

FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS BIESPECÍFICOS ANTI-CD20 X ANTI-CD3

REFERENCIA A UN LISTADO DE SECUENCIAS

Esta solicitud incorpora como referencia el Listado de secuencias presentado en formato legible por computadora como el archivo 10664WO01-Sequence.txt, creado el 20 de noviembre de 2020 y que contiene 25 368 bytes.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al campo de las formulaciones de anticuerpos terapéuticos. Más específicamente, la presente invención se refiere al campo de las formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las macromoléculas terapéuticas (por ejemplo, anticuerpos) deben formularse de una manera que no solo haga que las moléculas sean adecuadas para la administración a los pacientes, sino que también mantenga su estabilidad durante el almacenamiento y uso posterior. Por ejemplo, los anticuerpos terapéuticos en solución líquida son propensos a la degradación, agregación y/o modificaciones químicas no deseadas a menos que la solución se formule adecuadamente. La estabilidad de un anticuerpo en una formulación líquida depende no solo de los tipos de excipientes usados en la formulación, sino también de las cantidades y proporciones de los excipientes relacionados entre sí. Además, deben tenerse en cuenta otras consideraciones además de la estabilidad al preparar una formulación líquida de anticuerpos. Los ejemplos de dichas consideraciones adicionales incluyen la concentración de anticuerpos que puede adaptarse a una formulación determinada y la calidad visual o el atractivo de la formulación. Por tanto, al formular un anticuerpo terapéutico, debe tenerse mucho cuidado para lograr una formulación que permanezca estable, que contenga una concentración adecuada de anticuerpo y posea otras propiedades que permitan que la formulación se administre convenientemente a los pacientes.

El CD20 es una fosfoproteína no glicosilada expresada en las membranas celulares de los linfocitos B maduros. El CD3 es un antígeno homodimérico o heterodimérico expresado en linfocitos T en asociación con el complejo de receptor de linfocitos T (TCR) y se requiere para la activación de los linfocitos T.

Los anticuerpos biespecíficos para CD20 humano y CD3 humano son un ejemplo de macromoléculas terapéuticamente relevantes que requieren una formulación adecuada. Dichos anticuerpos son clínicamente útiles para, por ejemplo, el tratamiento del cáncer (por ejemplo, cánceres de linfocitos B tales como linfoma folicular, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma de zona marginal u otros linfomas no hodgkinianos).

Aunque los anticuerpos biespecíficos anti-CD20 x anti-CD3 se conocen en la técnica (ver, por ejemplo, el documento núm. WO 2014/047231), aún existe una necesidad de formulaciones farmacéuticas que comprendan anticuerpos biespecíficos anti-CD20 x anti-CD3 que sean suficientemente estables y adecuadas para la administración a los pacientes.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

Se proporcionan formulaciones farmacéuticas líquidas estables que comprenden un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 y uno o más excipientes, así como estuches y formas de dosificación unitarias que comprenden dichas formulaciones y usos de estas.

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en donde el primer dominio de unión al antígeno comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) (A1-HCDR1, A1-HCDR2 y A1-HCDR3) contenidas en una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y tres CDR de la cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende tres CDR de la cadena pesada (A2-HCDR1, A2-HCDR2 y A2-HCDR3) contenidas en una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y tres CDR de la cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; (b) un amortiguador que comprende histidina; (c) un codisolvente orgánico que comprende polisorbato; y (d) un estabilizador que comprende un azúcar; en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (a) un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en donde el primer dominio de unión al antígeno comprende tres regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (CDR) (A1-HCDR1, A1-HCDR2 y A1-HCDR3) contenidas en una región variable de la cadena pesada (HCVR) y tres CDR de la cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en una región variable de la cadena ligera (LCVR), y el segundo dominio de unión al antígeno comprende tres CDR de la cadena pesada (A2-HCDR1, A2-HCDR2 y A2-HCDR3) contenidas en una región variable de la cadena pesada (HCVR) y tres CDR de la cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas en una región variable de la cadena ligera (LCVR), en donde A1-HCDR1, A1-HCDR2 y A1-HCDR3 comprenden las secuencias de aminoácidos, respectivamente, de las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, A2-HCDR1, A2-HCDR2 y A2-HCDR3 comprenden las secuencias de aminoácidos, respectivamente, de las SEQ ID NO: 10, 11 y 12, y LCDR1, LCDR2 y LCDR3 comprenden las secuencias de aminoácidos, respectivamente, de las SEQ ID NO: 13, 14 y 15; (b) un amortiguador que comprende histidina; (c) un codisolvente orgánico que comprende polisorbato; y (d) un estabilizador que comprende un azúcar; en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la concentración de anticuerpos es de $1 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$ a $200 \text{ mg/mL} \pm 20 \text{ mg/mL}$. En algunas modalidades, la concentración de anticuerpos es de $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$. En algunas modalidades, la concentración de anticuerpos es de $20 \text{ mg/mL} \pm 2 \text{ mg/mL}$. En algunas modalidades, la concentración de anticuerpos es de $80 \text{ mg/mL} \pm 8 \text{ mg/mL}$. En algunas modalidades, la concentración de anticuerpos es de $100 \text{ mg/mL} \pm 10 \text{ mg/mL}$. En algunos casos, la concentración de anticuerpos es de $160 \text{ mg/mL} \pm 16 \text{ mg/mL}$. En algunas modalidades, la concentración de anticuerpos es de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 100 mg/mL .

En algunas modalidades, la concentración de amortiguador de histidina es de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $15 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$. En algunos casos, la concentración de amortiguador de histidina es de $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$. En algunas modalidades, el amortiguador de histidina comprende L-histidina y monoclóridato de L-histidina monohidrato. En algunos casos, la concentración de L-histidina es de $3,65 \text{ mM} \pm 0,5 \text{ mM}$ y la concentración de monoclóridato de L-histidina monohidrato es de $6,35 \text{ mM} \pm 0,5 \text{ mM}$. En algunos casos, el amortiguador de histidina comprende $0,57 \pm 0,05 \text{ mg/mL}$ de L-histidina y $1,33 \pm 0,13 \text{ mg/mL}$ de monoclóridato de L-histidina monohidrato.

En algunas modalidades, la concentración de polisorbato es de $0,01 \% \pm 0,005 \%$ a $0,5 \% \pm 0,25 \%$ p/v. En algunos casos, la concentración de polisorbato es de $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v. En algunos casos, la concentración de polisorbato es de $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v. En algunas modalidades, el polisorbato es polisorbato 80.

En algunas modalidades, el azúcar es sacarosa. En algunos casos, la concentración de sacarosa es de $5 \% \pm 1 \%$ a $20 \% \pm 4 \%$ p/v. En algunos casos, la concentración de sacarosa es de $8 \% \pm 0,5 \%$ a $12 \% \pm 0,5 \%$ p/v. En algunas modalidades, la concentración de sacarosa es de $10 \% \pm 1 \%$ p/v.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$ de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $15 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$, (c) polisorbato de $0,01 \% \pm 0,005 \%$ a $0,5 \% \pm 0,25 \%$ p/v, y (d) sacarosa del $5 \% \pm 1 \%$ al $20 \% \pm 4 \%$ p/v, a $\text{pH } 5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$ de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$, (c) polisorbato al $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v, y (d) sacarosa al $10 \% \pm 1 \%$ p/v, a $\text{pH } 5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$ de anticuerpo, (b) $3,65 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ de L-histidina, (c) $6,35 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ de monoclóridato de L-histidina monohidrato, (d) $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v de polisorbato, y (e) $10 \% \pm$ sacarosa al 1% p/v, a $\text{pH } 5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$ de anticuerpo, (b) $0,57 \text{ mg/mL} \pm 0,05 \text{ mg/mL}$ L-histidina, (c) $1,33 \text{ mg/mL} \pm 0,13 \text{ mg/mL}$ monoclóridato de L-histidina monohidrato, (d) $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v de polisorbato, y (e) $10 \% \pm$ sacarosa al 1% p/v, a $\text{pH } 5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) $20 \text{ mg/mL} \pm 2 \text{ mg/mL}$ de anticuerpo, (b) amortiguador histidina $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $15 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$, (c) polisorbato del $0,01 \% \pm 0,005 \%$ al $0,5 \% \pm 0,25 \%$ p/v y (d) sacarosa del $5 \% \pm 1 \%$ al $20 \% \pm 4 \%$ p/v, a $\text{pH } 5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) $20 \text{ mg/mL} \pm 2 \text{ mg/mL}$ de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$, (c) polisorbato al $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v y (d) sacarosa al $10 \% \pm 1 \%$ p/v, a $\text{pH } 5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) $20 \text{ mg/mL} \pm 2 \text{ mg/mL}$ de anticuerpo, (b) $3,65 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ de L-histidina, (c) $6,35 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$

de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v de polisorbato, y (e) 10 % $\pm$ sacarosa al 1 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL de anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,05 mg/mL de L-histidina, (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,13 mg/mL de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v de polisorbato, y (e) 10 % $\pm$ sacarosa al 1 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 80 mg/mL $\pm$ 8 mg/mL de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina de 5 mM $\pm$ 1 mM a 15 mM $\pm$ 3 mM, (c) polisorbato del 0,01 % $\pm$ 0,005 % al 0,5 % $\pm$ 0,25 % p/v, y (d) sacarosa del 5 % $\pm$ 1 % al 20 % $\pm$ 4 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 80 mg/mL $\pm$ 8 mg/mL de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina 10 mM $\pm$ 1 mM, (c) polisorbato al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, y (d) sacarosa al 10 % $\pm$ 1 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 80 mg/mL $\pm$ 8 mg/mL de anticuerpo, (b) 3,65 mM $\pm$ 0,2 mM de L-histidina, (c) 6,35 mM $\pm$ 0,2 mM de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v de polisorbato, y (e) 10 % $\pm$ sacarosa al 1 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 80 mg/mL $\pm$ 8 mg/mL de anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,05 mg/mL de L-histidina, (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,13 mg/mL de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v de polisorbato, y (e) 10 % $\pm$ sacarosa al 1 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina de 5 mM $\pm$ 1 mM a 15 mM $\pm$ 3 mM, (c) polisorbato del 0,01 % $\pm$ 0,005 % al 0,5 % $\pm$ 0,25 % p/v, y (d) sacarosa del 5 % $\pm$ 1 % al 20 % $\pm$ 4 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina 10 mM $\pm$ 1 mM, (c) polisorbato al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, y (d) sacarosa al 10 % $\pm$ 1 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de anticuerpo, (b) 3,65 mM $\pm$ 0,2 mM de L-histidina, (c) 6,35 mM $\pm$ 0,2 mM de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v de polisorbato, y (e) sacarosa al 10 % $\pm$ 1 % p/v, a pH 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,05 mg/mL de L-histidina, (c) 1,33 mg/mL

$\pm 0,13$ mg/mL de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v de polisorbato, y (e) sacarosa al $10 \% \pm 1 \%$ p/v, a pH $5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 160 mg/mL ± 16 mg/mL de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $15 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$, (c) polisorbato del $0,01 \% \pm 0,005 \%$ al $0,5 \% \pm 0,25 \%$ p/v, y (d) sacarosa del $5 \% \pm 1 \%$ al $20 \% \pm 4 \%$ p/v, a pH $5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 160 mg/mL ± 16 mg/mL de anticuerpo, (b) amortiguador de histidina $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$, (c) polisorbato al $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v, y (d) sacarosa al $10 \% \pm 1 \%$ p/v, a pH $5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 160 mg/mL ± 16 mg/mL de anticuerpo, (b) $3,65 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ de L-histidina, (c) $6,35 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v de polisorbato, y (e) sacarosa al $10 \% \pm 1 \%$ p/v, a pH $5,8 \pm 0,3$.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende: (a) 160 mg/mL ± 16 mg/mL de anticuerpo, (b) $0,57 \text{ mg/mL} \pm 0,05 \text{ mg/mL}$ de L-histidina, (c) $1,33 \text{ mg/mL} \pm 0,13 \text{ mg/mL}$ de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) $0,1 \% \pm 0,01 \%$ p/v de polisorbato, y (e) $10 \% \pm 1 \%$ sacarosa al 1% p/v, a pH $5,8 \pm 0,3$.

En cualquiera de estas modalidades, el polisorbato puede ser polisorbato 80.

En diversas modalidades de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, al menos el 90 % del anticuerpo tiene una conformación nativa después de 1 mes de almacenamiento a 45°C , según se determinó por cromatografía líquida de exclusión por tamaño de ultra rendimiento (SE-UPLC). En algunos casos, al menos el 93 % del anticuerpo tiene una conformación nativa después de 1 mes de almacenamiento a 45°C , según se determinó por SE-UPLC. En algunos casos, al menos el 95 % del anticuerpo tiene una conformación nativa después de 1 mes de almacenamiento a 45°C , según se determinó por SE-UPLC.

En diversas modalidades de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, al menos el 95 % del anticuerpo tiene una conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 25°C y 60 % de humedad relativa, según se determinó por SE-UPLC. En algunos casos, al menos el 97 % del anticuerpo tiene una conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 25°C y 60 % de humedad relativa, según se determinó por SE-UPLC.

En diversas modalidades de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, al menos el 95 % del anticuerpo tiene una

conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC. En algunos casos, al menos el 98 % del anticuerpo tiene una conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC.

En diversas modalidades de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, la formulación no contiene más del 6 % de especies de alto peso molecular (HMW) después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, según se determinó por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación no contiene más de 5,6 % de especies de HMW después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, según se determinó por SE-UPLC.

En diversas modalidades de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, la formulación no contiene más del 2 % de especies de HMW después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa, según se determinó por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación no contiene más de 1 % de especies de HMW después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa, según se determinó por SE-UPLC.

En diversas modalidades de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, la formulación no contiene más del 1,5 % de especies de HMW después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC. En algunos casos, la formulación comprende no más del 1 % de especies de HMW después de 9 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC.

En diversas modalidades de cualquiera de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo comprende A1-HCDR1, A1-HCDR2 y A1-HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos, respectivamente, de SEQ ID NO: 7, 8 y 9; A2-HCDR1, A2-HCDR2 y A2-HCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos, respectivamente, de SEQ ID NO: 10, 11 y 12; y LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos, respectivamente, de SEQ ID NO: 13, 14 y 15.

En algunas modalidades, el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR con al menos un 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR con al menos un 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR con al menos un 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR con al menos un 90 % de identidad con la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En algunas modalidades, el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR con al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR con al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR con al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR con al menos un 95 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En algunas modalidades, el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR con al menos un 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR con al menos un 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR con al menos un 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR con al menos un 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6.

