artritis

5 (por ejemplo, artritis reumatoide), asma, aterosclerosis, síndrome urémico hemolítico atípico, enfermedades autoinmunitarias (incluyendo, por ejemplo, anemia hemolítica autoinmunitaria (AHA); AHA caliente; AHA mixta; etc.), síndrome de Barraquer-Simons, enfermedad de Behçet, angiopatía amiloide de tipo británico, pempfigoide ampolloso, enfermedad de Buerger, nefropatía por

10 C1q, cáncer, síndrome antifosfolípido catastrófico, angiopatía amiloide cerebral, polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC), enfermedad por crioaglutininas (ECA), degeneración corticobasal, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Crohn, vasculitis crioglobulinémica, demencia pugilística, demencia con cuerpos de Lewy (DCL), ovillos

15 neurofibrilares difusos con calcificación, lupus eritematoso discoide, síndrome de Down, síndrome de Evan, glomeruloesclerosis segmentaria focal, trastorno del pensamiento formal, demencia frontotemporal (DFT), demencia frontotemporal con parkinsonismo asociado al cromosoma 17, degeneración lobular frontotemporal, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker,

20 síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Hallervorden-Spatz, síndrome hemolítico-urémico, angioedema hereditario, hipofosfastasia, síndrome de neumonía idiopática, enfermedades del complejo inmunitario, miositis corporal de inclusión, enfermedad infecciosa (por ejemplo, enfermedad provocada por infección bacteriana (por ejemplo, *Neisseria meningitidis* o *Streptococcus*),

25 vírica (por ejemplo, virus de inmunodeficiencia humana (VIH)) o por otros agentes infecciosos), enfermedad inflamatoria, lesión por isquemia/reperfusión, deterioro cognitivo leve, púrpura inmunitrombocitopénica (PIT), deficiencia del cofactor de molibdeno (DCMo) de tipo A, atrofia sistémica múltiple, miastenia grave, infarto de miocardio, distrofia miotónica, neuromielitis óptica,

30 enfermedad de Niemann-Pick de tipo C, enfermedad de la neurona motora no guameña con ovillos neurofibrilares, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Parkinson con demencia, hemoglobinuria paroxística nocturna, pénfigo vulgar,

enfermedad de Pick, parkinsonismo postencefalítico, polimiositis, angiopatía amiloide cerebral con proteína priónica, gliosis subcortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva, psoriasis, septicemia, *E. coli* de toxina Shiga (STEC)-HuS, atrofia muscular espinal, ictus, panencefalitis esclerosante subaguda,

5 demencia sólo con ovillos, rechazo de trasplante, vasculitis (por ejemplo, vasculitis asociada a ANCA), granulomatosis de Wegner, enfermedad de células falciformes, crioglobulinemia, crioglobulinemia mixta, crioglobulinemia mixta esencial, crioglobulinemia mixta de tipo II, crioglobulinemia mixta de tipo III, nefritis, trombocitopenia inducida por fármacos, nefritis lúpica, epidermólisis

10 ampollosa adquirita, reacción hemolítica tardía a la transfusión, síndrome de vasculitis urticaria hipocomplementémica, queratopatía ampollosa pseudofáquica y refractariedad plaquetaria.

En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es ECA. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento

15 es ITP. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es PDIC. En algunas realizaciones, la enfermedad mediada por el complemento es AMR.

En algunas realizaciones, una composición de la presente divulgación previene o retrasa la aparición de al menos un síntoma de una enfermedad

20 mediada por el complemento en un sujeto. En algunas realizaciones, una composición de la presente divulgación reduce o elimina al menos un síntoma de una enfermedad mediada por el complemento en un sujeto. Los ejemplos de síntomas incluyen, pero sin limitación, síntomas asociados a enfermedad autoinmunitaria, cáncer, enfermedad hemática, enfermedad infecciosa,

25 enfermedad inflamatoria, lesión por isquemia-reperfusión, enfermedad neurodegenerativa, trastorno neurodegenerativo, enfermedad renal, rechazo de trasplante, enfermedad ocular, enfermedad vascular o un trastorno de vasculitis. El síntoma puede ser un síntoma neurológico, por ejemplo, el deterioro de la función cognitiva, el deterioro de la memoria, la pérdida de la

30 función motora, etc. El síntoma también puede ser la actividad de la proteína C1s en una célula, tejido o fluido de un individuo. El síntoma también puede ser

el grado de activación del complemento en una célula, tejido o fluido de un individuo.

Por "tratamiento" se entiende al menos una mejora de los síntomas asociados a la afección patológica que afecta al hospedador, donde la mejora se usa en un sentido amplio para referirse a al menos una reducción en la magnitud de un parámetro, por ejemplo, síntoma, asociado a la afección patológica que se está tratando, tal como una enfermedad mediada por el complemento. Como tal, el tratamiento también incluye situaciones en las que la afección patológica, o al menos los síntomas asociados a la misma, están totalmente inhibidos, por ejemplo, se evita que ocurran, o se detienen, por ejemplo, se terminan, de manera que el hospedador ya no padece la afección patológica, o al menos los síntomas que caracterizan la afección patológica.

Una diversidad de hospedadores (en donde el término "hospedador" se usa indistintamente en el presente documento con los términos "sujeto", "individuo" y "paciente") son tratables de acuerdo con los métodos en cuestión. Generalmente, dichos hospedadores son "mamíferos" o "mamífero", donde estos términos se usan ampliamente para describir organismos que están dentro de la clase mamífero, incluidos los órdenes carnívoros (por ejemplo, gatos), herbívoros (por ejemplo, vacas, caballos y ovejas), omnívoros (por ejemplo, perros, cabras y cerdos), roedores (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas) y primates (por ejemplo, seres humanos, chimpancés y monos). En algunas realizaciones, el hospedador es un individuo que tiene un sistema del complemento, tal como un mamífero, un pez o un invertebrado. En algunas realizaciones, el hospedador es un sistema del complemento que contiene mamíferos, peces o animales de compañía invertebrados, animales de agricultura, animales de trabajo, animales de zoológico o animales de laboratorio. En algunas realizaciones, el hospedador es humano.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Diseño de estudios de desarrollo de formulación

SAR445088 es una inmunoglobulina G (IgG) humanizada de subclase 4 (IgG4), anticuerpo monoclonal (mAb), producido en células de ovario de hámster chino (CHO), que se une a e inhibe la forma activada de C1s dentro de

la vía clásica (CP). El mecanismo de SAR445088 es específico de la CP, dejando la lectina y las vías alternativas funcionalmente intactas. Las secuencias de CDR1 LC, CDR2 LC, CDR3 LC, CDR1 HC, CDR2 HC, CDR3 HC, VH, VL y de cadena pesada y ligera de la SAR445088 se describen en otra parte de la solicitud como las SEQ ID NO. 1-10. Las secuencias también se describen en la Patente de los EE. UU. N.º 9,512,233, la Patente de los EE. UU. N.º 10,729,767, y la Publicación de solicitud de patente de los EE. UU. N.º US 2020/0048332, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

Los estudios de desarrollo en etapas tempranas han demostrado que este anticuerpo tiene una propensión superior a autoasociarse (kD -22.7 ml/g en histidina 10 mM, pH 6.0 y -12.4 ml/g en histidina 10 mM, pH 6.0 + NaCl 150 mM) y tiene una tendencia a la isomerización en un ácido aspártico en la CDR1 de cadena ligera (isomerización de D32 LC). Se realizaron estudios de desarrollo de formulación para evaluar la viabilidad y las limitaciones asociadas a un medicamento (DP, del inglés *drug product*) líquido optimizado a base de histidina. Se realizó un conjunto de estudios exhaustivos para comprender el efecto de la composición de formulación y las condiciones del proceso sobre la estabilidad biofísica y química de SAR445088. Los efectos de las especies tampón y el pH, las concentraciones de polisorbato 80 y los quelantes de metal se evaluaron críticamente para el desarrollo optimizado de DP de SAR445088 líquido. Las evaluaciones específicas y su finalidad fueron las siguientes:

Gestionar la isomerización de D32

Identificar el límite del fracaso para la prevención de la isomerización de D32 y evaluar el efecto del pH y el estabilizante sobre la isomerización de D32.

Cribado de polisorbato 80

Evaluar las concentraciones óptimas de polisorbato 80 (PS80) necesarias para estabilizar las formulaciones líquidas de SAR445088 tras la tensión inducida por agitación y la exposición a la luz. Además, se determinó la concentración óptima de PS80 en el DP líquido sometiendo a ensayo la capacidad de diversas concentraciones de PS80 para mitigar los aumentos de

turbidez y/o la formación de partículas subvisibles en muestras de SAR445088 tras una dilución de 50 veces a 3 mg/ml con solución salina normal al 0.9 %.

Estudio de comparación de adiciones de metales y quelantes

- 5 Examinar el efecto de los metales de transición, que pueden filtrarse en principios activos (DS, del inglés *drug substance*) durante la fabricación, sobre la estabilidad química y física de SAR445088 y PS80. Los quelantes EDTA y DTPA también se evaluaron para determinar su capacidad para proteger la proteína de la degradación durante un conjunto de experimentos de estabilidad en el peor de los casos.

10 Cribado de pH/Tampón y estabilidad del DP

- Evaluar los efectos de la identidad del tampón y el pH sobre la estabilidad física y química de las formulaciones líquidas de SAR445088 durante las condiciones de almacenamiento refrigerado, almacenamiento ambiental y almacenamiento acelerado. Se eligieron sistemas tampón de histidina y de fosfato para este estudio. La matriz de formulación objetivo propuesta se sometió a ensayo para determinar su capacidad de estabilizar soluciones de DP de alta concentración durante el almacenamiento congelado y líquido. También se evaluó el efecto de la adición de sacarosa al 3 % sobre la estabilidad de DP.

20 Estudios de robustez de DP

Garantizar que la composición final de la formulación diana propuesta sea suficientemente robusta para soportar las tensiones inducidas por agitación, la congelación-descongelación y la exposición a la luz sin pérdida de estabilidad de la formulación durante el almacenamiento o la fabricación.

25 Ejemplo 2. Materiales y métodos

Materiales

- Principio activo.* El principio activo formulado con SAR445088 (FDS, por sus siglas en inglés) se preparó a una concentración > 150 mg/ml. Para un estudio dado realizado durante el desarrollo de la formulación, se usó una partida y un lote específicos de FDS. Después de formular las FDS a las concentraciones de proteína diana y excipiente, las formulaciones se filtraron a

0.22 μm bajo flujo laminar antes de la carga aséptica para preparar el medicamento (DP) líquido.

Excipientes. Todos los excipientes utilizados durante los estudios de desarrollo de la formulación fueron materias primas de calidad ACS, de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y de la Farmacopea Europea (Eur. Ph.). Los excipientes utilizados en los estudios incluyeron L-histidina, monoclorhidrato de L-histidina, monoclorhidrato de L-arginina, sacarosa, PS80, fosfato de sodio monobásico, 7-hidrato dibásico de fosfato de sodio, EDTA y DTPA. Todos los excipientes se obtuvieron en J. T. Baker con la excepción de DTPA, que se obtuvo en Sigma Aldrich.

Métodos analíticos

pH. El pH de los tampones y de las soluciones de anticuerpos formuladas se midió usando una sonda y un medidor de pH de Mettler-Toledo. Los resultados se consideraron comparables cuando la diferencia entre mediciones repetidas estaba dentro de 0.1 unidades de pH.

Lunatic para la concentración de proteínas. La concentración total de proteínas se determinó midiendo la absorbancia UV a 280 nm en chips microfluídicos en un espectrómetro Big Lunatic (Unchained Labs). Las mediciones se realizaron por duplicado en volúmenes de 2 a 5 μl de muestra (ϵ 1 %: 14.6 (g/ 100 ml)-1 cm-1).

Lector de placas UV para determinar la turbidez y la densidad óptica. La turbidez de la muestra se cuantificó midiendo la densidad óptica (DO) de 340 nm a 360 nm en un lector de microplacas SpectraMax i3 (Molecular Devices). Para cada muestra, se cargaron 200 μl en una placa de 96 pocillos transparente a UV-Vis (Corning). La DO se determinó como el promedio de los valores de absorbancia a 340 nm, 345 nm, 350 nm, 355 nm y 360 nm.

HPLC de exclusión por tamaño para especies de alto peso molecular (HMW). El análisis de agregación se realizó mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las muestras se resolvieron en una HPLC serie 1260 (Agilent, Santa Clara, CA) equipada con una columna analítica TSK-GEL G3000SWXL (Tosoh Bioscience, Tokio, Japón) y una columna protectora emparejada en fosfato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 300 mM, pH 6.5 $\pm$ 0.1

a un caudal de 0.5 ml/min durante 30 minutos. Se realizaron dos inyecciones para cada muestra. La detección se realizó mediante absorbancia UV a 280 nm y los picos cromatográficos se integraron para determinar el porcentaje relativo de cada especie eluida.

- 5 *Cromatografía de líquidos de ultra alta presión (UPLC) de exclusión por tamaño para especies de HMW y bajo peso molecular (LMW).* El análisis de agregación se realizó mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las muestras se resolvieron en una columna analítica UPLC Waters (Waters Corporation, Milford, MA) equipada con una columna analítica ACQUITY
10 BEH200 UPLC (Waters Corporation, Milford, MA) en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 300 mM, pH 7.0 con un caudal de 0.3 ml/min durante 20 minutos. Se realizaron tres inyecciones para cada muestra. La detección se realizó mediante absorbancia UV a 280 nm y los picos cromatográficos se integraron para determinar el porcentaje relativo de cada especie eluida.
- 15 *Partículas subvisibles* Las partículas subvisibles también se midieron mediante oscurecimiento de la luz en un Contador de partículas líquidas de alta precisión (HIAC) Modelo 9703+ (Beckman Coulter). El contador se lavó abundantemente con agua MilliQ filtrada y desgasificada 0.22 µm hasta que el recuento de partículas fue ≤ 1 partícula/ml a 10 µm. Se midieron patrones de
20 2 µm, 10 µm y 25 µm para garantizar recuentos de partículas precisos, después, el contador se lavó ampliamente para eliminar la señal de fondo. Usando un protocolo de 1 ml, las muestras se analizaron usando cuatro inyecciones separadas de volúmenes de 0.2 ml de muestra. Se descartó la primera medición de la muestra y se promediaron las tres siguientes.
- 25 *cIEF para variantes de carga.* La heterogeneidad de carga de proteína se midió mediante enfoque isoelectrico capilar (cIEF) usando un instrumento Maurice (Protein Simple) con detección a través de absorbancia UV a 280 nm. Las muestras (1 ml) y las soluciones patrón se diluyeron primero a 15 mg/ml en tampón de formulación y después se diluyeron hasta 5 mg/ml con agua. Se usó
30 la mezcla a bordo para mezclar muestras con MasterMix antes de los análisis. El enfoque isoelectrico de las muestras consistió en un período de preenfoco de 3 minutos a 1500 V seguido de un período de enfoque de más de 11

minutos a 3000 V. Los resultados se consideraron comparables cuando la diferencia entre las muestras era igual o inferior al 10 %.

Determinación de PS80 mediante detección de aerosoles cargados (CAD). PS80 es un tensioactivo no iónico, que consiste principalmente en un grupo polioxietileno de sorbitán hidrófilo unido por un éster a un ácido graso. La separación de PS80 de otros componentes de la muestra, tales como proteínas y constituyentes de formulación, se logró mediante HPLC de modo mixto usando una columna Oasis MAX (2.1 x 20 mm, tamaño de partícula de 30 µm, pieza n.º 186002052) (Waters) y detección de aerosoles cargados (CAD, *charged aerosol detection*) (Agilent Technologies, CA). La resina de columna contiene una cadena principal de polímero hidrófobo que soporta aminas cuaternarias con carga positiva. Como resultado, esta columna proporciona una combinación de capacidades de intercambio iónico y de fase inversa. Esto permite la retención de compuestos hidrófobos, tales como PS80, y genera repulsión electrostática a cargas positivas en proteínas/excipientes. Las muestras se eluyeron usando un gradiente de fase móvil de ácido fórmico al 2 % en agua (A) y ácido fórmico al 2 % en alcohol isopropílico (B). Cada muestra se inyectó y se hizo pasar a través de la columna durante 8 minutos con CAD dentro de la ventana de detección de 2.5 a 8 minutos.

Cuantificación de modificaciones postraduccionales (PTM) mediante LC-MS. Las muestras de proteína se diluyeron a 1 mg/ml, después se redujeron, se alquilaron y se digirieron con una mezcla de tripsina y Lys-C usando un método totalmente automatizado en un sistema de manipulación de líquidos STAR (Hamilton). El análisis de mapeo de péptidos se realizó en un sistema de LC-MS Q Exactive HF. Los datos de LC-MS y LC-MS/MS obtenidos se procesaron usando BioPharma Finder 4.1 para la identificación y cuantificación relativa de modificaciones.

Potencia. Se inmovilizó C1s directamente en la superficie de chips sensores SPR Biacore. Se generaron curvas de calibración de la unión de C1s por anticuerpo usando las muestras originales de anticuerpo formulado sin intercambio de tampón. Todas las muestras se analizaron después de una dilución de 1000 veces en tampón de migración. Todas las muestras se

sometieron a ensayo por triplicado mediante tres esquemas de dilución diferentes (100X10, 50X20 y 25X40). Las muestras de control fueron las muestras originales diluidas a 1 µg/ml. Se hicieron migrar muestras de control cada 6 muestras.