En diversas modalidades de cualquiera de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región constante de la cadena pesada de IgG humana unida, respectivamente, a la HCVR de cada uno del primer dominio de unión al antígeno y el segundo dominio de unión al antígeno. En algunos casos, la región constante de la cadena pesada es de isotipo IgG1. En algunos casos, la región constante de la cadena pesada es de isotipo IgG4. En algunas modalidades, la región constante de la cadena pesada unida a la HCVR del primer dominio de unión al antígeno o la región constante de la cadena pesada unida a la HCVR del segundo dominio de unión al antígeno, pero no ambos, contiene una modificación de aminoácidos que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada del mismo isotipo sin la modificación. En algunos casos, la modificación comprende una sustitución H435R (numeración de EU) en una cadena pesada de isotipo IgG1 o IgG4. En algunos casos, la modificación comprende una sustitución H435R y una sustitución Y436F (numeración de EU) en una cadena pesada de isotipo IgG1 o IgG4.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una bisagra quimérica. Por ejemplo, la bisagra quimérica comprende, en una modalidad, una primera secuencia de

aminoácidos o una secuencia de “bisagra superior”, derivada de una región bisagra de IgG1 humana o una región bisagra de IgG4 humana y una segunda secuencia de aminoácidos o una secuencia de “bisagra inferior”, derivada de una región bisagra de IgG2 humana. En determinadas modalidades, la secuencia primera o “bisagra superior” comprende residuos de aminoácidos de las posiciones 216 a 227 de acuerdo con la numeración de EU. En algunas modalidades, la secuencia segunda o “bisagra inferior” comprende residuos de aminoácidos de las posiciones 228 a 236 de acuerdo con la numeración de EU. En algunos casos en los que la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es del isotipo IgG4, la bisagra quimérica comprende una secuencia bisagra superior de IgG4 humana (posiciones 216 a 227 según la numeración de EU) y una secuencia bisagra inferior de IgG2 humana (posiciones 228 a 236 según numeración de EU). En algunos casos en los que la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es del isotipo IgG1, la bisagra quimérica comprende una secuencia bisagra superior de IgG1 humana (posiciones 216 a 227 según la numeración de EU) y una secuencia bisagra inferior de IgG2 humana (posiciones 228 a 236 según numeración de EU). En algunas modalidades en las que la región constante de la cadena pesada es del isotipo IgG1, y el anticuerpo comprende una bisagra quimérica, el dominio CH2 de la región constante de la cadena pesada de otro modo IgG1 es del isotipo IgG4. A menos que se indique lo contrario, las referencias a una región constante de cadena pesada de IgG1 o IgG4 incluyen regiones constantes de cadena pesada que comprenden una bisagra quimérica (por ejemplo, una secuencia de bisagra superior de IgG1 o IgG4, respectivamente, y una secuencia de bisagra inferior de IgG2). Por ejemplo, la referencia a una región constante de cadena pesada de IgG1 incluye una región constante de cadena pesada de IgG1 que comprende una secuencia de bisagra inferior de IgG2, y la referencia a una región constante de cadena pesada de IgG4 incluye una región constante de cadena pesada de IgG4 que comprende una secuencia de bisagra inferior de IgG2.

En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico comprende una región constante de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 16, 17, 18 y 19. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico comprende una región constante de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16 y una región constante de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico comprende una región constante de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ

ID NO: 18 y una región constante de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19.

En diversas modalidades de cualquiera de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo comprende una primera cadena pesada que contiene la HCVR del primer dominio de unión al antígeno y una segunda cadena pesada que contiene la HCVR del segundo dominio de unión al antígeno, en donde la primera cadena pesada comprende los residuos 1-452 de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la segunda cadena pesada comprende los residuos 1-448 de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena ligera común que contiene la LCVR del primer y segundo dominios de unión al antígeno, en donde la cadena ligera común comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3.

En diversas modalidades de cualquiera de las composiciones farmacéuticas comentadas anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo comprende una primera cadena pesada que contiene la HCVR del primer dominio de unión al antígeno y una segunda cadena pesada que contiene la HCVR del segundo dominio de unión al antígeno, en donde la primera cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la segunda cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena ligera común que contiene la LCVR del primer y segundo dominios de unión al antígeno, en donde la cadena ligera común comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3.

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende: (a) $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$ de un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en donde el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; (b) amortiguador de histidina $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$, pH $5,8 \pm 0,2$, (c) polisorbato 80 al $0,1 \% \pm 0,01 \% \text{ p/v}$ y (d) sacarosa al $10 \% \pm 1 \% \text{ p/v}$.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$ del anticuerpo, (b) $3,65 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ de L-histidina (c) $6,35 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$

de monoclóridato de L-histidina, y (d) polisorbato 80 al 0,1% $\pm$ 0,01% p/v, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL del anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de L-histidina (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de monoclóridato de L-histidina monohidrato, (d) polisorbato 80 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL, y (e) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de sacarosa, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2.

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende: (a) 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL de un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en donde el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; (b) amortiguador de histidina 10 mM $\pm$ 1 mM, pH 5,8 $\pm$ 0,2, (c) polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, y (d) sacarosa al 10 % $\pm$ 1 % p/v.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL del anticuerpo, (b) 3,65 mM $\pm$ 0,2 mM L-histidina (c) 6,35 mM $\pm$ 0,2 mM L-histidina monohidrato, y (d) polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL del anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de L-histidina (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de monoclóridato de L-histidina monohidrato, (d) polisorbato 80 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL, y (e) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de sacarosa, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2.

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende: (a) 80 mg/mL $\pm$ 8 mg/mL de un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en donde el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; (b) amortiguador de histidina 10 mM $\pm$ 1 mM, pH 5,8 $\pm$ 0,2, (c) polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, y (d) sacarosa al 10 % $\pm$ 1 % p/v.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) 80 mg/mL $\pm$ 8 mg/mL del anticuerpo, (b) 3,65 mM $\pm$ 0,2 mM de L-histidina (c) 6,35 mM $\pm$ 0,2 mM de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, y (d) 0,1% $\pm$ polisorbato 80 al 0,01 % p/v, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) 80 mg/mL $\pm$ 8 mg/mL del anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de L-histidina (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) polisorbato 80 a 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL, y (e) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de sacarosa, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2.

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende: (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de un anticuerpo biespecífico que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en donde el primer dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; (b) amortiguador de histidina 10 mM $\pm$ 1 mM, pH 5,8 $\pm$ 0,2, (c) polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, y (d) sacarosa al 10 % $\pm$ 1 % p/v.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL del anticuerpo, (b) 3,65 mM $\pm$ 0,2 mM de L-histidina (c) 6,35 mM $\pm$ 0,2 mM de monoclórhidrato L-histidina monohidrato, y (d) polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica consta de: (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL del anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de L-histidina (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de monoclórhidrato de L-histidina monohidrato, (d) 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de polisorbato 80, y (e) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de sacarosa, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica comprende: (a) de 1 a 200 mg/mL del anticuerpo (como se comentó anteriormente o en la presente descripción); (b) un amortiguador que comprende acetato o fosfato; (c) un codisolvente orgánico que comprende polisorbato; y (d) un estabilizador que comprende un azúcar; en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica comprende: (a) de 1 a 200 mg/mL del anticuerpo (por ejemplo,

2 mg/mL, 20 mg/mL, 80 mg/mL o 100 mg/mL), (b) amortiguador acetato o fosfato 1-50 mM, y (d) polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2.

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en donde la composición comprende la formulación farmacéutica como se comenta anteriormente o en la presente descripción y la composición está contenida en un envase. En algunas modalidades, el envase es un vial. En algunos casos, el vial es un vial de vidrio transparente tipo 1 de 2 ml, 5 ml, 10 mL o 20 mL. En algunas modalidades, el envase es una jeringa. En algunos casos, la jeringa es de vidrio con bajo contenido de tungsteno. En algunas modalidades, el envase es una jeringa precargada. En algunas modalidades, la composición está contenida en un autoinyector.

En un aspecto, la presente invención proporciona un estuche que comprende (i) un envase que contiene una composición que comprende la formulación farmacéutica como se comenta anteriormente o en la presente descripción, e instrucciones para el uso de la composición. En algunas modalidades, el envase es un vial de vidrio. En algunas modalidades, el envase es una jeringa precargada. En algunas modalidades, el envase es un autoinyector. En algunos casos, las instrucciones citan la administración subcutánea de la composición. En algunos casos, las instrucciones citan la administración intravenosa de la composición.

En una modalidad, la presente invención proporciona un envase, opcionalmente en donde el envase es un vial de vidrio, que contiene 2 mg de anticuerpo en una formulación estable, en donde la formulación comprende (a) 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL del anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de L-histidina (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de monoclóridato de L-histidina monohidrato, (d) 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL polisorbato 80, y (e) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de sacarosa, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2. En una modalidad, la presente invención proporciona un envase, opcionalmente en donde el envase es un vial de vidrio, que contiene 20 mg, 80 mg o 160 mg de anticuerpo en una formulación estable, en donde la formulación comprende (a) 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL del anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de L-histidina (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de monoclóridato de L-histidina monohidrato, (d) 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL polisorbato 80, y (e) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL de sacarosa, en agua a pH 5,8 $\pm$ 0,2. En una modalidad, la presente invención proporciona un envase, opcionalmente en donde el envase es un vial de vidrio, que contiene 100 mg, 200 mg o 400 mg de anticuerpo en una formulación estable, en donde la formulación comprende (a) 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL del anticuerpo, (b) 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de L-histidina (c) 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL de

monoclorhidrato de L-histidina monohidrato, (d) $1 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$ polisorbato 80, y (e) $100 \text{ mg/mL} \pm 10 \text{ mg/mL}$ de sacarosa, en agua a $\text{pH } 5,8 \pm 0,2$.

En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación unitaria que comprende la formulación farmacéutica como se comentó anteriormente o en la presente descripción, en donde el anticuerpo está presente en una cantidad de 0,1 mg a 500 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 2 a 2,5 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 10 a 11 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 20 a 25 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 80 a 90 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 100 a 125 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 160 a 180 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 190 a 210 mg. En algunos casos, el anticuerpo está presente en una cantidad de 320 a 360 mg. En algunas modalidades, la forma de dosificación unitaria es un vial de vidrio. En algunas modalidades, la forma de dosificación unitaria es una jeringa precargada. En algunas modalidades, la forma de dosificación unitaria es un autoinyector.

En cualquiera de las composiciones farmacéuticas, estuches o formas de dosificación unitaria comentadas anteriormente o en la presente descripción, el envase que contiene la formulación farmacéutica puede comprender un espacio superior que comprende un gas en el que el gas comprende menos del 5 % de oxígeno en volumen. En algunos casos, el gas comprende menos del 1 % de oxígeno en volumen. En algunos casos, el gas comprende no más del 0,1 % de oxígeno en volumen.

En un aspecto, la presente invención proporciona un envase que contiene una composición farmacéutica, en donde la composición comprende la formulación farmacéutica como se comenta anteriormente o en la presente descripción. En algunos casos, el envase es una jeringa. En algunos casos, el envase es una jeringa precargada. En algunos casos, el envase es un autoinyector. En algunos casos, el envase es un vial de vidrio.

En diversas modalidades, cualquiera de las características o componentes de las modalidades comentadas anteriormente o en la presente descripción pueden combinarse, y dichas combinaciones se incluyen dentro del alcance de la presente descripción. Cualquier valor específico comentado anteriormente o en la presente descripción puede combinarse con otro valor relacionado comentado anteriormente o en la presente descripción para citar un intervalo con los valores que representan los extremos superior e inferior del intervalo, y tales intervalos se comprenden dentro del

alcance de la presente descripción. Cada uno de los valores comentados anteriormente o en la presente descripción puede expresarse con una variación del 1 %, 5 %, 10 % o 20 %. Por ejemplo, una concentración de 10 mM puede expresarse como 10 mM $\pm$ 0,1 mM (variación del 1 %), 10 mM $\pm$ 0,5 mM (variación del 5 %), 10 mM $\pm$ 1 mM (variación del 10 %) o 10 mM $\pm$ 2 mM (variación del 20 %).

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

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir la presente invención, debe entenderse que esta invención no se limita a los métodos particulares ni a las condiciones experimentales que se describen, ya que estos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en la presente descripción tiene el propósito de describir modalidades particulares solamente, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención se limitará solamente por las reivindicaciones adjuntas.

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

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

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Como se usa en la presente descripción, la expresión "formulación farmacéutica" significa una combinación de al menos un ingrediente activo (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3, que es capaz de ejercer un efecto biológico en un ser humano o un animal no humano), y al menos un ingrediente inactivo que, cuando se combina con el ingrediente activo y/o uno o más ingredientes inactivos adicionales, es adecuado para la administración terapéutica a un ser humano o un animal no

humano. El término "formulación", como se usa en la presente descripción, significa "formulación farmacéutica" a menos que se indique específicamente lo contrario. La presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido terapéutico. De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, el polipéptido terapéutico es un anticuerpo biespecífico que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano o un fragmento de unión al antígeno de este. Más específicamente, la presente invención incluye formulaciones farmacéuticas que comprenden: (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano; (ii) un amortiguador que comprende histidina; (iii) un codisolvente orgánico que comprende polisorbato; y (iv) un estabilizador que comprende un azúcar. Pueden incluirse componentes adicionales en las formulaciones de la presente invención si dichos componentes no interfieren significativamente con la estabilidad de la formulación. Los componentes y formulaciones ilustrativos específicos que se incluyen dentro de la presente invención se describen en detalle más abajo.

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

ANTICUERPOS BIESPECÍFICOS QUE SE UNEN ESPECÍFICAMENTE A CD20 HUMANO Y CD3 HUMANO

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender un anticuerpo biespecífico humano o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano.

El término "anticuerpo", como se usa en la presente descripción, que incluye un "anticuerpo biespecífico," generalmente intenta referirse a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como sus multímeros (por ejemplo, IgM); sin embargo, las moléculas de inmunoglobulina que consisten únicamente en cadenas pesadas (es decir, que carecen de cadenas ligeras) también se incluyen dentro de la definición del término "anticuerpo". Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en la presente

descripción como HCVR o VH) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en la presente descripción como LCVR o VL) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones VH y VL también pueden subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que son más conservadas, denominadas regiones de marco (FR). Cada VH y VL está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el terminal amino hasta el terminal carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

En determinadas modalidades de la invención, los anticuerpos biespecíficos anti-CD20 x anti-CD3 de la invención son anticuerpos humanos. El término "anticuerpo humano", como se usa en la presente descripción, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas mediante mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y en la CDR3 en particular. Sin embargo, el término "anticuerpo humano," como se usa en la presente descripción, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias de CDR que derivan de la línea germinal de otras especies de mamíferos, tal como un ratón, se injertan en secuencias de marco humanas. En diversas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 es un anticuerpo IgG humano. En diversas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 es un anticuerpo humano de isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, o isotipo mixto. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 es un anticuerpo IgG1 humano (es decir, el anticuerpo comprende una región constante de la cadena pesada de IgG1 humana unida, respectivamente, a la HCVR de cada uno del primer dominio de unión al antígeno y el segundo dominio de unión al antígeno). En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 es un anticuerpo IgG4 humano (es decir, el anticuerpo comprende una región constante de la cadena pesada de IgG4 humana unida, respectivamente, a la HCVR de cada uno del primer dominio de unión al antígeno y el segundo dominio de unión al antígeno. En cualquiera de las modalidades comentadas anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 puede comprender una cadena ligera kappa humana. En cualquiera

de las modalidades comentadas anteriormente o en la presente descripción, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 puede comprender una cadena ligera lambda humana.