5 **Ejemplo 3. Gestión de la isomerización de D32**

La isomerización de D32 en la región CDR1 de cadena ligera (LC) de SAR445088 se identificó como un mecanismo de degradación química importante que afectó directamente a la unión Biacore de la molécula de SAR445088. Como se observa en la **FIG. 1**, la unión Biacore se vio
10 inversamente afectada por la isomerización de D32 en la CDR1. La unión Biacore disminuyó fuertemente más allá de una tasa de isomerización del 40 %. Basándose en un ejercicio de evaluación comparativa, se estimó que el nivel esperado de isomerización de D32 al final de la vida útil (EOS, por sus siglas en inglés) era de aproximadamente el 10-15 %.

15 A continuación, se realizó un estudio sistemático para evaluar el efecto del pH y la presencia de estabilizante tal como clorhidrato de arginina en la tasa de isomerización de SAR445088. Como se observa en las **FIG. 2A-2D**, en todas las temperaturas sometidas a ensayo, la tasa de isomerización de D32 disminuyó a medida que el pH aumentó de 6.2 a 6.8. Adicionalmente, la adición
20 de clorhidrato de arginina como estabilizante ayudó además a reducir la tasa de isomerización en comparación con el homólogo sin clorhidrato de arginina. Como se esperaba, la formulación liofilizada mostró una isomerización insignificante en todas las temperaturas sometidas a ensayo. Basándose en estos resultados, un pH superior (pH 6.8) y la inclusión de clorhidrato de
25 arginina parecieron beneficiosos para el desarrollo adicional de la formulación de anticuerpos. Las formulaciones líquidas con un pH alto pueden permitir la degradación basada en la desamidación, y una formulación de SAR445088 preferida tiene un pH y una concentración de estabilizante óptimos para minimizar tanto la isomerización como la desamidación.

30 **Ejemplo 4. Estudios de justificación de PS80**

Se determinó una cantidad óptima de PS80 en una formulación de SAR445088 observando la resistencia de una formulación de ensayo

(SAR445088 150 mg/ml, HCl de arginina 150 mM, sacarosa al 3 %, EDTA 10 μ M, histidina 10 mM, pH 7.0) que contenía PS80 al 0 - 0.1 % a diversas tensiones descritas en la **Tabla 2**. El objetivo del estudio fue determinar una cantidad adecuada de PS80 para reducir los efectos de la cizalla durante la fabricación, el transporte y la manipulación, usando las condiciones de estudio que se describen a continuación.

Tabla 2. Condiciones de estudio para la justificación de PS80.

	ESTUDIO	METODOLOGÍA
10	Agitación orbital	Las muestras se pusieron en un agitador orbital con una velocidad de 300 rpm durante 1 h, 6 h y 3 días
	Agitación por acción de la muñeca	Las muestras se pusieron en un agitador de muñeca durante 1 h, 3 h y 6 h
15	Agitación por acción de la muñeca + adiciones de silicona	Las muestras con adiciones de aceite de silicona se pusieron en un agitador de muñeca durante 1 h, 3 h y 6 h
20	Dilución en bolsa IV	Las muestras diluidas 50 veces con solución salina normal al 0.9 % a 3 mg/ml de anticuerpo se dejaron en bolsas IV a temperatura ambiente y luz ambiente durante 24 horas
25	Fotoestabilidad	Las muestras se mantuvieron en un estante a temperatura ambiente y luz ambiente durante 6 h y 3 días
	<u>Estudio de agitación orbital</u>	

Como se observa en la **FIG. 3**, la presencia de PS80 no afectó a la formación de especies de HMW de proteína tras la agitación orbital (**FIG. 3A**). Las muestras sin PS80 mostraron un aumento en la densidad óptica/ turbidez tras la agitación orbital a lo largo del tiempo. Sin embargo, las muestras que contenían tan poco como PS80 al 0.01 % mostraron una mayor estabilidad (**FIG. 3B**). Por último, las muestras sin PS80 mostraron un aumento en partículas subvisibles de 2 μ m, 10 μ m y 25 μ m tras la agitación orbital a lo largo

del tiempo. Sin embargo, las muestras que contenían PS80 > 0.01 % mostraron poco o ningún aumento en la formación de partículas subvisibles (**FIG. 3C-E**). Por lo tanto, una concentración de PS80 > 0.01 % puede controlar la degradación de la degradación de SAR445088 por agitación.

5 Agitación por acción de la muñeca

Como se observa en la **FIG. 4**, las muestras sin PS80 mostraron la mayor propensión de la proteína a formar agregados (especies de HMW) tras la agitación. Las muestras con PS80 > 0.03 % mostraron una buena resistencia a la formación de especies de HMW (**FIG. 4A**). Las muestras sin PS80 mostraron un aumento de la turbidez tan pronto como 1 h después de la agitación por acción de la muñeca. PS80 al 0.01 % fue suficiente para evitar el aumento de la turbidez (**FIG. 4B**). Las muestras sin PS80 mostraron el mayor número de partículas subvisibles de 2 µm, 10 µm y 25 µm, tan pronto como 1 h después de la agitación. A partir de entonces, apareció un precipitado de color blanquecino insoluble y las muestras sin PS80 no se evaluaron adicionalmente para detectar partículas subvisibles. Las muestras con PS80 > 0.03 % mostraron resistencia a la formación de partículas subvisibles (**FIG. 4C-E**).

15 Agitación por acción de la muñeca + Adiciones de silicona

Como se observa en la **FIG. 5**, las muestras sin PS80 mostraron un aumento de la turbidez, tan pronto como 1 h tras la agitación por acción de la muñeca. PS80 al 0.01 % fue suficiente para evitar el aumento de la turbidez. Se formó un precipitado de color blanquecino insoluble en muestras sin PS80 y estas muestras no se evaluaron para detectar partículas después de T0 (**FIG. 5A**). Las muestras con PS80 > 0.01 % tuvieron un número superior de partículas subvisibles de 2 µm debido a la presencia de aceite de silicona. Las muestras con PS80 > 0.03 % mostraron resistencia a la formación de partículas de 10 µm y 25 µm tras la agitación por acción de la muñeca en presencia de silicona (**FIG. 5B-D**). El análisis por SEC no se realizó para evitar que la columna se dañara por el aceite de silicona.

25 Estudio de dilución en bolsa IV

Como se observa en la **FIG. 6**, PS80 no mostró efecto sobre la formación de agregados proteicos en muestras tras la dilución y la retención en

bolsas IV (**FIG. 6A**). Todas las concentraciones de PS80 tuvieron un efecto mínimo sobre la turbidez durante 24 horas en las bolsas IV de ensayo (**FIG. 6B**). Todas las bolsas IV tenían una concentración de proteína diana de 3 mg/ml (**FIG. 6C**). Las muestras que contenían PS80 < 0.01 % mostraron un aumento en partículas subvisibles de 2 µm y 10 µm durante 24 h en bolsas IV. Las muestras que contenían PS80 > 0.03 % mostraron resistencia a la formación de partículas subvisibles (**FIG. 6D-F**).

Estudio de fotoestabilidad a corto plazo

Como se observa en la **FIG. 7**, PS80 no afectó a la capacidad de la proteína para formar especies de HMW tras la exposición a la luz ambiente y todos los niveles de PS80 sometidos a ensayo tuvieron un efecto similar sobre la formación de especies de HMW (**FIG. 7A**). Fue evidente un aumento en la turbidez en todas las muestras tras la exposición a la luz ambiente durante 3 días (**FIG. 7B**). No se observó degradación de PS80 a lo largo de todo el estudio para ninguna de las condiciones sometidas a ensayo (**FIG. 7C**). Las muestras que contenían PS80 < 0.01 % mostraron un aumento en partículas de 2 µm, 10 µm y 25 µm a lo largo del tiempo. Las muestras con PS80 > 0.01 % mostraron resistencia a la formación de partículas (**FIG. 7D-F**).

Sumario

Teniendo en cuenta todas las tensiones mecánicas, físicas y químicas que se espera que encuentre la formulación durante su ciclo de vida y que se reflejan en los ensayos de tensión realizados en este estudio, parecía necesario PS80 al menos al 0.03 % para proporcionar una protección mínimamente aceptable contra especies de HMW inducidas por estrés y formación de partículas subvisibles. Sin embargo, PS80 al 0.06 % (600 ppm) proporcionó una protección más suficiente a la formulación de anticuerpos contra todas las tensiones sometidas a ensayo.

Ejemplo 5. Estudios de justificación de quelantes

Se determinó la identidad y concentración de un quelante adecuado para formulaciones de SAR445088 para evitar la oxidación de PS80. Diferentes lotes de FDS que contenían SAR445088 150 mg/ml, HCl de arginina 150 mM, sacarosa al 3 %, PS80 al 0.06 %, histidina 10 mM, pH 7.0 se sometieron a

adiciones con quelantes (EDTA o DTPA) y iones de metal (hierro (Fe), cobre (Cu) y wolframio (W) y se sometieron a ensayos de estabilidad refrigerada, a temperatura ambiente y acelerada (40 °C) como se describe en la **Tabla 3**. Los dos quelantes se seleccionaron basándose en el uso en productos biológicos aprobados. Los iones de metal se seleccionaron basándose en los metales que se encuentran en el agua utilizada para la fabricación, posible contacto de recipientes o piezas de acero inoxidable y wolframio para la formación de agujas de las jeringas precargadas de vidrio.

Tabla 3. Plan de adiciones de iones de metal y quelante

Lote de FDS	EDTA (μM)	DTPA (μM)	Iones de metal	Temperatura (°C)
1	10,50	10,50	Fe, Cu, W 50 ppb	25,40
2	10,50	10, 50	Fe, Cu, W 50 ppb	25,40
3	10,25,50	10,25,50	-	5,25,40
4	10,25,50	10,25,50	-	5,25,40

Estudio de quelantes del Lote 1

Como se observa en la **FIG. 8**, se observó degradación de PS80 en todas las muestras con EDTA 10 μM con/ sin iones de metal tan pronto como 2 semanas a 40 °C, mientras que la degradación de PS80 se mitigó usando DTPA 10 μM incluso en presencia de iones de metal durante hasta 3 meses a 40 °C (**FIG. 8A**). EDTA 50 μM o DTPA 50 μM eliminaron la degradación de PS80 (**FIG. 8B**). Además, el análisis del perfil de éster reveló que la oxidación era la causa raíz de la degradación de PS80, y la presencia de DTPA 10 μM impidió la oxidación de PS80 (**FIG. 8C**). La tendencia a formar especies de HMW fue mayor a EDTA 10 μM. La formación de especies de HMW fue inferior con DTPA 10 μM que con EDTA 10 μM. EDTA y DTPA 50 μM impidieron la formación de especies de HMW en mayor medida que EDTA 10 μM, pero la diferencia fue menos pronunciada en comparación con DTPA 10 μM (**FIG. 8D**). También se observó coloración de la solución a EDTA 10 μM en comparación con cualquier otro grupo sometido a ensayo (**FIG. 9**). El análisis Biacore reveló

que EDTA y DTPA no tienen efecto directo sobre la potencia de la molécula. Se observó una ligera disminución en la potencia con el tiempo a 40 °C (**FIG. 8E**). El quelante no tuvo un efecto importante sobre la tendencia de la molécula a experimentar isomerización de D32 LC, oxidación de M251 de cadena pesada (HC), desamidación de HC PENNYK o desamidación de HC VSNK.

Estudio de quelantes del Lote 2

Como se observa en la **FIG. 10**, se observó degradación de PS80 en todas las muestras con EDTA 10 µM con/ sin iones tan pronto como 2 semanas a 40 °C, mientras que la degradación de PS80 se mitigó usando DTPA 10 µM incluso en presencia de iones de metal durante hasta 3 meses a 40 °C (**FIG. 10A**). EDTA 50 µM o DTPA 50 µM eliminaron la degradación de PS80 (**FIG. 10B**). La formación de especies de HMW fue mayor a EDTA 10 µM. La formación de especies de HMW fue menos evidente a DTPA 10 µM que a EDTA 10 µM. EDTA y DTPA 50 µM impidieron la formación de especies de HMW en mayor medida que EDTA 10 µM, pero EDTA 50 µM impidió la formación de especies de HMW en una medida similar a DTPA 10 µM (**FIG. 10C**). No se observaron tendencias significativas para la formación de especies de LMW como función del quelante (**FIG. 10D**). También se observó coloración de la solución con EDTA 10 µM en comparación con cualquier otro grupo sometido a ensayo. El análisis Biacore reveló que EDTA y DTPA no tienen efecto directo sobre la potencia de la molécula, ya que no se observó pérdida de potencia en presencia o ausencia de los quelantes después de la sujeción de muestras a 25 °C durante 6 meses. Se observó una ligera disminución en la potencia con el tiempo a 40 °C (**FIG. 10E**). El quelante no tuvo un efecto importante sobre la tendencia de la molécula a experimentar isomerización de D32 LC, oxidación de M251 HC, desamidación de HC PENNYK o desamidación de HC VSNK.

Estudio de quelantes del Lote 3

Como se observa en la **FIG. 11**, se observó menos degradación de PS80 en todas las muestras en comparación con los lotes anteriores. Se observó cierto grado de degradación de PS80 para las formulaciones que no contenían quelante o EDTA 10 µM en comparación con DTPA 10 µM después

del almacenamiento durante 6 meses a 25 °C (**FIG. 11A-B**). La formación de especies de HMW fue mayor para formulaciones que no contenían quelante o EDTA 10 µM. Se observó menos formación de especies de HMW a DTPA 10 µM que a EDTA 10 µM (**FIG. 11C**). No se observaron tendencias

5 significativas para la formación de especies de LMW como función del quelante. Se observó un aumento global en la formación de especies de LMW en función del tiempo de almacenamiento y la temperatura para todos los grupos sometidos a ensayo (**FIG. 11D**). No se observó ningún cambio en la coloración de la solución para ninguna muestra a 5 °C o 25 °C. Pero se

10 observó a 40 °C. El análisis Biacore reveló que EDTA y DTPA no tienen efecto directo sobre la potencia de la molécula, que conserva una potencia sustancial en cualquiera de los quelantes después de someterse a 25 °C durante 3 meses. Se observó una ligera disminución en la potencia con el tiempo a 40 °C (**FIG. 11E**). El quelante no tuvo un efecto importante sobre la tendencia de la

15 molécula a experimentar isomerización de D32 LC, oxidación de M251 HC, desamidación de HC PENNYK o desamidación de HC VSNK.

Estudio de quelantes del Lote 4

Como se observa en la **FIG. 12**, se observó menos degradación de PS80 en todas las muestras en comparación con los lotes anteriores. Todas las

20 concentraciones de EDTA y DTPA parecieron mitigar la degradación de PS80 en grados similares (**FIG. 12A-B**). Se observaron perfiles de formación de especies de HMW similares para formulaciones que contenían EDTA y DTPA mantenidas a 5 °C y 25 °C. Las formulaciones que contenían DTPA mostraron menos formación de especies de HMW a 40 °C en comparación con las

25 formulaciones que no contenían quelante o EDTA (**FIG. 12C**). Las formulaciones que contenían DTPA mostraron una formación inferior de especies de LMW en comparación con las formulaciones que no contenían quelante o EDTA. Se observó un aumento global en la formación de especies de LMW con el tiempo de almacenamiento y la temperatura para todos los

30 grupos sometidos a ensayo (**FIG. 12D**). No se observó ningún cambio en la coloración de la solución para ninguna muestra a 5 °C o 25 °C. La coloración de la solución a 40 °C no fue aparente en presencia de DTPA como quelante.

El análisis Biacore reveló que EDTA y DTPA no tienen efecto directo sobre la potencia de la molécula, que conserva una potencia sustancial después de someterse a 25 °C durante 1 meses. Se observó una ligera disminución en la potencia con el tiempo a 40 °C (**FIG. 12E**). El quelante no tuvo un efecto importante sobre la tendencia de la molécula a experimentar isomerización de D32 LC, oxidación de M251 HC, desamidación de HC PENNYK o desamidación de HC VSNK.

Sumario

Basándose en ensayos de estabilidad comparativos de muestras de formulación de SAR445088 que contenían DTPA o EDTA, se determinó que DTPA a una concentración de 10 µM mitiga de manera óptima la degradación de PS80 en diferentes lotes, evita la formación de especies de HMW y la coloración de soluciones, y tiene un efecto mínimo sobre la capacidad de la molécula para mantener la potencia.

Ejemplo 6. Estudios de cribado de pH/estabilidad de DP

Se identificó un sistema tampón óptimo y el pH diana para una formulación de SAR445088 sometiendo diferentes lotes de SAR445088 a ensayos de estabilidad de almacenamiento refrigerado, ambiente, acelerado y congelado. Estos ensayos se realizaron usando diferentes recipientes primarios, es decir, los viales y las jeringas precargadas (PFS) como se describen en la **Tabla 4**, para someter a ensayo la estabilidad del DP líquido SAR445088 en estos recipientes en paralelo.