En cualesquiera modalidades, el anticuerpo biespecífico puede incluir una modificación en una o ambas cadenas pesadas para facilitar la purificación del anticuerpo biespecífico (es decir, el heterodímero) a partir de impurezas homodiméricas. En algunas modalidades, los anticuerpos biespecíficos incluyen las primera y segunda cadenas pesadas (es decir, la cadena pesada del brazo de unión anti-CD20 y la cadena pesada del brazo de unión anti-CD3) que son idénticas (por ejemplo, ambas de isotipo IgG1 o IgG4) excepto por una modificación en el dominio CH3 de una u otra cadena pesada que reduce la unión del anticuerpo biespecífico a la proteína A en comparación con un anticuerpo que carece de la modificación. En algunos casos, el dominio CH3 de la primera cadena pesada (por ejemplo, del brazo de unión anti-CD20) se une a la proteína A y el dominio CH3 de la segunda cadena pesada (por ejemplo, del brazo de unión anti-CD3) contiene una mutación que reduce o anula la unión a la proteína A. En algunos casos, la mutación es una modificación H435R (por numeración de EU; H95R por numeración de exón IMGT). En algunos casos, la mutación es una modificación H435R (por numeración de EU; H95R por numeración de exón IMGT) y una modificación Y436F (por numeración de EU; Y96F por IMGT). Otras modificaciones que pueden encontrarse dentro del segundo dominio CH3 incluyen: D356E, L358M, N384S, K392N, V397M y V422I por EU (D16E, L18M, N44S, K52N, V57M y V82I por IMGT) en el caso de los dominios CH3 de la IgG1; y Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q y V422I por EU (Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q y V82I por IMGT) en el caso de los dominios CH3 de la IgG4.

En cualesquiera modalidades, el anticuerpo biespecífico puede incluir una bisagra quimérica. El término "bisagra quimérica" pretende incluir una proteína quimérica que comprende una primera secuencia de aminoácidos derivada de la región bisagra de una molécula de Ig y una segunda secuencia de aminoácidos derivada de la región bisagra de una clase o subclase diferente de molécula de Ig. Por ejemplo, la bisagra quimérica comprende, en una modalidad, una primera secuencia de aminoácidos o una secuencia de "bisagra superior", derivada de una región bisagra de IgG1 humana o una región bisagra de IgG4 humana y una segunda secuencia de aminoácidos o una secuencia de "bisagra inferior", derivada de una región bisagra de IgG2 humana. En determinadas modalidades, la secuencia primera o "bisagra superior" comprende residuos de aminoácidos de las posiciones 216 a 227 de acuerdo con la numeración de EU. En

algunas modalidades, la secuencia segunda o "bisagra inferior" comprende residuos de aminoácidos de las posiciones 228 a 236 de acuerdo con la numeración de EU.

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

Los términos "porción de unión al antígeno" o "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo" o "fragmento de anticuerpo"), como se usa en la presente descripción, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a CD20 humano o CD3 humano.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en la presente descripción, intenta referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico aislado que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos diferentes de CD20 humano y CD3 humano).

El término "se une específicamente", o similar, significa que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este forma un complejo con un antígeno que es

relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica puede caracterizarse por una constante de disociación de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M o mayor. Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmón superficial y similares. Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas CD20 o CD3 de otras especies (ortólogas). En el contexto de la presente invención, se considera que los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) que se unen a CD20 humano y CD3 humano así como uno o más antígenos adicionales se "unen específicamente" a CD20 humano y CD3 humano. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otros materiales celulares y/o productos químicos.

En el documento núm. WO 2014/047231 se describen anticuerpos biespecíficos anti-CD20 x anti-CD3 ilustrativos que pueden incluirse en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, cuya descripción se incorpora como referencia en su totalidad.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en donde el primer dominio de unión al antígeno comprende las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (CDR) A1-HCDR1, A1-HCDR2 y A1-HCDR3, respectivamente, que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende las CDR de la cadena pesada A2-HCDR1, A2-HCDR2 y A2-HCDR3, respectivamente, que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 10, 11 y 12. De acuerdo con determinadas modalidades de la presente invención, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 o fragmento de unión al antígeno de este, comprende regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera comunes (para ambos dominios de unión al antígeno primero y segundo) LCDR1-LCDR2-LCDR3, respectivamente, que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 13, 14 y 15.

En determinadas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 o fragmento de unión al antígeno de este, comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y un segundo dominio de unión

al antígeno que se une específicamente a CD3 humano, en el que el primer dominio de unión al antígeno comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, y el segundo dominio de unión al antígeno comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5. En determinadas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En determinadas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 o fragmento de unión al antígeno de este, comprende un primer dominio de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 4/6, y un segundo dominio de unión al antígeno que comprende un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 5/6. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 comprende los pares de secuencias HCVR/LCVR indicados anteriormente, y una región constante de la cadena pesada de IgG1 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 comprende los pares de secuencias HCVR/LCVR indicados anteriormente, y una región constante de la cadena pesada de IgG4 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 comprende los pares de secuencias HCVR/LCVR indicados anteriormente, y una región constante de la cadena pesada de IgG humana. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 comprende los pares de secuencias HCVR/LCVR indicados anteriormente, y una región constante de la cadena pesada IgG1 o IgG4 humana. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3. Un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 ilustrativo con un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano y comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 se denomina en la presente descripción como

REGN1979. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico tiene una primera cadena pesada (que incluye la HCVR que se une específicamente a CD20 humano) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada (que incluye la HCVR que se une específicamente a CD3 humano) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3. En algunos casos, la forma madura del anticuerpo puede no incluir los residuos de lisina C terminal de las SEQ ID NO: 1 y 2. Por tanto, en algunos casos, el brazo de unión anti-CD20 del anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende los residuos 1-452 de la SEQ ID NO: 1, y el brazo de unión anti-CD3 del anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende los residuos 1-448 de la SEQ ID NO: 2.

La cantidad de anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno de este, contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción puede variar en función de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como de las circunstancias y propósitos particulares para los que se pretende usar las formulaciones. En determinadas modalidades, las formulaciones farmacéuticas pueden contener de aproximadamente 0,1 mg/mL a aproximadamente 500 mg/mL de anticuerpo; de aproximadamente 0,5 mg/mL a aproximadamente 400 mg/mL de anticuerpo; de aproximadamente 1 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL de anticuerpo; de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 100 mg/mL; de aproximadamente 1 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL de anticuerpo; de aproximadamente 10 mg/mL a aproximadamente 30 mg/mL de anticuerpo; de aproximadamente 75 mg/mL a aproximadamente 125 mg/mL; de aproximadamente 5 mg/mL a aproximadamente 50 mg/mL; o de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 160 mg/mL de anticuerpo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden ser formulaciones líquidas que comprenden aproximadamente 0,5 mg/mL; aproximadamente 1 mg/mL; aproximadamente 2 mg/mL; aproximadamente 3 mg/mL; aproximadamente 4 mg/mL; aproximadamente 5 mg/mL; aproximadamente 6 mg/mL; aproximadamente 7 mg/mL; aproximadamente 8 mg/mL; aproximadamente 9 mg/mL; aproximadamente 10 mg/mL; aproximadamente 11 mg/mL; aproximadamente 12 mg/mL; aproximadamente 13 mg/mL; aproximadamente 14 mg/mL; aproximadamente 15 mg/mL; aproximadamente 16 mg/mL; aproximadamente 17 mg/mL; aproximadamente 18 mg/mL; aproximadamente 19 mg/mL; aproximadamente 20 mg/mL; aproximadamente 21 mg/mL; aproximadamente 22 mg/mL; aproximadamente 23 mg/mL; aproximadamente 24 mg/mL; aproximadamente

25 mg/mL; aproximadamente 26 mg/mL; aproximadamente 27 mg/mL; aproximadamente 28 mg/mL; aproximadamente 29 mg/mL; aproximadamente 30 mg/mL; aproximadamente 35 mg/mL; aproximadamente 40 mg/mL; aproximadamente 45 mg/mL; aproximadamente 50 mg/mL; aproximadamente 55 mg/mL; aproximadamente 60 mg/mL; aproximadamente 65 mg/mL; aproximadamente 70 mg/mL; aproximadamente 75 mg/mL; aproximadamente 80 mg/mL; aproximadamente 85 mg/mL; aproximadamente 90 mg/mL; aproximadamente 95 mg/mL; aproximadamente 96 mg/mL; aproximadamente 97 mg/mL; aproximadamente 98 mg/mL; aproximadamente 99 mg/mL; aproximadamente 100 mg/mL; aproximadamente 101 mg/mL; aproximadamente 102 mg/mL; aproximadamente 103 mg/mL; aproximadamente 104 mg/mL; aproximadamente 105 mg/mL; aproximadamente 110 mg/mL; aproximadamente 115 mg/mL; aproximadamente 120 mg/mL; aproximadamente 125 mg/mL; aproximadamente 130 mg/mL; aproximadamente 135 mg/mL; aproximadamente 140 mg/mL; aproximadamente 145 mg/mL; aproximadamente 150 mg/mL; aproximadamente 155 mg/mL; aproximadamente 160 mg/mL; aproximadamente 165 mg/mL; aproximadamente 170 mg/mL; aproximadamente 175 mg/mL; aproximadamente 180 mg/mL; aproximadamente 185 mg/mL; aproximadamente 190 mg/mL; aproximadamente 195 mg/mL o aproximadamente 200 mg/mL de un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este, que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano. En determinadas modalidades, las formulaciones farmacéuticas son formulaciones líquidas que pueden contener $1 \pm 0,1$ mg/mL a 200 ± 20 mg/mL de anticuerpo; $2 \pm 0,2$ mg/mL a 100 ± 10 mg/mL de anticuerpo; $1 \pm 0,5$ mg/mL a 30 ± 5 mg/mL de anticuerpo; 10 ± 1 mg/mL a 30 ± 3 mg/mL de anticuerpo; $1 \pm 0,1$ mg/mL a $3 \pm 0,3$ mg/mL de anticuerpo; $15 \pm 1,5$ mg/mL a $25 \pm 2,5$ mg/mL de anticuerpo; 90 ± 5 mg/mL a 110 ± 5 mg/mL de anticuerpo; o $150 \pm 7,5$ mg/mL a $170 \pm 7,5$ mg/mL de anticuerpo. En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas contienen $2 \pm 0,2$ mg/mL de anticuerpo. En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas contienen 20 ± 2 mg/mL de anticuerpo. En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas contienen 80 ± 8 mg/mL de anticuerpo. En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas contienen 100 ± 10 mg/mL de anticuerpo.

Bioequivalentes

La presente invención incluye anticuerpos que tienen secuencias de aminoácidos que varían con respecto a las de las moléculas ilustrativas descritas en la presente descripción, pero que retienen la capacidad de unirse a CD20 humano y CD3 humano.

Dichas moléculas variantes pueden comprender una o más adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos cuando se comparan con la secuencia progenitora, pero muestran actividad biológica que es esencialmente equivalente a la de los anticuerpos comentados en la presente descripción.

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

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

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

La bioequivalencia se puede demostrar mediante métodos *in vivo* e *in vitro*. Las medidas de bioequivalencia incluyen, por ejemplo, (a) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos, en los que la concentración del anticuerpo o sus metabolitos se mide en sangre, plasma, suero u otro fluido biológico en función del tiempo; (b) una prueba *in vitro* que se ha correlacionado con y es razonablemente predictiva de los datos de biodisponibilidad *in vivo* en humanos; (c) una prueba *in vivo* en seres humanos u otros mamíferos en los que el efecto farmacológico agudo adecuado del anticuerpo (o su objetivo) se mide como una función del tiempo y (d) en un ensayo clínico bien controlado que establece la seguridad, eficacia o biodisponibilidad o bioequivalencia de una proteína de unión al antígeno.

Excipientes de la formulación y pH

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

En determinadas modalidades, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención tienen una viscosidad de menos de 15 cP, lo que es ventajoso para administrar las composiciones desde una jeringa precargada o un autoinyector. En algunos casos, las formulaciones farmacéuticas tienen una viscosidad de menos de 14 cP, menos de 13 cP, menos de 12 cP, menos de 11 cP, menos de 10 cP, menos de 9 cP, menos de 8 cP, menos de 7 cP, menos de 6 cP, menos de 5 cP, menos de 4 cP, menos de 3 cP, menos de 2 cP o menos de 1,5 cP a 20 °C cuando se mide mediante el uso de un viscosímetro capilar (por ejemplo, como se comenta en el Ejemplo 3). En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas tienen una viscosidad de menos de 15 cP a concentraciones de anticuerpos de hasta 150 mg/mL a 20 °C cuando se mide mediante el uso de un viscosímetro capilar (por ejemplo, como se comenta en el Ejemplo 3). En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas tienen una viscosidad de menos de 5 cP a concentraciones de anticuerpo de hasta 100 mg/mL a 20 °C cuando se mide mediante el uso de un viscosímetro capilar (por ejemplo, como se comenta en el Ejemplo 3). En algunas modalidades, las formulaciones farmacéuticas tienen una viscosidad de menos de 2 cP a concentraciones de anticuerpo de hasta 20 mg/mL a 20 °C cuando se mide mediante el uso de un viscosímetro capilar (por ejemplo, como se comenta en el Ejemplo 3).

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

azúcar (por ejemplo, sacarosa) actúa como estabilizador térmico para el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3.