Tabla 4. Plan de estudio de cribado de pH/estabilidad de DP

Lot e de FD S	Tampone s cribados	pH diana cribado	Presentacione s del DP	Temperatur a (°C)	Puntos temporale s
1	Histidina 10 mM, Fosfato 10 mM	6.7,6.8,7.0,7. 2	Viales, PFS- BD Neopak High, BD	-80,- 30,5,25,40	2 semanas, 1M, 2M,

5				Neopak Low, OMPI		3M, 4.5M, 6M, 12M
	2	Histidina 10 mM,	6.4,6.8,7.1	Viales, PFS- OMPI	-80,- 30,5,25,40	2 semanas, 1M, 2M, 3M, 6M, 12M
	3	Histidina 10 mM,	6.4,6.8,7.1	Viales, PFS- OMPI	5,25,40	2 semanas, 1M, 2M, 3M, 6M
10						
15	4	Histidina 10 mM,	6.4,6.8,7.1	Viales	5,25,40	2 semanas, 1M, 2M, 3M
	5	Histidina 10 mM,	6.8	Viales	5,25,40	2 semanas, 1M

Estudio de la formulación del Lote 1

20 *Estudio de estabilidad de PFS*

Como se muestra en la **FIG. 13**, SAR445088 en tampón de fosfato de potasio tuvo una propensión superior a formar especies de HMW que en tampón de histidina en condiciones aceleradas a 40 °C. En general, en todas las condiciones de pH y tampón sometidas a ensayo, SAR445088 mantuvo una

25 estabilidad sustancial durante el almacenamiento ambiente (25 °C) y refrigerado (5 °C). No se observó diferencia significativa en la formación de especies de HMW entre el almacenamiento en jeringas BD neopak Low, BD neopak Low y OMPI. Se observó una ligera disminución en la formación de especies de HMW a T0 y puntos temporales posteriores para el tampón de

30 histidina a pH 7.2 en comparación con el tampón de histidina a 6.7 o 6.8 (**FIG. 13A**). Ninguno de tampón, pH o PFS tuvo un efecto evidente sobre la concentración de anticuerpos (**FIG. 13B**) o el pH medido al final del período de

ensayos de estabilidad (**FIG. 13C**). Se observó un aumento general en la turbidez en función del tiempo y la temperatura para todos los tampones y pH diana. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la turbidez entre diferentes pH, tampones o tipos de jeringa sometidos a ensayo (**FIG.**

5 **13D**). Todas las formulaciones mostraron algún grado de degradación de PS80 a lo largo del tiempo durante las condiciones de almacenamiento de 25 °C y 40 °C. Las formulaciones que contenían histidina en todos los valores de pH mostraron más degradación de PS80 que las formulaciones que contenían fosfato de potasio (**FIG. 13E**).

10 Como se muestra en la **FIG. 14**, en todos los valores de pH y tampones sometidos a ensayo, no se produjo un aumento notable en la formación de partículas subvisibles tras el almacenamiento a diferentes temperaturas, con la excepción de la formulación de fosfato de potasio a pH 7.0 (K 7.0) a los 3 meses a 40 °C. La formación de partículas de 2 µm fue mayor en la PFS de
15 OMPI en comparación con sus homólogos de BD (**FIG. 14A**). La formación de partículas subvisibles de tamaño ≤ 10 µm y ≤ 25 µm fue en gran medida uniforme, con un par de valores atípicos atribuidos a la variabilidad del ensayo (**FIG. 14B-C**).

Estudio de estabilidad de viales

20 Como se muestra en la **FIG. 15**, SAR445088 tuvo una propensión superior a formar especies de HMW en tampón de fosfato de potasio que en tampón de histidina en condiciones aceleradas a 40 °C. En general, en todas las condiciones de pH y tampón, SAR445088 conservó una estabilidad sustancial en el almacenamiento ambiente (25 °C) y refrigerado (5 °C). Se
25 observó una ligera disminución en la formación de especies de HMW a T0 y puntos temporales posteriores con tampón H7.2 en comparación con H6.7 y H6.8 (**FIG. 15A**). Ni el tampón ni el pH tuvieron un efecto evidente sobre la concentración de anticuerpos (**FIG. 15B**) o el pH medido al final del período de ensayos (**FIG. 15C**). Se observó un aumento general en la turbidez en función
30 del tiempo y la temperatura para todos los tampones y valores de pH diana. Sin embargo, fue evidente un mayor aumento en la turbidez en las formulaciones que contenían tampón de fosfato de potasio que en las formulaciones que

contenían histidina (**FIG. 15D**). La degradación de PS80 fue evidente en todas las formulaciones a lo largo del tiempo a condiciones de almacenamiento de 25 °C y 40 °C. Las formulaciones que contenían histidina en todos los pH mostraron más degradación de PS80 que las formulaciones que contenían fosfato de potasio (**FIG. 15E**). La degradación de PS80 fue superior cuando se colocó la misma formulación en viales que en una PFS, posiblemente debido a una mayor cámara de aire en los viales.

Como se muestra en la **FIG. 16**, para todos los valores de pH y tampones sometidos a ensayo, no se observó un aumento notable en la formación de partículas subvisibles tras el almacenamiento a diferentes temperaturas. La formación de partículas subvisibles $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ fue en gran medida uniforme, con un par de valores atípicos atribuidos a la variabilidad del ensayo (**FIG. 16A-C**).

Estudio de estabilidad de almacenamiento congelado

Como se muestra en la **FIG. 17**, se observó una ligera disminución en la formación de especies de HMW tras el almacenamiento congelado a -80 °C y -30 °C (**FIG. 17A**). El almacenamiento congelado no tuvo ningún efecto observable sobre la concentración de anticuerpos (**FIG. 17B**), el pH (**FIG. 17C**), la turbidez (**FIG. 17D**) y las partículas subvisibles (**FIG. 17E**) medidos al final del período de almacenamiento. SAR445088 se mantuvo estable hasta 12 meses en el almacenamiento congelado.

Mapa de péptidos y análisis de unión Biacore

Como se muestra en la **FIG. 18**, se observó un aumento general en el nivel de modificaciones de puntos calientes en función de la temperatura y el tiempo en todos los tampones y valores de pH sometidos a ensayo. Específicamente, para la isomerización de D32, se observó un nivel de modificación de aproximadamente el 6 % por semana en la formulación de tampón de histidina a pH 6.8 tras el almacenamiento durante 3 meses a 40 °C, mientras que a 5 °C se observó un nivel de modificación de aproximadamente el 3 % tras el almacenamiento durante 12 meses. No se observaron diferencias significativas en los niveles de modificación entre los diferentes valores de pH y especies de tampón (**FIG. 18A-D**). A los 2 meses de almacenamiento a 40 °C

(2 M-40 °C), el tampón K7.0 mostró un grado fuera de tendencia de oxidación de M251 HC, probablemente debido a un error del operador. El análisis Biacore indicó que SAR445088 conservó la actividad relativa después de 6 meses de almacenamiento a 25 °C y 12 meses a 5 °C para muestras en tampón de histidina a pH 6.8. Se observó una ligera disminución en la potencia para muestras expuestas a 40 °C durante 3 meses.

Sumario

Las formulaciones de SAR445088 demostraron una tendencia superior a formar especies de HMW en tampón de fosfato de potasio que en tampón de histidina. El tampón de fosfato de potasio tuvo niveles inferiores de degradación de PS80 en comparación con el tampón de histidina. Sin embargo, puesto que se observó una mitigación eficaz de la degradación de PS80 en presencia de histidina con DTPA 10 µM, la propensión de la molécula a la agregación fue un impulsor primario para seleccionar histidina como tampón. Los atributos críticos de calidad (CQA, por sus siglas en inglés) de las formulaciones no difirieron significativamente en un intervalo de pH de 6.7-7.2 en tampón de histidina. Aparte de un aumento relativo en la formación de partículas de 2 µm en PFS de OMPI, los CQA no difirieron significativamente de otro modo al comparar las jeringas de BD Neopak Low, BD Neopak High y OMPI. Las jeringas de OMPI también tuvieron un recuento de partículas subvisibles ≤ 10 µm y ≤ 25 µm alto, pero los recuentos de partículas estaban por debajo de los límites de especificación de la USP (< 6000 partículas de 10 µm por recipiente de volumen pequeño y < 600 partículas de 25 µm por recipiente de volumen pequeño).