La cantidad de azúcar (por ejemplo, sacarosa) contenida en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención variará dependiendo de las circunstancias específicas y los propósitos previstos para los que se usan las formulaciones. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 20 % de azúcar; aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 20 % de azúcar; aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % de azúcar; aproximadamente 2 % a aproximadamente 15 % de azúcar; aproximadamente 5 % a aproximadamente 15 % de azúcar; aproximadamente 7,5 % a aproximadamente 12,5 % de azúcar; o aproximadamente 9 % a aproximadamente 11 % de azúcar. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender aproximadamente 0,5 %; aproximadamente 1,0 %; aproximadamente 1,5 %; aproximadamente 2,0 %; aproximadamente 2,5 %; aproximadamente 3,0 %; aproximadamente 3,5 %; aproximadamente 4,0 %; aproximadamente 4,5 %; aproximadamente 5,0 %; aproximadamente 5,5 %; aproximadamente 6,0 %; aproximadamente 6,5 %; aproximadamente 7,0 %; aproximadamente 7,5 %; aproximadamente 8,0 %; aproximadamente 8,5 %; aproximadamente 9,0 %; aproximadamente 9,5 %; aproximadamente 10,0 %; aproximadamente 10,5 %; aproximadamente 11,0 %; aproximadamente 11,5 %; aproximadamente 12,0 %; aproximadamente 12,5 %; aproximadamente 13,0 %; aproximadamente 13,5 %; aproximadamente 14,0 %; aproximadamente 14,5 %; aproximadamente 15 % o aproximadamente 20 % de azúcar (por ejemplo, sacarosa). En algunas modalidades, las formulaciones contienen aproximadamente un 10 % de azúcar (por ejemplo, sacarosa). Cada uno de los porcentajes indicados anteriormente corresponde a un porcentaje de peso/volumen (p/v). En algunos casos, las formulaciones contienen de 5 % $\pm$ 1 % a 20 % $\pm$ 4 % p/v de sacarosa. En algunos casos, las formulaciones contienen sacarosa de 8 % $\pm$ 0,5 % a 12 % $\pm$ 0,5 % p/v. En algunos casos, las formulaciones contienen sacarosa al 10 % $\pm$ 1 % p/v.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender uno o más codisolventes orgánicos (o estabilizador de interfase) en un tipo y en una cantidad que estabiliza el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 en condiciones de manipulación o agitación bruscas, tales como, por ejemplo, agitación orbital. En algunas modalidades, el codisolvente orgánico es un tensioactivo. Como se usa en la presente descripción, el término "tensioactivo" significa una sustancia que

reduce la tensión superficial de un fluido en el que se disuelve y/o reduce la tensión de la interfase entre el aceite y el agua. Los tensioactivos pueden ser iónicos o no iónicos. Los tensioactivos no iónicos ilustrativos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, alquil poli(óxido de etileno), alquil poliglucósidos (por ejemplo, octil glucósido y decil maltósido), alcoholes grasos tales como alcohol cetílico y alcohol oleílico, cocamida MEA, cocamida DEA y cocamida TEA. Los tensioactivos no iónicos específicos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, polisorbatos tales como polisorbato 20, polisorbato 28, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81 y polisorbato 85; poloxámeros tales como poloxámero 188 (también conocido como Pluronic F68), poloxámero 407; polietilen-polipropilenglicol; o polietilenglicol (PEG). El polisorbato 20 también se conoce como TWEEN 20, monolaurato de sorbitán y monolaurato de polioxietilensorbitán. En algunas modalidades, el tensioactivo es polisorbato 80.

La cantidad del tensioactivo contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede variar en función de las propiedades específicas que se desean de las formulaciones, así como de las circunstancias y propósitos particulares para los que pretenden usarse las formulaciones. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1 % de tensioactivo; de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,5 % de tensioactivo; de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 0,15 %; de aproximadamente 0,08 % a aproximadamente 0,12 % de tensioactivo; o de aproximadamente 0,09 % a aproximadamente 0,11 % de tensioactivo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden comprender aproximadamente 0,01 %; aproximadamente 0,02 %; aproximadamente 0,03 %; aproximadamente 0,04 %; aproximadamente 0,05 %; aproximadamente 0,06 %; aproximadamente 0,07 %; aproximadamente 0,08 %; aproximadamente 0,09 %; aproximadamente 0,10 %; aproximadamente 0,11 %; aproximadamente 0,12 %; aproximadamente 0,13 %; aproximadamente 0,14 %; aproximadamente 0,15 %; aproximadamente 0,16 %; aproximadamente 0,17 %; aproximadamente 0,18 %; aproximadamente 0,19 %; aproximadamente 0,20 %; aproximadamente 0,21 %; aproximadamente 0,22 %; aproximadamente 0,23 %; aproximadamente 0,24 %; aproximadamente 0,25 %; aproximadamente 0,26 %; aproximadamente 0,27 %; aproximadamente 0,28 %; aproximadamente 0,29 %; o aproximadamente 0,30 % de tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 80). En algunas modalidades, las formulaciones contienen aproximadamente 0,1 % de tensioactivo (por

ejemplo, polisorbato 80). Cada uno de los porcentajes indicados anteriormente corresponde a un por ciento de peso/volumen (p/v). En algunos casos, las formulaciones contienen polisorbato 80 de 0,01 % $\pm$ 0,005 % a 0,5 % $\pm$ 0,25 % p/v. En algunos casos, las formulaciones contienen polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v. En algunos casos, las formulaciones contienen polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender un amortiguador o un sistema amortiguador, que sirve para mantener un pH estable y para ayudar a estabilizar el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3. En algunas modalidades, el amortiguador o sistema amortiguador comprende al menos un amortiguador que tiene un intervalo de amortiguación que se solapa total o parcialmente con el intervalo de pH de 5,5 a 6,1. En determinadas modalidades, el amortiguador comprende un amortiguador de histidina. En determinadas modalidades, el amortiguador (por ejemplo, de histidina) está presente en una concentración de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 40 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 30 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; aproximadamente 3 mM a aproximadamente 18 mM; aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; o aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM. En algunos casos, el amortiguador (por ejemplo, de histidina) está presente a una concentración de 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. En algunos casos, las formulaciones contienen un amortiguador de histidina a una concentración de 5 mM $\pm$ 1 mM a 15 mM $\pm$ 3 mM. En algunos casos, las formulaciones contienen un amortiguador de histidina a una concentración de 10 mM $\pm$ 1 mM. En algunas modalidades, el amortiguador de histidina comprende L-histidina y monoclóridato de L-histidina monohidrato. En algunos casos, el amortiguador de histidina comprende L-histidina a una concentración de 3,65 mM $\pm$ 0,5 mM y monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 6,35 mM $\pm$ 0,5 mM. En algunos casos, el amortiguador de histidina comprende L-histidina a una concentración de 3,65 mM $\pm$ 0,2 mM y monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 6,35 mM $\pm$ 0,2 mM. En algunas modalidades, las formulaciones contienen un amortiguador de acetato (por

ejemplo, en cualquiera de las concentraciones comentadas anteriormente o en la presente descripción). En algunas modalidades, las formulaciones contienen un amortiguador de fosfato (por ejemplo, en cualquiera de las concentraciones comentadas anteriormente o en la presente descripción).

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

La exclusión por volumen describe el comportamiento de muestras altamente concentradas en las que una porción significativa del volumen total de la solución se absorbe por el soluto, especialmente por moléculas grandes tales como las proteínas, que excluyen al solvente de este espacio. Esto disminuye después el volumen total de solvente disponible para que se disuelvan otros solutos, lo que puede resultar en una partición desigual a través de la membrana de ultrafiltración. Por tanto, la presente invención incluye formulaciones en las que la concentración de, por ejemplo, histidina puede variar de las cantidades o intervalos citados en la presente descripción debido al efecto de exclusión por volumen.

Durante la fabricación de las formulaciones de la presente invención, pueden ocurrir variaciones en la composición de la formulación. Estas variaciones pueden incluir la concentración del ingrediente activo, la concentración de los excipientes y/o el pH de la formulación. La presente invención incluye formulaciones que comprenden anticuerpos biespecíficos anti-CD20 x anti-CD3 que son estables y conservan la

potencia con una variación de hasta al menos el 10 % en la concentración del excipiente. Por ejemplo, en la presente descripción se incluyen formulaciones de anticuerpos biespecíficos anti-CD20 x anti-CD3, en donde la estabilidad y potencia de las formulaciones no se afectan por una variación de $\pm 10\%$ o $\pm 20\%$ en la concentración de anticuerpo, sacarosa, amortiguador de histidina y/o polisorbato.

ESTABILIDAD DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

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

La estabilidad puede medirse, entre otras, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo nativo que queda en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura determinada. El porcentaje de anticuerpo nativo puede determinarse mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de exclusión por tamaño de alta resolución[SE-HPLC]), entre otras cosas. Un "grado de estabilidad aceptable", como se usa en la presente descripción, significa que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. En determinadas modalidades, al menos aproximadamente el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad puede ser al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al

menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 36 meses o más. La temperatura a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4°-8°C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 24 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 36 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 %, 96,5 %, 97 %, 97,5 %, 98 %, 98,5 %, 99 % o 99,5 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también

puede considerarse estable si después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 % o 98 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC.

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

También puede usarse la medición de la afinidad de unión del anticuerpo a su objetivo para evaluar la estabilidad. Por ejemplo, una formulación de la presente invención puede considerarse estable si, después del almacenamiento a, por ejemplo, -80 °C, -30 °C, -20 °C, 5 °C, 25 °C, 37 °C, 45 °C, etc., durante un período de tiempo definido (por ejemplo, de 14 días a 9 meses), el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 contenido dentro de la formulación se une a CD20 humano y CD3 humano con una afinidad que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento. La afinidad de unión puede determinarse mediante cualquier método, tal como por ejemplo, ELISA o resonancia de plasmón. La actividad biológica puede determinarse mediante un ensayo de actividad de CD20 o CD3, tal como por ejemplo al poner en contacto una célula que expresa CD20 o CD3 con la formulación que comprende el anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3. La unión del anticuerpo a dicha célula puede medirse directamente, por ejemplo mediante análisis FACS.

La estabilidad puede medirse, entre otras cosas, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo que forma un agregado (especies de alto peso molecular (HMW)) dentro de la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura definida, en donde la estabilidad es inversamente proporcional al por ciento de agregado que se forma. El porcentaje de anticuerpo agregado puede determinarse, entre otras cosas, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño [SE-HPLC] o cromatografía líquida de ultra resolución de exclusión por tamaño [SE-UPLC]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esa frase en la presente

descripción, significa que como máximo el 6 % del anticuerpo está en forma agregada detectada en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. En determinadas modalidades, un grado aceptable de estabilidad significa que como máximo aproximadamente 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en un agregado en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura determinada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad puede ser de al menos 2 semanas, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 36 meses o más. La temperatura a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4-8 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de nueve meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente 2 %, 1,75 %, 1,5 %, 1,25 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa, menos de aproximadamente 2 %, 1,75 %, 1,5 %, 1,25 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, menos de aproximadamente 6 %, 5,9 %, 5,8 %, 5,7 %, 5,6 %, 5,5 %, 5 %, 4,5 %, 4 %, 3,5 %, 3 %, 2,5 %, 2 %, 1,5 %, 1 %, 0,5 %, o 0,1 % del anticuerpo se detecta en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -20 °C, -30 °C o -80 °C menos de aproximadamente 2 %, 1,9 %, 1,8 %, 1,7 %, 1,6 %, 1,5 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo se detecta en forma agregada.

La estabilidad puede medirse, entre otras, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo que migra en una fracción más ácida durante el intercambio iónico ("forma ácida") que en la fracción principal de anticuerpo ("forma de carga principal"), en donde la estabilidad es inversamente proporcional a la fracción de

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

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

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

Como se ilustra en los ejemplos más abajo, la presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que la combinación de los excipientes reivindicados con un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 produce una formulación que es estable.

FORMULACIONES ILUSTRATIVAS

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano; (ii) un amortiguador que comprende

histidina; (iii) un codisolvente orgánico que comprende polisorbato; y (iv) un estabilizador que comprende un azúcar.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,15 % p/v; y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v a aproximadamente 15 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG1 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,15 % p/v; y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v a aproximadamente 15 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,15 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v a aproximadamente 15 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,05 % p/v a aproximadamente 0,15 % p/v; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 5 % p/v a aproximadamente 15 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se

une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,075 % p/v a aproximadamente 0,125 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 8 % p/v a aproximadamente 12 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG1 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,075 % p/v a aproximadamente 0,125 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 8 % p/v a aproximadamente 12 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL

a aproximadamente 200 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,075 % p/v a aproximadamente 0,125 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 8 % p/v a aproximadamente 12 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 8 mM a aproximadamente 12 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,075 % p/v a aproximadamente 0,125 % p/v; (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 8 % p/v a aproximadamente 12 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3

humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG1 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL a 200 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de 10 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % p/v, y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL a 200 mg/mL $\pm$ 20 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v, y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3

humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL a 200 mg/mL $\pm$ 20 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene

una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente $0,1 \% \pm 0,01 \% \text{ p/v}$ y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente $10 \% \pm 1 \% \text{ p/v}$, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente $0,1 \% \pm 0,01 \% \text{ p/v}$ y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente $10 \% \pm 1 \% \text{ p/v}$, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de $20 \text{ mg/mL} \pm 2 \text{ mg/mL}$, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del

mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL a 200 mg/mL $\pm$ 20 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 y en donde una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación (por ejemplo, H435R y Y436F por numeración de EU) en el dominio CH3 que reduce la unión a la proteína A en relación con un dominio CH3 de IgG4 no

modificado; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente $0,1 \% \pm 0,01 \% \text{ p/v}$ y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente $10 \% \pm 1 \% \text{ p/v}$, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de $2 \text{ mg/mL} \pm 0,2 \text{ mg/mL}$, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 y en donde una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación (por ejemplo, H435R y Y436F por numeración de EU) en el dominio CH3 que reduce la unión a la proteína A en relación con un dominio CH3 de IgG4 no modificado; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente $0,1 \% \pm 0,01 \% \text{ p/v}$ y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente $10 \% \pm 1 \% \text{ p/v}$, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de $20 \text{ mg/mL} \pm 2 \text{ mg/mL}$, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 y en donde una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación (por ejemplo, H435R y Y436F por numeración de EU) en el dominio CH3 que reduce la unión a la proteína A en relación con un dominio CH3 de IgG4 no modificado; (ii) histidina a una concentración de $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente $0,1 \%$

$\pm 0,01$ % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente $10\% \pm 1\%$ p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de $100\text{ mg/mL} \pm 10\text{ mg/mL}$, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 y en donde una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación (por ejemplo, H435R y Y436F por numeración de EU) en el dominio CH3 que reduce la unión a la proteína A en relación con un dominio CH3 de IgG4 no modificado; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente $10\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente $0,1\% \pm 0,01\%$ p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente $10\% \pm 1\%$ p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de $2\text{ mg/mL} \pm 0,2\text{ mg/mL}$ a $100\text{ mg/mL} \pm 10\text{ mg/mL}$; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente $10\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente $0,1\% \pm 0,01\%$ p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente $10\% \pm 1\%$ p/v, en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de $2\text{ mg/mL} \pm 0,2\text{ mg/mL}$; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente $10\text{ mM} \pm$

1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL; (ii) histidina a una concentración de aproximadamente 10 mM $\pm$ 1 mM; (iii) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,1 % $\pm$ 0,01 % p/v y (iv) sacarosa a una concentración de aproximadamente 10 % $\pm$ 1 % p/v, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de aproximadamente 0,57 mg/ml $\pm$ 0,1 mg/ml; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 1 mg/mL $\pm$ 0,1

mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de aproximadamente 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG1 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) L-histidina a una concentración de aproximadamente 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de aproximadamente 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una

concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóhidrato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóhidrato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia

de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG1 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL;

(iii) monoclórhidrato de L-histidina monohidrato a una concentración de $1,33 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$; (iv) polisorbato 80 a una concentración de $1 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$; y (v) sacarosa a una concentración de $100 \text{ mg/mL} \pm 10 \text{ mg/mL}$, en agua en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de $100 \text{ mg/mL} \pm 10 \text{ mg/mL}$; ((ii) L-histidina a una concentración de $0,57 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$; (iii) monoclórhidrato de L-histidina monohidrato a una concentración de $1,33 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$; (iv) polisorbato 80 a una concentración de $1 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$; y (v) sacarosa a una concentración de $100 \text{ mg/mL} \pm 10 \text{ mg/mL}$, en agua en donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de $100 \text{ mg/mL} \pm 10 \text{ mg/mL}$, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG1 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) L-histidina a una concentración de $0,57 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$; (iii) monohidrócloruro de L-histidina monohidrato a una concentración de $1,33 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$; (iv) polisorbato 80 a una concentración de $1 \text{ mg/mL} \pm 0,1 \text{ mg/mL}$;

y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i) un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD20 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y un segundo dominio de unión al antígeno que se une específicamente a CD3 humano que comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en donde el anticuerpo tiene regiones constantes de la cadena pesada de isotipo IgG4 (opcionalmente en el que una de las dos cadenas pesadas tiene una modificación que reduce la unión a la proteína A en relación con una cadena pesada no modificada del mismo isotipo y, opcionalmente, en la que una o ambas de las dos cadenas pesadas tienen una bisagra quimérica); (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclórhidrato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En algunos casos, la formulación farmacéutica líquida estable comprende (i un anticuerpo biespecífico humano que se une específicamente a CD20 humano y CD3 humano y comprende una primera cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 y una cadena ligera común que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclórhidrato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (iv) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua en donde la formulación tiene un pH de 5,8 $\pm$ 0,3.

En cualquiera de estas formulaciones ilustrativas, “estable” puede definirse como: (a) al menos 90 % del anticuerpo tiene la conformación nativa después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, según se determinó por cromatografía líquida de exclusión por tamaño de ultra resolución (SE-UPLC); (b) al menos 93 % del anticuerpo tiene la

conformación nativa después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, según se determinó por SE-UPLC; (c) al menos 95 % del anticuerpo tiene la conformación nativa después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, según se determinó por SE-UPLC; (d) al menos 95 % del anticuerpo tiene la conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa, según se determinó por SE-UPLC; (e) al menos el 97 % del anticuerpo tiene la conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C Y 60 % de humedad relativa según se determinó por SE-UPLC; (f) al menos el 95 % del anticuerpo tiene la conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC; (g) al menos el 98 % del anticuerpo tiene la conformación nativa después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC; (h) la formulación no contiene más de 6 % de especies de alto peso molecular (HMW) después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, según se determinó por SE-UPLC; (i) la formulación no contiene más de 5,6 % de especies de HMW después de 1 mes de almacenamiento a 45 °C, según se determinó por SE-UPLC; (j) la formulación no contiene más de 2 % de especies de HMW después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa, según se determinó por SE-UPLC; (k) la formulación no contiene más de 1 % de especies de alto peso molecular (HMW) después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C y 60 % de humedad relativa según se determinó por SE-UPLC; (l) la formulación no contiene más de 1,5 % de especies de HMW después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC; y/o (m) la formulación no contiene más de 1 % de especies de HMW después de 9 meses de almacenamiento a 5 °C, según se determinó por SE-UPLC.

En cualquiera de estas formulaciones ilustrativas, el anticuerpo biespecífico puede incluir una modificación en una o ambas cadenas pesadas para facilitar la purificación del anticuerpo biespecífico (es decir, el heterodímero) a partir de impurezas homodiméricas. En algunas modalidades, los anticuerpos biespecíficos incluyen las primera y segunda cadenas pesadas (es decir, la cadena pesada del brazo de unión anti-CD20 y la cadena pesada del brazo de unión anti-CD3) que son idénticas (por ejemplo, ambas de isotipo IgG1 o IgG4) excepto por una modificación en el dominio CH3 de una u otra cadena pesada que reduce la unión del anticuerpo biespecífico a la proteína A en comparación con un anticuerpo que carece de la modificación. En algunos casos, el dominio CH3 de la primera cadena pesada (por ejemplo, del brazo de unión anti-CD20) se une a la proteína A y el dominio CH3 de la segunda cadena pesada (por ejemplo, del brazo de unión anti-CD3) contiene una mutación que reduce o anula la

unión a la proteína A. En algunos casos, la mutación es una modificación H435R (por numeración de EU; H95R por numeración de exón IMGT). En algunos casos, la mutación es una modificación H435R (por numeración de EU; H95R por numeración de exón IMGT) y una modificación Y436F (por numeración de EU; Y96F por IMGT). Otras modificaciones que pueden encontrarse dentro del segundo dominio CH3 incluyen: D356E, L358M, N384S, K392N, V397M y V422I por EU (D16E, L18M, N44S, K52N, V57M y V82I por IMGT) en el caso de los dominios CH3 de la IgG1; y Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q y V422I por EU (Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q y V82I por IMGT) en el caso de los dominios CH3 de la IgG4.

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

ENVASES Y MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden contenerse dentro de cualquier envase adecuado para el almacenamiento de productos farmacéuticos y otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden contenerse dentro de un envase de plástico o vidrio sellado y esterilizado que tiene un volumen definido tal como un vial, ampolla, jeringa, cartucho, botella o bolsa IV. Pueden usarse diferentes tipos de viales para contener las formulaciones de la presente invención, que incluyen, por ejemplo, viales de vidrio o plástico transparentes y opacos (por ejemplo, ámbar). Asimismo, puede usarse cualquier tipo de jeringa para contener y/o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica se contiene en una jeringa precargada. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica se contiene en una jeringa precargada con aguja preinstalada.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden contenerse en jeringas con un "contenido normal de tungsteno" o jeringas con un "bajo contenido de tungsteno". Como apreciarán las personas expertas en la técnica, el proceso de fabricación de jeringas de vidrio generalmente implica el uso de una varilla de tungsteno caliente que funciona para perforar el vidrio lo que crea así un agujero desde el cual pueden extraerse y expulsarse líquidos de la jeringa. Este proceso da como resultado la deposición de pequeñas cantidades de tungsteno en la superficie interior de la jeringa. El lavado posterior y otras etapas de procesamiento pueden usarse para reducir la cantidad de tungsteno en la jeringa. Como se usa en la presente descripción, el término "contenido normal de tungsteno" significa que la jeringa contiene más de 500 partes por

mil millones (ppb) de tungsteno. El término "bajo contenido de tungsteno" significa que la jeringa contiene menos de 500 ppb de tungsteno. Por ejemplo, una jeringa con bajo contenido de tungsteno, de acuerdo con la presente invención, puede contener menos de aproximadamente 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 o menos ppb de tungsteno.

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

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente por vías parenterales tales como inyección (por ejemplo, vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o administración percutánea, mucosal, nasal, pulmonar y/u oral. Pueden usarse numerosos dispositivos de administración tipo pluma de inyección y/o autoinyector reusables para administrar de manera subcutánea las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RN), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly y Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhage, Dinamarca), NOVOPEN

JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar algunos. Los ejemplos de dispositivos de administración tipo pluma de inyección y/o autoinyector desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, pluma SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), la FLEXPEN™ (Novo Nordisk), y la KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.), y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL), por nombrar algunos. En algunos casos, la formulación farmacéutica se contiene en una jeringa específicamente adaptada para su uso con un autoinyector.

También se contempla en la presente descripción el uso de un microinfusor para administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. Como se usa en la presente descripción, el término "microinfusor" significa un dispositivo de administración subcutánea diseñado para administrar lentamente grandes volúmenes (por ejemplo, hasta aproximadamente 2,5 mL, aproximadamente 3,0 mL o más) de una formulación terapéutica durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30 minutos o más). Ver, por ejemplo, los documentos núm. US 6,629,949; US 6,659,982; y Meehan y otros, *J. Controlled Release* 46:107-116 (1996). Los microinfusores son particularmente útiles para la administración de grandes dosis de proteínas terapéuticas contenidas en soluciones de altas concentraciones (por ejemplo, aproximadamente 100, 125, 150, 175, 200 mg/mL o más) y/o viscosas.

En determinadas modalidades, la formulación farmacéutica se administra a través de un goteo IV, de modo que la formulación se diluye en una bolsa IV que contiene una solución aceptable fisiológicamente. En una modalidad, la composición farmacéutica es una preparación estéril compuesta en una bolsa de infusión intravenosa, de modo que una dosis única de medicamento se diluye en 100 mL, 250 mL (u otra cantidad similar adecuada para la administración intravenosa por goteo) de un amortiguador fisiológico (por ejemplo, solución salina al 0,9 %).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden contenerse en una forma de dosificación unitaria. El término "forma de dosificación unitaria," como se usa en la presente descripción, se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada como una dosificación unitaria para el paciente que se va a tratar, cada unidad que contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada

para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador, diluyente o excipiente farmacéutico requerido. En diversas modalidades, la forma de dosificación unitaria se contiene dentro de un envase como se comenta en la presente descripción. Los niveles de dosificación reales del ingrediente activo (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-MUC16 x anti-CD3) en las formulaciones de la presente invención pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un determinado paciente, composición y modo de administración, sin efectos adversos para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos que incluyen la actividad de las composiciones particulares de la presente invención empleadas, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto particular que se emplea, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, afección, salud general e historial médico previo del paciente que se trata y factores similares bien conocidos en la técnica médica. El término "diluyente" como se usa en la presente descripción se refiere a una solución adecuada para alterar o lograr una concentración o concentraciones ilustrativas o apropiadas como se describe en la presente descripción.

En diversas modalidades, la forma de dosificación unitaria contiene una cantidad del ingrediente activo (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3) destinado a un uso único. En diversas modalidades, la cantidad del ingrediente activo en la forma de dosificación unitaria es de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5000 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1000 mg, y de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 350 mg, de aproximadamente 125 mg a aproximadamente 175 mg, de aproximadamente 275 mg a aproximadamente 325 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 25 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg, o rangos o intervalos de estos. También se pretende que sean parte de esta invención los intervalos intermedios a las cantidades mencionadas anteriormente, por ejemplo, de aproximadamente 2 mg a aproximadamente 100 mg o de 2 mg a 20 mg. Por ejemplo, se pretende que se incluyan los intervalos de valores que usan una combinación de

cualquiera de los valores mencionados anteriormente (o valores contenidos dentro de los rangos mencionados anteriormente) como límites superior y/o inferior. En una modalidad particular, la formulación a menudo se suministra como un líquido en una forma de dosificación unitaria. En algunas modalidades, la forma de dosificación unitaria contiene de 2 a 2,5 mg o de 10 a 11 mg, de 20 a 25 mg, de 80 a 90 mg, de 100 a 125 mg, de 160 a 180 mg, de 200 a 225, o de 320 a 360 mg. En algunas modalidades, una forma de dosificación unitaria de acuerdo con la presente invención es adecuada para la administración subcutánea a un paciente (por ejemplo, una forma de dosificación unitaria que contiene el anticuerpo a una concentración de aproximadamente 100 mg/mL o aproximadamente 160 mg/mL).

En una modalidad, la presente invención proporciona una forma de dosificación unitaria que comprende aproximadamente 2 mg del anticuerpo en una formulación estable en donde la formulación comprende el anticuerpo a una concentración de 2 mg/mL $\pm$ 0,2 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$. En una modalidad, la presente invención proporciona una forma de dosificación unitaria que comprende aproximadamente 20 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 160 mg o aproximadamente 320 mg del anticuerpo en una formulación estable en la que la formulación comprende el anticuerpo a una concentración de 20 mg/mL $\pm$ 2 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$. En una modalidad, la presente invención proporciona una forma de dosificación unitaria que comprende aproximadamente 100 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 300 mg o aproximadamente 400 mg del anticuerpo en una formulación estable en donde la formulación comprende el anticuerpo a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL; (ii) L-histidina a una concentración de 0,57 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iii) monoclóridato de L-histidina monohidrato a una concentración de 1,33 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; (iv) polisorbato 80 a una concentración de 1 mg/mL $\pm$ 0,1 mg/mL; y (v) sacarosa a una concentración de 100 mg/mL $\pm$ 10 mg/mL, en agua donde la formulación tiene un pH de $5,8 \pm 0,3$.

La presente invención también incluye métodos para preparar una forma farmacéutica unitaria. En una modalidad ilustrativa, un método para preparar una forma de dosificación unitaria farmacéutica incluye combinar la formulación de cualquiera de las modalidades anteriores en un envase adecuado (por ejemplo, los envases comentados en la presente descripción).

En varias modalidades, las formulaciones farmacéuticas se contienen en envases (por ejemplo, un vial o una jeringa precargada) que pueden contener un gas de espacio superior con menos del 5 % de un gas oxidante (por ejemplo, oxígeno) en volumen. La concentración de gas oxidante (por ejemplo, oxígeno) en el espacio superior del envase puede ser inferior al 4,5 %, inferior al 4 %, inferior al 3,5 %, inferior al 3 %, inferior al 2,5 %, inferior al 2 % o inferior del 1,5% en diversas modalidades. En una modalidad, la concentración del gas oxidante (por ejemplo, oxígeno) en el espacio superior es inferior a aproximadamente el 1 %. En una modalidad, la concentración del gas oxidante (por ejemplo, oxígeno) en el espacio superior no es superior a aproximadamente el 0,5 %. En una modalidad, la concentración del gas oxidante (por ejemplo, oxígeno) en el espacio superior no es superior al 0,1 %. En diversas modalidades, la concentración del gas oxidante (por ejemplo, oxígeno) en el espacio superior del envase del medicamento es inferior al 0,9 %, inferior al 0,8 %, inferior al 0,7 %, inferior al 0,6 %, inferior al 0,5 %, inferior al 0,5 % del 0,4 %, inferior al 0,3 %, inferior al 0,2 % o inferior al 0,1 %. En algunos casos, la concentración de oxígeno en el gas del espacio superior es de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1,5 %. En algunos casos, la concentración de oxígeno en el gas del espacio superior es de aproximadamente 0,75 % a aproximadamente 1,25 %. En algunos casos, la concentración de oxígeno en el gas del espacio superior es de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 0,15 %. En diversas modalidades, el gas oxidante (por ejemplo, oxígeno) en el espacio superior se reemplaza, o se reemplaza sustancialmente, con un gas inerte, tal como nitrógeno, argón, helio, xenón, neón, criptón o radón. En una modalidad, el gas no oxidante es nitrógeno. En una modalidad, el gas no oxidante es argón.

USOS TERAPÉUTICOS DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención son útiles, entre otras cosas, para el tratamiento, prevención y/o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con una célula que expresa CD20 humano. Ejemplos de enfermedades y trastornos no limitantes que pueden tratarse mediante la administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen cánceres de linfocitos B,

tales como linfomas no hodgkinianos, por ejemplo, linfoma folicular, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto linfoma y linfoma de la zona marginal.

Los métodos terapéuticos de la presente invención comprenden administrar a un sujeto cualquier formulación que comprenda un anticuerpo biespecífico anti-CD20 x anti-CD3 como se describe en la presente descripción. El sujeto al que se administra la formulación farmacéutica puede ser, por ejemplo, cualquier ser humano o animal no humano que necesite dicho tratamiento. Por ejemplo, el sujeto puede ser un individuo al que se le diagnostica o que se considera que corre el riesgo de padecer cualquiera de las enfermedades o trastornos mencionados anteriormente. La presente invención incluye además el uso de cualquiera de las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente descripción en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cualquier enfermedad o trastorno asociado con una célula que expresa CD20 humano, que incluyen cualquiera de las enfermedades, trastornos y afecciones ilustrativas mencionadas anteriormente.