Estudio de la formulación del Lote 2

Estudio de estabilidad de PFS

Como se muestra en la **FIG. 19**, se observó un aumento global en la formación de especies de HMW a lo largo del tiempo y a 40 °C. No se produjo ningún cambio significativo en el nivel de formación de especies de HMW a 5 °C o 25 °C entre pH 6.4-7.1. Se observó una formación de especies de HMW ligeramente inferior a T0 y puntos temporales posteriores a 5 °C y 25 °C para H7.1 en comparación con las formulaciones H6.4 y H6.8 (**FIG. 19A**). Se

observó un aumento en la formación de especies de LMW con el tiempo y a 40 °C. No se observaron tendencias en la formación de especies de LMW en función del pH de la formulación a 5 °C y 25 °C (**FIG. 19B**). No se observó ningún efecto del pH de la formulación sobre la concentración de anticuerpos (**FIG. 19C**) y pH al final del período de almacenamiento (**FIG. 19D**). Se observó un aumento general en la turbidez con el tiempo y la temperatura para todas las formulaciones sometidas a ensayo, pero no se observaron diferencias significativas entre diferentes pH (**FIG. 19E**). Se observó una degradación de PS80 insignificante en cualquiera de las formulaciones de ensayo en todas las condiciones de estabilidad de almacenamiento (**FIG. 19F**). El análisis de variantes cargadas indicó un aumento global en la aparición de variantes ácidas y una disminución correspondiente en variantes de monómeros y básicas a 25 °C y 40 °C para todas las formulaciones sometidas a ensayo. Debido a la pérdida de resolución máxima, el análisis de variantes cargadas sólo se realizó a 40 °C hasta 1 mes de almacenamiento. Las variantes cargadas permanecieron relativamente uniformes a 5 °C para todas las condiciones sometidas a ensayo (**FIG. 19G**).

Como se muestra en la **FIG. 20**, las partículas subvisibles de 2 µm fueron más abundantes que las partículas más grandes en todas las formulaciones sometidas a ensayo, presumiblemente debido a la presencia de aceite de silicona. Sin embargo, no fue evidente ningún aumento notable en la aparición de partículas subvisibles con almacenamiento a diferentes temperaturas. La aparición de partículas subvisibles de tamaño $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ fue en gran medida uniforme entre muestras de ensayo de formulación, con un par de valores atípicos atribuidos a la variabilidad del ensayo (**FIG. 20A- C**).

Estudio de estabilidad de viales

Como se muestra en la **FIG. 21**, se observó un aumento global en la formación de especies de HMW a lo largo del tiempo y a 40 °C. No se produjo ningún cambio significativo en la formación de especies de HMW a 5 °C o 25 °C entre pH 6.4-7.1. Se observó una formación de especies de HMW ligeramente inferior a T0 y puntos temporales posteriores a 5 °C y 25 °C para

H7.1 en comparación con las formulaciones H6.4 y H6.8 (**FIG. 21A**). Se observó un aumento en la formación de especies de LMW con el tiempo y a 40 °C. No se observaron tendencias en la formación de especies de LMW en función del pH de la formulación a 5 °C y 25 °C (**FIG. 21B**). No se observó
 5 ningún efecto del pH de la formulación sobre la concentración de anticuerpos (**FIG. 21C**) y pH al final del período de almacenamiento (**FIG. 21D**). Se observó un aumento general en la turbidez con el tiempo y la temperatura para todas las formulaciones sometidas a ensayo, pero no se observaron diferencias significativas entre diferentes pH (**FIG. 21E**). Se observó ninguna degradación
 10 de PS80 importante en ninguna de las formulaciones de ensayo en todas las condiciones de estabilidad de almacenamiento (**FIG. 21F**). El análisis de variantes cargadas mediante cIEF indicó un aumento global en la aparición de variantes ácidas y una disminución correspondiente en variantes de monómeros y básicas a 25 °C y 40 °C para todas las formulaciones sometidas
 15 a ensayo. Debido a la pérdida de resolución máxima, el análisis de variantes cargadas sólo se realizó a 40 °C hasta 1 mes de almacenamiento. Las variantes cargadas permanecieron relativamente uniformes a 5 °C para todas las condiciones sometidas a ensayo (**FIG. 21G**).

Como se muestra en la **FIG. 22**, no se observó ningún aumento notable
 20 en la formación de partículas subvisibles con almacenamiento a diferentes temperaturas en ninguna de las formulaciones sometidas a ensayo. La aparición de partículas subvisibles de tamaño $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ fue en gran medida uniforme entre muestras de ensayo de formulación, con un par de valores atípicos atribuidos a la variabilidad del ensayo (**FIG. 22A- C**).

25 *Estudio de estabilidad de almacenamiento congelado*

Como se muestra en la **FIG. 23**, no hubo cambios importantes en la formación de especies de HMW tras el almacenamiento congelado a -80 °C y -30 °C en las diferentes formulaciones sometidas a ensayo (**FIG. 23A**). La formación de especies de LMW se mantuvo similar con el tiempo tras el
 30 almacenamiento congelado a -80 °C y -30 °C. La muestra de formulación con tampón de histidina a pH 7.1 (H7.1) almacenada a -30 °C mostró un nivel fuera de tendencia de formación de especies de LMW. Esto se atribuyó a la

variabilidad del ensayo (**FIG. 23B**). El almacenamiento congelado no tuvo ningún efecto evidente sobre la concentración de anticuerpos (**FIG. 23C**), el pH (**FIG. 23D**), la turbidez (**FIG. 23E**) o el nivel de formación de partículas subvisibles al final del período de almacenamiento (**FIG. 23F**).

5 *Mapa de péptidos y análisis Biacore*

Como se muestra en la **FIG. 24**, se observó un aumento general en el nivel de modificaciones de puntos calientes en función de la temperatura y el tiempo en todos los tampones y los pH sometidos a ensayo, en viales y en PFS. Específicamente, para la isomerización de D32, a 40 °C, se observó un
 10 nivel de modificación de aproximadamente el 6 % por semana en la formulación de tampón de histidina a pH 6.8 (H6.8). No se observaron diferencias significativas en los niveles de modificación entre los diferentes valores de pH y especies de tampón (**FIG. 24A-D**). El análisis Biacore indicó que SAR445088 conservó la actividad relativa después de 6 meses de
 15 almacenamiento a 25 °C y 5 °C para muestras en tampón de histidina a pH 6.8. Se observó una ligera disminución en la potencia para todas las muestras expuestas a 40 °C durante 3 meses (**FIG. 24E**).

Sumario

Las formulaciones de ensayo de SAR45088 que tenían un pH entre 6.4 y
 20 7.1 no mostraron diferencias significativas para todos los CQA sometidos a ensayo. Las muestras de formulación colocadas en PFS y viales y sometidas a estabilidad en congelación mantuvieron una estabilidad sustancial a lo largo de todo el estudio (12 meses).

Estudio de la formulación del Lote 3

25 *Estudio de estabilidad de PFS*

Como se muestra en la **FIG. 25**, se observó un aumento global en la formación de especies de HMW a lo largo del tiempo y a 40 °C. No se observó ningún cambio significativo en el nivel de formación de especies de HMW a 5 °C o 25 °C entre pH 6.4-7.1. Se observó una formación de especies de HMW
 30 ligeramente inferior a T0 y puntos temporales posteriores a 5 °C y 25 °C para H7.1 en comparación con las formulaciones H6.4 y H6.8 (**FIG. 25A**). No se observaron diferencias distintivas en los niveles de formación de especies de

LMW entre los pH de ensayo (**FIG. 25B**). El pH de la formulación no tuvo un efecto observable sobre la concentración (**FIG. 25C**) o el pH (**FIG. 25d**) medidos al final del período de almacenamiento. Se observó un aumento general en la turbidez con el tiempo y la temperatura para las formulaciones de ensayo, pero no se observaron diferencias significativas entre diferentes pH (**FIG. 25E**). Se observó una degradación insignificante de PS80 en cualquier formulación de ensayo en todas las condiciones de estabilidad de almacenamiento (**FIG. 25F**). Por último, todas las formulaciones de ensayo tuvieron un número superior de partículas subvisibles de 2 μm que de partículas de otro tamaño. Sin embargo, no hubo ningún aumento obvio en los niveles de partículas subvisibles tras el almacenamiento a 5 °C y 25 °C. Se observó un aumento en las partículas subvisibles en todas las formulaciones a lo largo del tiempo a 40 °C (**FIG. 25G**). No hubo diferencias importantes en las tendencias de partículas subvisibles en los valores de pH estudiados.

15 *Estudio de estabilidad de viales*

Como se muestra en la **FIG. 26**, se observó un aumento global en la formación de especies de HMW a lo largo del tiempo y a 40 °C. No se observó ningún cambio significativo en el nivel de formación de especies de HMW a 5 °C o 25 °C entre pH 6.4-7.1. Se observó una formación de especies de HMW ligeramente inferior a T0 y puntos temporales posteriores a 5 °C y 25 °C para H7.1 en comparación con las formulaciones H6.4 y H6.8 (**FIG. 26A**). No se observaron diferencias distintivas en los niveles de formación de especies de LMW entre los pH de ensayo (**FIG. 26B**). El pH de la formulación no tuvo un efecto observable sobre la concentración (**FIG. 26C**) o el pH (**FIG. 26D**) medidos al final del período de almacenamiento. Se observó un aumento general en la turbidez con el tiempo y la temperatura para las formulaciones de ensayo, pero no se observaron diferencias significativas entre diferentes pH (**FIG. 26E**). Se observó una degradación insignificante de PS80 en cualquier formulación de ensayo en todas las condiciones de estabilidad de almacenamiento (**FIG. 26F**). Por último, no hubo ningún aumento obvio en el nivel de formación de partículas subvisibles tras el almacenamiento a diferentes temperaturas en ninguna de las formulaciones de ensayo. El nivel de formación

de partículas subvisibles de tamaño $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ fue en gran medida uniforme, con un par de valores atípicos atribuidos al error del operador (**FIG. 26G**).