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

Un resumen de las secuencias y las SEQ ID NO correspondientes a las que se hace referencia en la presente descripción se muestran en la Tabla 1, más abajo.

Tabla 1: Resumen de secuencias

SEQ ID NO:	Descripción
1	Cadena pesada anti-CD20
2	Cadena pesada anti-CD3
3	Cadena ligera común Anti-CD20 y Anti-CD3
4	HCVR anti-CD20
5	HCVR anti-CD3
6	LCVR común anti-CD20 y anti-CD3
7	HCDR1 anti-CD20
8	HCDR2 anti-CD20
9	HCDR3 anti-CD20
10	HCDR1 anti-CD3
11	HCDR2 anti-CD3
12	HCDR3 anti-CD3
13	LCDR1 común Anti-CD20 y Anti-CD3
14	LCDR2 común Anti-CD20 y Anti-CD3
15	LCDR3 común Anti-CD20 y Anti-CD3
16	Región constante de la cadena pesada IgG4
17	Región constante de la cadena pesada IgG4 con H435R/Y436F
18	Región constante de la cadena pesada IgG1
19	Región constante de la cadena pesada IgG1 con H435R/Y436F

EJEMPLOS

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

Ejemplo 1: Desarrollo de formulaciones de anticuerpos biespecíficos anti-CD20 x anti-CD3 líquidas estables

Las actividades de desarrollo de formulaciones incluyeron la evaluación de amortiguadores, pH, codisolventes orgánicos, tensioactivos, y estabilizadores térmicos para identificar excipientes que mejoren la estabilidad de la proteína. Los resultados generados a partir de estos estudios, así como los comentados en el Ejemplo 2, se usaron para desarrollar una formulación líquida estable adecuada para uso clínico.

El efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad térmica de REGN1979 se examinó en formulaciones líquidas mediante la incubación de REGN1979 a 15 mg/mL y 45 °C durante 28 días en una serie de sistemas amortiguadores a diferentes intervalos de pH. Se estudiaron los siguientes sistemas amortiguadores y pH: acetato (pH 4,5 a

5,5), histidina (pH 5,5 a 6,5), y fosfato (pH 6,0 a 7,0). Con base en los resultados del análisis de SE-UPLC, se observó la máxima estabilidad de la proteína cuando REGN1979 se formuló entre pH 5,5 y pH 6,0 en amortiguador de L-histidina (Tabla 2). Con base en los resultados del análisis de CEX-UPLC, se observó la máxima estabilidad de la proteína cuando REGN1979 se formuló entre pH 5,5 y pH 6,0 en amortiguador de L-histidina o entre pH 4,5 y 5,0 en amortiguador acetato. Estos análisis también revelaron que la fragmentación (es decir, la formación de especies de bajo peso molecular), formación de especies de HMW, y variantes de carga fueron las principales vías de degradación. El amortiguador de histidina se seleccionó como el amortiguador de formulación para las formulaciones de medicamentos (DP) porque minimizaba la formación de especies de alto peso molecular, la ruta de degradación de mayor preocupación. Se eligió un pH de 5,8 para las formulaciones de DP porque la formación de especies de alto peso molecular y las variantes de carga se minimizaron a este pH. En base a estos resultados, así como a los comentados en el Ejemplo 2, se eligió amortiguador de histidina 10 mM, a pH 5,8, para las formulaciones del DP REGN1979.

Los estabilizadores térmicos tales como la sacarosa, a menudo se adicionan a las formulaciones de anticuerpos para aumentar la estabilidad térmica de la proteína. REGN1979 25 mg/mL en una formulación líquida mostró una estabilidad mejorada cuando se formuló con sacarosa al 10 % y se incubó en condiciones aceleradas (Tabla 3). Después de la incubación a 45 °C durante 28 días, las especies de HMW aumentaron en un 0,6 % en la formulación que contenía un 10 % de sacarosa en comparación con un aumento del 1,4 % en la formulación de control sin sacarosa. En base a estos resultados, así como a los comentados en el Ejemplo 2, se eligió la sacarosa como estabilizador térmico para la formulación del DP REGN1979.

Los codisolventes orgánicos, tales como los tensioactivos, a menudo se adicionan a las formulaciones de anticuerpos para proteger la proteína de la agregación inducida por agitación. Se examinó el efecto de los tensioactivos sobre la estabilidad ante el estrés por agitación y la estabilidad térmica de REGN1979 25 mg/mL. Se evaluaron los siguientes tensioactivos: polisorbato 20 al 0,1 % y polisorbato 80 al 0,1 % en este ejemplo. Los resultados de los estudios de estabilidad ante el estrés por agitación y estabilidad térmica se resumen en la Tabla 4 y la Tabla 5, respectivamente. REGN1979 fue inestable cuando se agitó con vórtex durante 120 minutos en ausencia de un tensioactivo. En ausencia de tensioactivo, la formulación mostró un aumento del 1,5 % en las especies de HMW según se determinó por SE-UPLC (Tabla 4). Los dos tensioactivos que se probaron protegieron a REGN1979 de la inestabilidad inducida por

agitación en un grado similar (Tabla 4). Además, los dos tensioactivos que se probaron redujeron la estabilidad térmica de REGN1979 en un grado similar, lo que se manifestó como un aumento en las especies de HMW, las especies de LMW y las especies con carga básica (Tabla 5). En base a estos resultados, así como a los comentados en el Ejemplo 2, se eligió el polisorbato 80 como el tensioactivo para las formulaciones del DP REGN1979.

REGN1979 mostró la máxima estabilidad cuando se formuló en presencia de histidina, polisorbato 80, y sacarosa a pH 5,8. Las principales vías de degradación identificadas durante el desarrollo de la formulación líquida de REGN1979 fueron la formación de especies de alto y bajo peso molecular y variantes de carga. En base a los resultados de estos experimentos, y los comentados en el Ejemplo 2, se determinó que una formulación amortiguada acuosa que contiene histidina 10 mM, pH 5,8, 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, 10 % (p/v) de sacarosa, y de 2-160 mg/mL (por ejemplo, 2 mg/mL, 20 mg/mL o 100 mg/mL) de REGN1979 era la más estable.

Tabla 2: Efecto del amortiguador y el pH sobre la estabilidad de REGN1979 a 15 mg/mL incubado a 45 °C durante 28 días

Formulación		REGN1979 15 mg/mL, amortiguador 10 mM									
Volumen de llenado		0,4 mL									
Envase/cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapón elastomérico 4432/50 recubierto con FluroTec®									
pH/amortiguador	Número de lote FDG	Color y apariencia	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)	% de proteína recuperada mediante RP-UPLC	Cambio de pureza por SE-UPLCa			Cambio en las variantes cargadas por CEX-UPLCa			
					% de HMW	% nativo	% de LMW	% ácido	% principal	% básico	
pH 4.5, acetato	L13-529	Aprobado	0,01	98	5,2	-6,0	0,8	-0,8	-7,4	8,2	
pH 5.0, acetato	L13-528	Aprobado	0,00	99	1,5	-1,9	0,4	6,3	-6,0	-0,3	
pH 5.5, acetato	L13-527	Aprobado	0,00	97	1,5	-1,8	0,3	11,8	-14,1	2,3	
pH 5.5, histidina	L13-546	Aprobado	0,00	100	1,5	-1,8	0,4	7,9	-7,1	-0,8	
pH 6.0, histidina	L13-545	Aprobado	0,00	98	1,2	-1,6	0,3	13,5	-9,1	-4,5	
pH 6.5, histidina	L13-544	Aprobado	0,01	101	2,0	-2,6	0,6	21,7	-16,6	-5,1	
pH 6.0, fosfato	L13-523	Aprobado	0,01	100	1,5	-1,8	0,3	17,1	-11,6	-5,5	
pH 6.5, fosfato	L13-522	Aprobado	0,01	97	2,4	-2,8	0,4	26,0	-21,0	-5,1	
pH 7.0, fosfato	L13-521	Aprobado	0,21	96	2,8	-3,2	0,4	41,1	-33,2	-7,9	

^a Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 93,3$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 64,6$ % del pico principal por CEX-UPLC en las 9 formulaciones.

Tabla 3: Efecto de la concentración de sacarosa sobre la estabilidad de REGN1979 a 25 mg/mL incubado a 45 °C durante 28 días

Formulación	REGN1979 25 mg/mL, histidina 10 mM, pH 5,5										
Volumen de llenado	0,4 mL										
Envase/cierre	Vial de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapón elastomérico 4432/50 recubierto con FluorTec®										
Estabilizador	Número de lote FDG	Color y apariencia	Turbidez (aumento de OD a 405 nm)	pH	% de proteína recuperada mediante RP-UPLC	Cambio en la pureza por SE-UPLC ^a			Cambio en las variantes de carga por CEX-UPLC ^a		
						% de HMW	% nativo	% de LMW	% ácido	% principal	% básico
Sin sacarosa	L13-676	Aprobado	0,00	5,4	92	1,4	-1,9	0,6	9,0	-11,1	2,0
sacarosa al 10 % (p/v)	L13-677	Aprobado	0,01	5,6	95	0,6	-0,9	0,0	8,7	-11,7	3,1

^a Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 97,1$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 65,4$ % del pico principal por CEX-UPLC en ambas formulaciones

Tabla 4: Efecto de tensioactivos sobre la estabilidad de REGN1979 a 25 mg/mL después de la agitación (120 minutos de agitación de agitación)

Formulación		REGN1979 25 mg/mL, histidina 10 mM, pH 5,5, y sacarosa al 10 % (p/v)									
Volumen de llenado		0,4 mL									
Envase/cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapón elastomérico 4432/50 recubierto con FluorTec®									
Tensioactivo	Número de lote FDG	Color y apariencia	Turbidez (aumento de OD a 405 nm)	pH	% de proteína recuperada mediante RP-UPLC	Cambio de pureza por SE-UPLCa			Cambio en las variantes de carga por CEX-UPLCa		
						% de HMW	% nativo	% de LMW			
									% ácido	% principal	% básico

Sin surfactante	L13-677	Aprobado	0,00	5,5	99	1,5	-1,4	-0,1	-0,6	-0,2	0,8
polisorbato 20 al 0,1 % (p/v)	L13-678	Aprobado	0,00	5,5	100	-0,2	0,3	-0,1	0,2	-0,1	-0,1
polisorbato 80 al 0,1 % (p/v)	L13-679	Aprobado	0,00	5,5	103	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,2

^a Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 97,1$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 65,4$ % del pico principal por CEX-UPLC en las 3 formulaciones.

Tabla 5: Efecto de los tensioactivos sobre la estabilidad de REGN1979 a 25 mg/mL incubado a 45 °C durante 28 días

Formulación		REGN1979 25 mg/mL, histidina 10 mM, pH 5,5, y sacarosa al 10 % (p/v)									
Volumen de llenado		0,4 mL									
Envase/cierre		Vial de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapón elastomérico 4432/50 recubierto con FluorTec®									
Co-disolvente/ Surfactante	Número de lote FDG	Color y apariencia	Turbidez (aumento de OD a 405 nm)	pH	% de proteína recuperada mediante RP-UPLC	Cambio en la abundancia relativa de especies de peso molecular por SE-UPLCa			Cambio en la abundancia relativa de formas variantes de carga por CEX-UPLC ^a		
						% de HMW	% nativo	% de LMW	% ácido	% principal	% básico
Sin surfactante	L13- 677	Aprobado	0,01	5,6	95	0,6	-0,9	0,0	8,7	-11,7	3,1
polisorbato 20 al 0,1 % (p/v)	L13- 678	Aprobado	0,01	5,6	95	1,9	-2,5	0,6	7,7	-16,1	8,4
polisorbato 80 al 0,1 % (p/v)	L13- 679	Aprobado	0,01	5,6	97	2,0	-2,7	0,7	8,8	-17,2	8,2

^a Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene ≥ 97,1 % del pico nativo por SE-UPLC y ≥ 65,4 % del pico principal por CEX-UPLC en las 3 formulaciones

Ejemplo 2: Almacenamiento y estabilidad al estrés de las formulaciones

Se realizaron estudios de investigación de la estabilidad para evaluar la estabilidad de almacenamiento, acelerada, y al estrés de las formulaciones de medicamentos (DP) de REGN1979. El DP usado en los estudios de investigación de la estabilidad se creó mediante el llenado de 1,2 mL o 5,5 mL de sustancia farmacológica en viales de vidrio tipo 1 de 2 mL o 10 mL, respectivamente, seguido de un proceso de recubrimiento de nitrógeno. El DP se incubó en varias condiciones de alta temperatura. Estas condiciones aceleradas se seleccionaron para simular las condiciones a las que puede estar sujeto el DP durante la fabricación y el manejo y para dilucidar las vías de degradación del DP REGN1979 con recubrimiento con nitrógeno.

Estabilidad de almacenamiento: Actualmente, los datos de estabilidad de investigación de 9 meses están disponibles para el vial de 2 mL y el vial de 10 mL de DP. Para ambas presentaciones del DP, el DP REGN1979 fue física y químicamente estable cuando se almacenó a 5 °C durante 9 meses (Tabla 6 y Tabla 7). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos controlados.

Estabilidad acelerada: Se proporcionan los resultados del análisis del vial de 2 mL y el vial de 10 mL de DP REGN1979 después de la incubación en condiciones aceleradas en la Tabla 8 y Tabla 9, respectivamente. Para ambas presentaciones del DP, no se observó una degradación apreciable cuando la proteína se incubó durante un mes a 25°C, lo que indica que ambos DP REGN1979 pueden exponerse a períodos cortos de tiempo a temperatura ambiente. Después de la incubación durante 28 días a 45 °C, se detectó una formación apreciable de HMW, LMW y variantes de carga. Los resultados de esta condición acelerada demostraron que la formación de HMW, LMW y variantes de carga fueron la principal vía de degradación para el vial de 2 mL y el vial de 10 mL DP.

Estabilidad al estrés: Los resultados de la estabilidad al estrés del vial de 2 mL y 10 mL de DP REGN1979 se proporcionan en las Tabla 10 y Tabla 11, respectivamente. Ambas presentaciones de DP fueron física y químicamente estables cuando se agitaron (a temperatura ambiente) durante 120 minutos o cuando se sometieron a 8 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -30°C y descongelar a temperatura ambiente). No se detectó ningún cambio apreciable en la estabilidad física o química en ninguno de los atributos controlados.