Mapa de péptidos y análisis Biacore

5 Como se muestra en la **FIG. 27**, se observó un aumento general en el nivel de modificaciones de puntos calientes en función de la temperatura y el tiempo en todos los tampones y pH sometidos a ensayo. Específicamente, para la isomerización de D32, a 40 °C, se observó un nivel de modificación de aproximadamente el 6 % por semana en la formulación de tampón de histidina
10 a pH 6.8 (H6.8). No se observaron diferencias significativas en los niveles de modificación entre los diferentes valores de pH y especies de tampón (**FIG. 27A-D**). El análisis Biacore indicó que SAR445088 conservó la actividad relativa después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C y 5 °C para muestras en tampón de histidina a pH 6.8. Se observó una ligera disminución en la
15 potencia para todas las muestras expuestas a 40 °C durante 3 meses (**FIG. 27E**).

Sumario

Las formulaciones de ensayo de SAR445088 que tenían un pH entre 6.4 y 7.1 no mostraron diferencias significativas para todos los CQA sometidos a
20 ensayo. Las muestras de formulación colocadas en PFS y viales mantuvieron una estabilidad sustancial a lo largo de todo el estudio (6 meses).

Estudio de la formulación del Lote 4

Estudio de estabilidad de viales

Como se muestra en la **FIG. 28**, se observó un aumento global en la
25 formación de especies de HMW a lo largo del tiempo y a 40 °C, aunque en inferior medida en comparación con lotes anteriores. No se observó ningún cambio significativo en el nivel de formación de especies de HMW a 5 °C o 25 °C entre pH 6.4-7.1. Se observó una formación de especies de HMW ligeramente inferior a T0 y puntos temporales posteriores a 5 °C y 25 °C para
30 pH 7.1 en comparación con las formulaciones de pH 6.4 y pH 6.8 (**FIG. 28A**). No se observaron diferencias distintivas en los niveles de formación de especies de LMW entre los pH de ensayo a 5 °C y 25 °C, aunque se observó

un ligero aumento con el tiempo a 40 °C (**FIG. 28B**). El pH de la formulación no tuvo un efecto observable sobre la concentración (**FIG. 28C**) o el pH (**FIG. 28D**) medidos al final del período de almacenamiento. Se observó un aumento general en la turbidez con el tiempo y la temperatura para las formulaciones de ensayo, pero no se observaron diferencias significativas entre diferentes pH (**FIG. 28E**). Se observó una degradación insignificante de PS80 en cualquier formulación de ensayo en todas las condiciones de estabilidad de almacenamiento (**FIG. 28F**). Por último, no hubo ningún aumento obvio en el nivel de partículas subvisibles tras el almacenamiento a diferentes temperaturas en ninguna de las formulaciones de ensayo. El nivel de formación de partículas subvisibles de tamaño $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ fue en gran medida uniforme, con un par de valores atípicos atribuidos a la variabilidad del ensayo (**FIG. 28G**).

Mapa de péptidos y análisis de unión Biacore

Como se muestra en la **FIG. 29**, se observó un aumento general en el nivel de modificaciones de puntos calientes en función de la temperatura y el tiempo en todos los tampones y pH sometidos a ensayo. Específicamente, para la isomerización de D32, a 40 °C, se observó un nivel de modificación de aproximadamente el 10 % por semana en la formulación de tampón de histidina a pH 6.8 (H6.8). No se observaron diferencias significativas en los niveles de modificación entre los diferentes valores de pH y especies de tampón (**FIG. 29A-D**). El análisis Biacore indicó que SAR445088 conservó la actividad relativa después de 1 mes de almacenamiento para muestras en tampón de histidina a pH 6.8 (**FIG. 29E**).

Sumario

Las formulaciones de ensayo de SAR445088 que tenían un pH entre 6.4 y 7.1 no mostraron diferencias significativas para todos los CQA sometidos a ensayo a lo largo de todo el estudio (3 meses).

Estudio de la formulación del Lote 5

Como se muestra en la **FIG. 30**, se observó un aumento marginal en el nivel de formación de especies de HMW a lo largo del tiempo y a 40 °C, aunque en inferior medida en comparación con lotes anteriores. (**FIG. 30A**). Se

observó un ligero aumento en la formación de especies de LMW a lo largo del tiempo a 40 °C (**FIG. 30B**). El pH de la formulación no tuvo un efecto observable sobre la concentración (**FIG. 30C**) o el pH (**FIG. 30D**) medidos al final del período de almacenamiento. Se observó un aumento general en la turbidez con el tiempo y la temperatura para todas las formulaciones de ensayo. (**FIG. 30E**). Se observó una degradación insignificante de PS80 en cualesquier condiciones de estabilidad de almacenamiento (**FIG. 30F**). Por último, no hubo ningún aumento obvio en el nivel de partículas subvisibles tras el almacenamiento a diferentes temperaturas. El nivel de partículas subvisibles de tamaño $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ fue en gran medida uniforme (**FIG. 30G**).

Ejemplo 7. Estudios de robustez

Se sometieron formulaciones de SAR445088 usando diferentes lotes de SAR445088 a diversas tensiones fisicoquímicas como se describe en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Condiciones de estudio para estudios de robustez.

ESTUDIO	METODOLOGÍA
Agitación por acción de la muñeca (viales)	Las muestras en viales se pusieron en un agitador de muñeca durante 1 h, 3 h y 6 h
Agitación por acción de la muñeca (PFS)	Las muestras en PFS se pusieron en un agitador de muñeca durante 1 h, 3 h y 6 h
Ciclado de congelación-descongelación	Las muestras se sometieron hasta a cinco ciclos de congelación-descongelación entre -80 °C y la temperatura ambiente
Fotoestabilidad	Las muestras se mantuvieron en un estante a temperatura ambiente y luz ambiente durante 1 día, 3 días, 7 días y 14 días. Se usó como control una muestra protegida contra la luz (cubierta con papel de aluminio).

Agitación por acción de la muñeca (viales)

Como se muestra en la **FIG. 31**, los valores de especies de HMW iniciales para diferentes lotes variaron, pero la agitación por acción de la muñeca en viales no tuvo ningún efecto significativo sobre el nivel de formación de especies de HMW (**FIG. 31A**). La agitación por acción de la muñeca no tuvo ningún efecto observable sobre la formación de especies de LMW (**FIG. 31B**), la turbidez (**FIG. 31C**) o la formación de variantes cargadas (**FIG. 31D**). El análisis de partículas subvisibles indicó que, aunque las partículas subvisibles de partida diferían entre lotes, no hubo ninguna tendencia creciente en la formación de partículas subvisibles $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ tras la agitación por acción de la muñeca en viales (**FIG. 31E**).

Agitación por acción de la muñeca (PFS)

Como se muestra en la **FIG. 32**, los valores de especies de HMW iniciales para diferentes lotes variaron, pero la agitación por acción de la muñeca en PFS no tuvo ningún efecto significativo sobre la formación de especies de HMW (**FIG. 32A**). La agitación por acción de la muñeca no tuvo ningún efecto observable sobre la formación de especies de LMW (**FIG. 32B**), la turbidez (**FIG. 32C**) o la formación de variantes cargadas (**FIG. 32D**). El análisis de partículas subvisibles indicó que, aunque las partículas subvisibles de partida diferían entre lotes y eran mayores en comparación con los viales, no hubo ninguna tendencia creciente en la formación de partículas subvisibles $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ tras la agitación por acción de la muñeca en PFS (**FIG. 32E**).

Ciclado de Congelación-Descongelación

Como se muestra en la **FIG. 33**, los valores de especies de HMW iniciales para diferentes lotes variaron, pero la congelación-descongelación no tuvo ningún efecto significativo sobre la formación de especies de HMW (**FIG. 33A**). La congelación-descongelación no tuvo ningún efecto observable sobre la formación de especies de LMW (**FIG. 33B**), la turbidez (**FIG. 33C**), la concentración (**FIG. 33D**) o el pH de la formulación medidos al final del período de almacenamiento (**FIG. 33E**). El análisis de partículas subvisibles indicó una tendencia ligeramente creciente en la formación de partículas $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$

y $\leq 25 \mu\text{m}$ tras el ciclo repetido de congelación y descongelación, sin embargo, los recuentos de partículas por recipiente permanecieron dentro de las especificaciones de la USP (< 6000 partículas de $10 \mu\text{m}$ por recipiente de volumen pequeño y < 600 partículas de $25 \mu\text{m}$ por recipiente de volumen pequeño) (**FIG. 33F**).