**Tabla 6: Estabilidad de investigación del medicamento REGN1979
almacenado a 5°C**

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8 (con recubrimiento de nitrógeno)								
Volumen de llenado		1,2 mL								
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West V2-F451W 4432/50 GRY B2-TR recubiertos FluroTec® de 13 mm								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,8	5,8	5,8	5,9	
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	272	NR	NR	818	NR	2632	NR	3169	
	≥10 µm	7	NR	NR	13	NR	27	NR	21	
	≥25 µm	0	NR	NR	0	NR	0	NR	4	
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	104	101	100	101	101	101	99	
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,7	NR	NR	96,4	NR	96,8	NR	96,8	
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	99,7	NR	NR	99,9	NR	99,9	NR	99,9	
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	0,6	
	% nativo	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	99,5	99,2	99,4	
	% de LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	14,0	14,4	16,3	14,1	13,6	15,8	14,3	16,1	
	% principal	39,1	37,8	35,0	35,2	34,6	34,4	36,3	35,2	
	% básico	46,9	47,8	48,6	50,7	51,8	49,8	49,4	48,8	
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	20,3	NR	NR	19,8	NR	21,1	NR	21,3	
	% principal	70,8	NR	NR	71,7	NR	69,6	NR	68,9	
	% básico	8,9	NR	NR	8,5	NR	9,3	NR	9,8	
% de potencia relativa		92	NR	NR	118	NR	108	108	77	

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 7: Estabilidad de investigación del medicamento REGN1979 almacenado a 5 °C

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8 (con recubrimiento de nitrógeno)								
Volumen de llenado		5,5 mL								
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West V10W-F597W 4432/50 GRY B2-TR recubiertos con FluroTec® de 20 mm								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,9	5,8	5,8	5,9	
Análisis de partículas mediante MFI (partículas / mL)	2-10 µm	299	NR	NR	403	NR	865	NR	3810	
	≥10 µm	9	NR	NR	7	NR	23	NR	6	
	≥25 µm	3	NR	NR	3	NR	2	NR	2	
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	105	101	100	101	101	101	98	
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,8	NR	NR	97,2	NR	97,0	NR	96,9	
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	99,5	NR	NR	99,7	NR	99,9	NR	99,9	
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	0,6	
	% nativo	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	99,5	99,2	99,4	
	% de LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	14,8	15,5	15,8	14,0	13,2	15,6	14,8	15,0	
	% principal	38,5	37,7	34,6	35,2	35,5	34,8	35,2	35,9	
	% básico						49,6	49,9	49,1	
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	21,8	NR	NR	20,5	NR	21,0	NR	20,9	
	% principal	70,2	NR	NR	70,4	NR	69,6	NR	69,3	
	% básico	8,0	NR	NR	9,2	NR	9,5	NR	9,8	
% de potencia relativa										

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 8: Estabilidad de investigación del medicamento REGN1979 - Efecto de condiciones aceleradas

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8 (con recubrimiento de nitrógeno)						
Volumen de llenado		1,2 mL						
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West V2-F451W 4432/50 GRY B2-TR recubiertos FluroTec® de 13 mm						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)				Almacenamiento a 45 °C (meses)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	3
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,8	5,8	5,8
Análisis de partículas mediante MFI(partículas/mL)	2-10 µm	272	NR	NR	643	NR	NR	996
	≥10 µm	7	NR	NR	15	NR	NR	38
	≥25 µm	0	NR	NR	0	NR	NR	5
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	104	101	100	99	105	100
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,7	NR	NR	95,1	NR	NR	93,4
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	99,7	NR	NR	99,2	NR	NR	97,3
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,9	2,6
	% nativo	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	98,8	96,8
	% de LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	14,0	15,2	18,8	23,2	27,4	37,6	TD
	% principal	39,1	37,4	30,7	26,4	23,9	17,3	TD
	% básico	46,9	47,4	50,5	50,4	48,7	45,2	TD
Análisis de variantes de carga por	% ácido	20,3	NR	NR	27,1	NR	NR	TD
	% principal	70,8	NR	NR	59,0	NR	NR	TD
	% básico	8 9	NR	NR	13 9	NR	NR	TD

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 9: Estabilidad de investigación del medicamento REGN1979 – efecto de condiciones aceleradas

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8 (con recubrimiento de nitrógeno)						
Volumen de llenado		5,5 mL						
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West V10W-F597W 4432/50 GRY B2-TR recubiertos con FluroTec® de 20 mm						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)				Almacenamiento a 45 °C (meses)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	3
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,8	5,8	5,8
Análisis de partículas mediante MFI(partículas/mL)	2-10 µm	299	NR	NR	351	NR	NR	881
	≥10 µm	9	NR	NR	11	NR	NR	21
	≥25 µm	3	NR	NR	5	NR	NR	3
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	104	101	100	99	104	100
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,8	NR	NR	95,5	NR	NR	93,6
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	99,5	NR	NR	99,9	NR	NR	97,5
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,9	2,4
	% nativo	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4	98,9	97,0
	% de LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,6
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	14,8	14,9	18,9	22,3	27,4	35,0	TD
	% principal	38,5	38,6	31,9	27,7	24,2	19,4	TD
	% básico	46,8	46,5	49,2	50,0	48,5	45,6	TD

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 10: Estabilidad de investigación del medicamento REGN1979 – efecto de las condiciones de estrés

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8 (con recubrimiento de nitrógeno)				
Volumen de llenado		1,2 mL				
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West V2-F451W 4432/50 GRY B2-TR recubiertos FluroTec® de 13 mm				
			Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		0	60	120	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,8	5,8	5,8	5,8	5,8
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	272	NR	268	NR	10 327
	≥10 µm	7	NR	29	NR	75
	≥25 µm	0	NR	21	NR	16
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	100	100	106	99
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,7	NR	96,8	NR	96,8
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	99,7	NR	99,8	NR	99,9
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,7	0,7	0,8	0,7
	% nativo	99,4	99,3	99,4	99,2	99,3
	% de LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	14,0	13,4	13,6	13,5	13,6
	% principal	39,1	35,1	35,0	35,9	35,3
	% básico	46,9	51,6	51,4	50,5	51,2
Análisis de variantes de carga por	% ácido	20,3	NR	20,9	NR	20,6
	% principal	70,8	NR	69,6	NR	69,6
	% básico	9,9	NR	10,0	NR	9,6

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución.

Tabla 11: Estabilidad de investigación del medicamento REGN1979: efecto de las condiciones de estrés

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8 (con recubrimiento de nitrógeno)				
Volumen de llenado		5,5 mL				
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West V10W-F597W 4432/50 GRY B2-TR recubiertos con FluroTec® de 20 mm				
			Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		0	60	120	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,8	5,8	5,8	5,8	5,8
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	299	NR	3742	NR	5606
	≥10 µm	9	NR	21	NR	18
	≥25 µm	3	NR	0	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	100	100	100	100
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,8	NR	97,8	NR	97,2
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	99,5	NR	99,4	NR	99,7
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
	% nativo	99,4	99,4	99,4	99,4	99,4
	% de LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	14,8	12,6	13,3	12,6	12,8
	% principal	38,5	36,7	36,1	36,7	36,4
	% básico	46,8	50,8	50,6	50,7	50,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	21,8	NR	21,0	NR	21,9
	% principal	70,2	NR	69,8	NR	68,8

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Los resultados de los estudios de estabilidad con almacenamiento, en condiciones aceleradas, y de estrés indican que REGN1979 será estable durante la fabricación (operaciones de formulación, llenado/acabado, y etiquetado) y puede soportar exposiciones breves a temperatura ambiente sin comprometer la estabilidad física o química.

Se realizaron experimentos de estabilidad adicionales para formulaciones que contenían 2 mg/mL, 20 mg/mL, 100 mg/mL y 160 mg/mL del anticuerpo biespecífico (REGN1979) con histidina 10 mM, sacarosa al 10 % p/v, polisorbato 80 al 0,1 % p/v y

pH 5,8. Los resultados se muestran en la Tabla 27, más abajo. NR = no informado; ND = demasiado degradado para ser analizado.

Tabla 12: Estabilidad en investigación de 2 mg/mL del medicamento REGN1979 (5 % de O₂ en el espacio superior) almacenado a 5 °C

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8, espacio superior 5 % de O₂								
Volumen de llenado		1,2 mL								
Envase/cierre		Viales de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West V2-F451W 4432/50 GRY B2-TR de 13 mm recubiertos con FluroTec®								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado			
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00			
pH		5,8	5,9	5,9	5,8	5,8	5,8			
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	6	NR	NR	11	NR	21			
	≥25 µm	1	NR	NR	0	NR	1			
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	146	NR	NR	847	NR	1076			
	≥10 µm	4	NR	NR	23	NR	8			
	≥25 µm	0	NR	NR	4	NR	2			
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	102	100	103	108	106			
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,2	NR	NR	97,0	NR	97,2			
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,3	NR	NR	97,9	NR	98,5			
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7			
	% nativo	99,1	99,1	99,1	99,2	99,2	99,2			
	% de LMW	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0			
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,8	13,2	13,4	12,7	13,2	14,5			
	% principal	37,3	36,7	36,4	36,3	36,4	36,9			
	% básico	49,0	50,2	50,2	50,9	50,4	48,6			
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	24,2	NR	NR	25,2	NR	27,0			
	% principal	61,7	NR	NR	59,8	NR	59,2			
	% básico	14,1	NR	NR	15,0	NR	13,8			
% de potencia relativa mediante bioensayo		131	NR	NR	103	NR	98			

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

**Tabla 13: Estabilidad en investigación de 2 mg/mL del medicamento REGN1979
(5 % de O₂ en el espacio superior) - Efecto de condiciones aceleradas**

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8, espacio superior 5 % O ₂						
Volumen de llenado		1,2 mL						
Envase/cierre		Viales de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West V2-F451W 4432/50 GRY B2-TR de 13 mm recubiertos con FluroTec®						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)				Almacenamiento a 45 °C (meses)	
Ensayo		0	1	3	6	0.5	1	3
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
pH		5,8	5,9	5,9	5,8	5,9	5,9	5,9
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	6	NR	NR	6	NR	NR	13
	≥25 µm	1	NR	NR	0	NR	NR	1
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	146	NR	NR	2354	NR	NR	522
	≥10 µm	4	NR	NR	23	NR	NR	29
	≥25 µm	0	NR	NR	10	NR	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	101	100	103	99	101	99
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,2	NR	NR	95,6	NR	NR	89,9
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,3	NR	NR	98,5	NR	NR	97,7
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,8	0,8	0,8	0,8	1,2	1,8	9,0
	% nativo	99,1	99,2	99,1	99,2	98,6	98,0	90,3
	% de LMW	0,1	0,1	0,1	0,0	0,2	0,2	0,7
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,8	12,8	14,2	22,4	27,7	38,8	TD
	% principal	37,3	36,5	36,0	27,2	26,4	14,9	TD
	% básico	49,0	50,7	49,7	50,4	45,9	46,2	TD
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	24,2	NR	NR	30,0	NR	NR	TD
	% principal	61,7	NR	NR	49,4	NR	NR	TD
	% básico	14,1	NR	NR	20,6	NR	NR	TD

CEX, intercambio catiónico; HMW, alto peso molecular; iCIEF, imagen de enfoque isoeléctrico capilar; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; HR, humedad relativa; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, TD, demasiado degradado para analizar; cromatografía líquida de ultra rendimiento

**Tabla 14: Estabilidad en investigación de 2 mg/mL de medicamento REGN1979
(5 % de O2 en el espacio superior) - Efecto de las condiciones de estrés**

Formulación		REGN1979 2 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8 (con recubrimiento de nitrógeno)				
Volumen de llenado		1,2 mL				
Envase/cierre		Viales de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West V2-F451W 4432/50 GRY B2-TR recubiertos con FluroTec® de 13 mm				
			Agitación (min)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		0	24	48	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,8	5,8	5,8	5,8	5,9
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	6	NR	2	NR	NR
	≥25 µm	1	NR	1	NR	NR
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	146	NR	165	NR	1625
	≥10 µm	4	NR	2	NR	25
	≥25 µm	0	NR	0	NR	4
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	100	100	101	101
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,2	NR	97,3	NR	97,1
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,3	NR	98,5	NR	98,5
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
	% nativo	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
	% de LMW	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,8	13,5	13,9	13,4	13,0
	% principal	37,3	37,4	37,7	35,5	36,5
	% básico	49,0	49,1	48,4	51,1	50,4
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	24,2	NR	24,0	NR	24,0
	% principal	61,7	NR	61,2	NR	61,9
	% básico	14,1	NR	14,8	NR	14,1

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 15: Estabilidad en investigación de 20 mg/mL de medicamento REGN1979 almacenado a 5°C – 4,5 mL Llenado en un vial de vidrio de 10 mL

Formulación		REGN1979 20 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0.1 % (p/v), pH 5.8								
Volumen de llenado		4,5 mL								
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos FluroTec® de 20 mm								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado			
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,8	5,8			
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	3	NR	NR	16	NR	3			
	≥25 µm	0	NR	NR	1	NR	1			
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	293	NR	NR	3253	NR	754			
	≥10 µm	3	NR	NR	10	NR	2			
	≥25 µm	0	NR	NR	2	NR	0			
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	102	99	96	96	105			
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,5	NR	NR	96,4	NR	96,9			
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,2	NR	NR	98,1	NR	98,0			
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,2	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2			
	% nativo	98,1	98,5	98,4	98,3	98,5	98,1			
	% de LMW	0,7	0,4	0,4	0,6	0,3	0,7			
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	15,1	15,3	16,6	17,8	16,8	15,8			
	% principal	33,3	33,4	29,6	32,2	30,1	30,8			
	% básico	51,6	51,3	53,8	49,9	53,2	53,3			
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	23,8	NR	NR	23,8	NR	26,2			
	% principal	61,6	NR	NR	61,6	NR	59,1			
	% básico	14,7	NR	NR	14,6	NR	14,7			
% de potencia relativa mediante bioensayo		133	NR	NR	106	NR	120			

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

**Tabla 16: Estabilidad de investigación de 20 mg/mL de medicamento REGN1979
– 4,5 mL Llenado en un vial de vidrio de 10 mL - Efecto de condiciones
aceleradas**

Formulación		REGN1979 20 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8						
Volumen de llenado		4,5 mL						
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)			Almacenamiento a 45 °C (meses)		
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	3
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,03
pH		5,8	5,9	5,9	5,8	5,9	5,9	5,8
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	3	NR	NR	4	NR	NR	28
	≥25 µm	0	NR	NR	1	NR	NR	1
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	293	NR	NR	2900	NR	NR	3645
	≥10 µm	3	NR	NR	10	NR	NR	42
	≥25 µm	0	NR	NR	0	NR	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	103	100	95	101	102	99
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,5	NR	NR	96,2	NR	NR	90,2
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,2	NR	NR	97,8	NR	NR	91,5
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,2	1,1	1,2	1,3	1,7	2,8	9,9
	% nativo	98,1	98,5	98,5	98,0	97,9	96,4	88,3
	% de LMW	0,7	0,4	0,3	0,8	0,4	0,8	1,7
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	15,1	16,2	19,8	22,5	25,8	39	TD
	% principal	33,3	32,1	26,3	27,7	20,7	13,5	TD
	% básico	51,6	51,7	53,9	49,8	53,5	47,5	TD
Análisis de variantes de carga	% ácido	23,8	NR	NR	29,3	NR	NR	TD
	% principal	61,6	NR	NR	50,6	NR	NR	TD