Estudio de fotoestabilidad

Como se muestra en la **FIG. 34**, se observó un ligero aumento en la formación de especies de HMW tras una mayor exposición a la temperatura y a la luz ambiente en comparación con la muestra de control cubierta en papel de aluminio (**FIG. 34A**). La exposición a la luz no tuvo ningún efecto observable sobre la formación de especies de LMW (**FIG. 34B**), la turbidez (**FIG. 34C**), la concentración (**FIG. 34D**) o el pH de la formulación (**FIG. 34E**) medidos al final del período de almacenamiento. No se observó degradación de PS80 en ninguna muestra (**FIG. 34F**). No se observaron cambios significativos en la formación de variantes cargadas en la exposición a la luz ambiente durante hasta 14 días (**FIG. 34G**). El análisis por mapas de péptidos totales indicó que hubo un aumento global en la isomerización de D32, la desamidación de VSNK y la desamidación de PENNYK, incluyendo en la muestra de control cubierta, lo que indica que estas modificaciones no son una consecuencia directa de la exposición a la luz. La oxidación de M251, sin embargo, aumentó al aumentar la exposición a la luz en comparación con el control cubierto. Este fue un efecto esperado (**FIG. 34H**). El análisis de la formación de partículas subvisibles indicó un efecto insignificante de la exposición a la luz ambiente para partículas subvisibles $\leq 2 \mu\text{m}$, $\leq 10 \mu\text{m}$ y $\leq 25 \mu\text{m}$ (**FIG. 34I**).

Sumario

Las formulaciones de SAR445088 demostraron robustez contra las tensiones fisicoquímicas de la agitación por acción de la muñeca en viales y PFS, el ciclado de congelación-descongelación y la exposición a la luz ambiente durante 14 días. La robustez se observó en diferentes lotes y entre valores de pH de 6.4 a 7.1.

Ejemplo 8. Formulaci3n l3quida de ejemplo

Los estudios de caracterizaci3n de la formulaci3n descritos en el presente documento identificaron una concentraci3n adecuada de PS80, identificaron un tipo y una concentraci3n 3ptimos de quelante, determinaron un
5 valor adecuado de pH y tamp3n que proporcion3 la estabilidad del DP con un pH 3ptimo y que facilit3 la robustez del DP contra tensiones fisicoqu3micas, y evaluaron el efecto de la adici3n de sacarosa al 3 %, adem3s de controlar la isomerizaci3n de D32.

10 Espec3ficamente, un pH superior de 6.8 y la inclusi3n de clorhidrato de arginina en formulaciones redujeron la tasa de isomerizaci3n de D32 en la CDR1 LC de SAR445088. Dichas formulaciones optimizadas proporcionaron resistencia a la isomerizaci3n cuando se sometieron a ensayo en diferentes lotes de SAR445088 en condiciones de almacenamiento refrigerado, ambiente y acelerado.

15 Se determin3 una concentraci3n 3ptima de PS80 evaluando la resistencia de formulaciones que conten3an diferentes concentraciones de PS80 a tensiones mec3nicas, una diluci3n cl3nica simulada y la exposici3n a la luz a corto plazo. Estos ensayos identificaron PS80 600 ppm (0.06 %) como una concentraci3n de tensioactivo 3ptima para proteger SAR445088 de los
20 efectos de la cizalla, la diluci3n IV y la exposici3n a la luz.

Debido a la variabilidad entre lotes en el contenido de iones de metal de diversos lotes de principios activos y a la incapacidad de las formulaciones que conten3an EDTA 10 μ M para mitigar la degradaci3n de PS80 en diferentes lotes, se seleccion3 un nivel de DTPA de 10 μ M como quelante 3ptimo para
25 mitigar el riesgo de degradaci3n de PS80. DTPA fue m3s eficaz para prevenir la degradaci3n de PS80 (oxidaci3n), reducir la formaci3n de especies de HMW y evitar la decoloraci3n de la soluci3n del producto, que se observ3 en formulaciones con EDTA 10 μ M o cuando no se us3 quelante en la formulaci3n (v3anse las FIG. 8A, 8B, 8D, 9, 10A, 10B y 10C).

30 La comparaci3n cara a cara de las formulaciones de SAR445088 en tamp3n de histidina y fosfato mostr3 que el tamp3n de histidina a pH 6.8 ten3a

una capacidad óptima para reducir la propensión a la agregación en condiciones de ensayo de estabilidad acelerada.

Los estudios de estabilidad indicaron que la adición de sacarosa no afectó negativamente a la estabilidad de la proteína y proporcionó resistencia
5 contra la agregación que puede ocurrir potencialmente durante el ciclado repetido de congelación-descongelación.

Se compararon diferentes PFS y se demostraron perfiles de producto similares. Se realizaron estudios de estabilidad de DP en viales y PFS entre valores de pH de 6.4 a 7.1 en condiciones de refrigeración, ambiente,
10 aceleradas y de congelación. Las PFS mostraron un perfil de producto aceptable en este intervalo de pH en diferentes lotes, es decir, control global de la propensión de las especies de HMW, mitigación de la oxidación de PS80 y control de la isomerización de D32 específica de molécula, en cada caso.

Una formulación líquida de SAR445088 de ejemplo que se demostró
15 mediante el análisis descrito en el presente documento que es óptima para estabilizar 150 mg/ml del DP líquido, así como los 150 mg/ml de FDS congelada es histidina 10 mM, HCl de arginina 150 mM, sacarosa al 3 % (p/v), DTPA 10 µM, PS80 al 0.06 % (p/v), a pH 6.8 ± 0.3 .

Ejemplo 9. Componentes del medicamento

Un DP de SAR445088 puede estar compuesto por SAR445088, L-histidina, monohidrato de clorhidrato de L-histidina, clorhidrato de L-arginina, sacarosa, DTPA y polisorbato 80. Se sabe que estos excipientes son bien tolerados después de la administración parenteral y son solubles en agua. En
20 la **Tabla 6** a continuación se resumen detalles de la composición de DP y del
25 cierre del recipiente de ejemplo.

Tabla 6. Componentes de DP de SAR445088 de ejemplo.

Artículo	Contenido/vial	Detalles	Contenido/PFS	Detalles
SAR445088	1200 mg	-	300 mg	-
30 L-Histidina	11.52 mg	-	2.88 mg	-

	Artículo	Contenido/vial	Detalles	Contenido/PFS	Detalles
5	Monohidrato de clorhidrato de L-histidina	1.2 mg		0.30 mg	
	Clorhidrato de L-arginina	252.8 mg		63.2 mg	
	Sacarosa	240 mg	-	60 mg	-
	DTPA	0.00003 mg		0.000008 mg	
10	Polisorbato 80	4.8 mg	-	1.2 mg	-
15	Recipiente	vial de vidrio	Vidrio Schott 10R de tipo I, calidad superior	Jeringa de vidrio	Jeringas de OMPI de 2.25 ml
20	Cierre	Tapón elastomérico con tapa de aluminio	Clorobutilo recubierto con flurotec de 20 mm West.	Tapón elastomérico	Tapón de caucho Novapur e de jeringa de 1-3 ml
25			Tapa de aluminio con brida con tapa abatible		

30 Todas las referencias, patentes y solicitudes de patente divulgadas en el presente documento se incorporan por referencia con respecto a la materia objeto para la que se cita cada una, que en algunos casos pueden abarcar la totalidad del documento.

Debe entenderse que los artículos indefinidos "un" y "una", como se usan en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que se indique claramente lo contrario, significan "al menos uno/una".

5 También debe entenderse que, a menos que se indique claramente lo contrario, en cualesquier métodos reivindicados en el presente documento que incluyan más de una etapa o acto, el orden de las etapas o actos del método no se limita necesariamente al orden en el que se citan las etapas o actos del método.

10 En las reivindicaciones, así como en la memoria descriptiva anterior, todas las expresiones de transición tales como "que comprende", "que incluye", "que porta", "que tiene", "que contiene", "que implica", "que mantiene", "compuesto por" y similares han de entenderse abiertas, es decir, que significan que incluyen, pero sin limitación. Sólo las expresiones de transición "que consiste en" y "que consiste esencialmente en" serán expresiones de
15 transición cerradas o semicerradas, respectivamente, como se establece en el Manual de Procedimientos de Examen de Patentes de la Oficina de Patentes de los Estados Unidos, Sección 2111.03.

Los términos "aproximadamente" y "sustancialmente" que anteceden a un valor numérico significan $\pm 10\%$ del valor numérico citado.

20 Cuando se proporciona un intervalo de valores, cada valor entre e incluyendo los extremos superior e inferior del intervalo se contempla y describe específicamente en el presente documento.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta
25 claro de la presente descripción de la invención.