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 17: Estabilidad de investigación de 20 mg/mL de medicamento REGN1979 – 4,5 mL Llenado en un vial de vidrio de 10 mL – Efecto de las condiciones de estrés

Formulación		REGN1979 20 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8				
Volumen de llenado		4,5 mL				
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm				
			Agitación (min)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		0	24	48	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,8	5,8	5,9	5,9	5,9
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	3	NR	33	NR	NR
	≥25 µm	0	NR	1	NR	NR
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	293	NR	3580	NR	5563
	≥10 µm	3	NR	46	NR	15
	≥25 µm	0	NR	3	NR	3
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	99	100	98	99
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,5	NR	96,7	NR	96,8
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,2	NR	98,2	NR	98,2
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,2	1,1	1,1	1,2	1,2
	% nativo	98,1	98,3	98,4	98,3	98,4
	% de LMW	0,7	0,6	0,5	0,4	0,4
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	15,1	13,4	15,2	15,6	15,3
	% principal	33,3	32,5	30,6	33,5	33,2
	% básico	51,6	54,1	54,2	50,9	51,5
Análisis de variantes de carga por	% ácido	23,8	NR	23,7	NR	23,3
	% principal	61,6	NR	61,6	NR	62,5
	% básico	14,7	NR	14,7	NR	14,2

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 18: Estabilidad en investigación de 160 mg de medicamento REGN1979 almacenado a 5°C – 8,5 mL Llenado en un vial de vidrio de 10 mL

Formulación		REGN1979 20 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8								
Volumen de llenado		8,5 mL								
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado			
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,8	5,8			
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	1	NR	NR	4	NR	4			
	≥25 µm	0	NR	NR	0	NR	0			
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	724	NR	NR	1059	NR	690			
	≥10 µm	34	NR	NR	0	NR	2			
	≥25 µm	5	NR	NR	0	NR	2			
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	102	99	95	96	102			
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,0	NR	NR	97,0	NR	97,2			
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	97,8	NR	NR	97,0	NR	97,6			
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,2	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2			
	% nativo	98,2	98,5	98,5	98,2	98,5	98,4			
	% de LMW	0,6	0,4	0,4	0,6	0,3	0,5			
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	15,4	15,0	14,5	14,8	16,2	15,4			
	% principal	34,4	34,1	33,9	34,3	29,2	32,4			
	% básico	50,2	50,9	51,7	50,9	54,6	52,2			
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	24,0	NR	NR	29,3	NR	26,2			
	% principal	61,6	NR	NR	51,0	NR	60,0			
	% básico	14,4	NR	NR	19,7	NR	13,9			
% de potencia relativa mediante bioensayo		115	NR	NR	103	NR	119			

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

**Tabla 19: Estabilidad en investigación de 160 mg de medicamento REGN1979 –
Llenado de 8,5 mL en un vial de vidrio de 10 mL - Efecto de condiciones
aceleradas**

Formulación		REGN1979 20 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8						
Volumen de llenado		8,5 mL						
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)				Almacenamiento a 45 °C (meses)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	3
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,03
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,9	5,9	5,8
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	1	NR	NR	3	NR	NR	23
	≥25 µm	0	NR	NR	0	NR	NR	1
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	724	NR	NR	1357	NR	NR	1654
	≥10 µm	34	NR	NR	4	NR	NR	9
	≥25 µm	5	NR	NR	0	NR	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	103	99	95	100	101	99
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,0	NR	NR	96,0	NR	NR	91,5
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	97,8	NR	NR	97,9	NR	NR	93,9
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,2	1,1	1,2	1,2	1,7	2,7	10,1
	% nativo	98,2	98,6	98,5	98,2	97,9	96,5	88,2
	% de LMW	0,6	0,4	0,4	0,6	0,4	0,8	1,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	15,4	16,2	19,8	23,2	25,4	38,8	TD
	% principal	34,4	33,3	28,0	26,8	22,0	13,9	TD
	% básico	50,2	50,5	52,2	50,0	52,6	47,2	TD
Análisis de variantes de carga por	% ácido	24,0	NR	NR	24,1	NR	NR	TD
	% principal	61,6	NR	NR	61,4	NR	NR	TD
	% básico	14,4	NR	NR	14,6	NR	NR	TD

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 20: Estabilidad en investigación de 160 mg del medicamento REGN1979 – Llenado de 8,5 mL en un vial de vidrio de 10 mL - Efecto de las condiciones de estrés

Formulación		REGN1979 20 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8				
Volumen de llenado		8,5 ml				
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm				
			Agitación (min)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		0	24	48	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH		5,8	5,8	5,9	5,9	5,9
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	1	NR	13	NR	NR
	≥25 µm	0	NR	1	NR	NR
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	724	NR	1658	NR	2340
	≥10 µm	34	NR	9	NR	5
	≥25 µm	5	NR	0	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	99	103	100	99
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	97,0	NR	97,0	NR	97,0
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	97,8	NR	97,9	NR	98,1
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,2	1,1	1,1	1,2	1,2
	% nativo	98,2	98,4	98,4	98,4	98,3
	% de LMW	0,6	0,5	0,5	0,4	0,5
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	15,4	14,3	14,8	15,1	15,4
	% principal	34,4	33,8	34,0	34,5	33,9
	% básico	50,2	51,9	51,1	50,4	50,7
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	24,0	NR	25,1	NR	24,3
	% principal	61,6	NR	60,2	NR	61,8
	% básico	14,4	NR	14,7	NR	14,0

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 21: Estabilidad en investigación de 100 mg/mL de medicamento REGN1979 almacenado a 5°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8								
Volumen de llenado		2,5 mL								
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado			
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
pH		5,9	5,8	5,9	5,8	5,9	5,8			
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	4	NR	NR	59	NR	3			
	≥25 µm	1	NR	NR	1	NR	1			
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	3213	NR	NR	3524	NR	4539			
	≥10 µm	4	NR	NR	48	NR	15			
	≥25 µm	0	NR	NR	6	NR	0			
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	102	99	100	100	97			
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,3	NR	NR	96,3	NR	96,4			
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,3	NR	NR	98,4	NR	98,4			
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4	1,5			
	% nativo	98,3	98,2	98,2	98,1	98,0	98,0			
	% de LMW	0,4	0,4	0,4	0,4	0,6	0,5			
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	11,5	11,2	11,5	10,7	11,7	12,0			
	% principal	37,4	35,9	37,4	38,7	37,0	34,2			
	% básico	51,1	52,9	51,1	50,7	51,2	53,8			
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	23,8	NR	NR	23,8	NR	26,5			
	% principal	59,9	NR	NR	59,9	NR	58,6			
	% básico	16,3	NR	NR	16,3	NR	15,0			
% de potencia relativa mediante bioensayo		114	NR	NR	127	NR	102			

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

**Tabla 22: Estabilidad en investigación de 100 mg/mL del medicamento
REGN1979 - Efecto de las condiciones aceleradas**

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8						
Volumen de llenado		2,5 mL						
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)				Almacenamiento a 45 °C (meses)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	3
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,03	0,12
pH		5,9	5,8	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	4	NR	NR	18	NR	NR	11
	≥25 µm	1	NR	NR	0	NR	NR	0
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	3213	NR	NR	3524	NR	NR	3667
	≥10 µm	4	NR	NR	21	NR	NR	92
	≥25 µm	0	NR	NR	6	NR	NR	2
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	102	100	100	100	103	95
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,3	NR	NR	95,1	NR	NR	86,0
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,3	NR	NR	97,9	NR	NR	91,5
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,3	1,5	1,7	1,9	3,3	5,6	20,3
	% nativo	98,3	98,1	97,9	97,4	96,0	93,4	78,2
	% de LMW	0,4	0,4	0,4	0,8	0,7	1,0	1,5
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	11,5	11,0	12,4	21,4	25,6	33,7	TD
	% principal	37,4	35,8	36,1	27,8	24,6	16,1	TD
	% básico	51,1	53,2	51,5	50,9	49,8	50,2	TD
Análisis de variantes de carga por iCIEF	% ácido	23,8	NR	NR	29,3	NR	NR	TD
	% principal	59,9	NR	NR	48,3	NR	NR	TD
	% básico	16,3	NR	NR	22,4	NR	NR	TD

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 23: Estabilidad de investigación de 100 mg/mL de medicamento REGN1979
- Efecto de las condiciones de estrés

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8				
Volumen de llenado		2,5 mL				
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 mL con tapones West S10-F451 4432/50 GRY B2-40 recubiertos con FluroTec® de 20 mm				
			Agitación (min)		Congelación/descongelación (ciclos)	
Ensayo		0	24	48	4	8
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
pH		5,9	5,8	5,8	5,8	5,9
Análisis de partículas por HIAC (partículas/mL)	≥10 µm	4	NR	15	NR	NR
	≥25 µm	1	NR	1	NR	NR
Análisis de partículas por MFI (partículas/mL)	2-10 µm	3213	NR	202	NR	6318
	≥10 µm	4	NR	10	NR	8
	≥25 µm	0	NR	2	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	101	102	102	101
Pureza por MCE	No reducida; % de pico principal	96,3	NR	96,3	NR	96,3
	Reducida; % de la cadena pesada + ligera	98,3	NR	98,4	NR	98,4
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4
	% nativo	98,3	98,3	98,3	98,1	98,1
	% de LMW	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	11,5	12,1	12,1	11,4	11,7
	% principal	37,4	38,7	39,5	35,3	37,6
	% básico	51,1	49,2	48,5	53,3	50,7
Análisis de variantes de	% ácido	23,8	NR	23,4	NR	24,1
	% principal	59,9	NR	59,9	NR	59,8

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; iCIEF, focalización isoelectrica capilar con imágenes; LMW, bajo peso molecular; MCE, electroforesis capilar con microchip; MFI, imágenes de microflujo; NR, no requerido; OD, densidad óptica; RH, humedad relativa; RP, fase reversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

**Tabla 24: Estabilidad en investigación de 160 mg/mL de medicamento REGN1979
almacenado a 5°C**

Formulación		REGN1979 160 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8								
Volumen de llenado		1,2 mL								
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West S2 F451 4432/50 B2 40 recubiertos con FluroTec® de 13 mm								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado		
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,07	0,00		
pH		5,7	5,9	5,8	5,9	5,9	5,7	5,8		
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	99	96	98	94	94	95		
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,1	1,3	1,3	1,4	1,5	1,1	1,6		
	% nativo	98,8	98,4	98,6	98,4	98,3	98,4	98,1		
	% de LMW	0,1	0,4	0,1	0,2	0,2	0,6	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,0	12,0	13,0	12,5	13,3	13,8	12,6		
	% principal	38,0	37,2	38,6	39,7	39,7	39,1	39,2		
	% básico	50,0	50,8	48,4	47,8	47,0	47,1	48,2		

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; RP, fase reversa, SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución.

**Tabla 25: Estabilidad en investigación de 160 mg/mL de medicamento REGN1979
almacenado – Efecto de condiciones aceleradas**

Formulación		REGN1979 160 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8						
Volumen de llenado		1,2 mL						
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 2 mL con tapones West S2 F451 4432/50 B2 40 recubiertos con FluroTec® de 13 mm						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)				Almacenamiento a 45 °C (meses)	
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	3
Color y apariencia		Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado	Apro- bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,14
pH		5,8	5,9	5,9	5,9	5,8	5,9	5,9
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	98	94	97	97	99	93
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,1	1,6	1,9	2,2	3,5	5,8	20,5
	% nativo	98,8	98,1	97,6	97,4	96,0	93,4	78,0
	% de LMW	0,1	0,4	0,6	0,3	0,5	0,6	1,6
Análisis de variantes de carga por CEX-UPL	% ácido	12,0	11,8	14,8	16,6	22,5	34,5	49,6
	% principal	38,0	36,6	36,9	35,9	24,2	17,6	15,5
	% básico							

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; RP, fase reversa, SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 26: Estabilidad en investigación de 80 mg/mL de medicamento REGN1979 almacenado a 5°C

Formulación		REGN1979 80 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8								
Volumen de llenado		2,5 mL								
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 mL con tapones West S10 F451 4432/50 B2 40 recubiertos con FluroTec® de 13 mm								
		Duración del almacenamiento a 5 °C (meses)								
Ensayo		0	1	3	6	9	12	18	24	36
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado		
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
pH		5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8		
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	101	103	99	97	99	98		
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,1	1,1	1,0	1,1	1,2	1,2	1,3		
	% nativo	98,9	98,6	98,8	98,5	98,6	98,5	98,6		
	% de LMW	0,1	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2		
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,1	11,6	13,1	13,5	13,5	13,5	13,2		
	% principal	36,9	37,4	38,7	39,0	39,0	39,2	39,1		
	% básico	50,9	51,0	48,2	47,5	47,5	47,3	47,7		

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacéutica; HMW, alto peso molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; RP, fase reversa, SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Tabla 27: Estabilidad en investigación de 80 mg/mL de medicamento REGN1979 almacenado – Efecto de condiciones aceleradas

Formulación		REGN1979 80 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,8						
Volumen de llenado		2,5 mL						
Envase/cierre		Frascos de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 mL con tapones West S10 F451 4432/50 B2 recubiertos con FluroTec® de 13 mm						
			Almacenamiento a 25 °C/60 % RH (meses)			Almacenamiento a 45 °C (meses)		
Ensayo		0	1	3	6	0,5	1	3
Color y apariencia		Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro-bado	Apro - bado	Apro-bado	Apro-bado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,08
pH		5,8	5,8	5,8	5,9	5,8	5,9	5,8
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	99	103	100	101	100	98
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	1,0	1,2	1,4	1,5	2,3	3,7	14,7
	% nativo	98,9	98,4	98,3	98,1	97,3	95,5	83,5
	% de LMW	0,1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,6	1,6
Análisis de variantes de	% ácido	12,1	11,6	14,6	25,6	22,8	34,1	25,3
	% principal	36,9	36,9	37,4	27,2	24,5	17,3	19,5

CEX, intercambio catiónico; HMW, alto peso molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; RP, fase reversa, SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra resolución

Se realizaron estudios de estabilidad adicionales con varios otros excipientes con una concentración de anticuerpos biespecífico (REGN1979) de 100 mg/mL. Las diversas formulaciones (F1-F13) se muestran en la Tabla 28, más abajo. Los resultados de estos experimentos de estabilidad se muestran en las Tablas 29-41. En cada uno de estos experimentos, el envase/cierre era un vial de vidrio de borosilicato tipo 1 de 5 mL con tapón West V2-F451W 4432/50 GRY B2-TR recubierto con FluroTec®. de 20 mm

Tabla 28: Formulaciones adicionales evaluadas

Núm. de formulación	Amortiguador	Tensioactivo	Estabilizador	pH
F1	Histidina 10 mM	0,1 % PS20	ArgHCl 150 mM	6,0
F2	Histidina 10 mM	0,1 % PS20	5 % sorbitol	5,5
F3	succinato 10 mM	0,1 % PS20	NaCl 150 mM	6,0
F4	acetato 10 mM	0,1 % PS80	ArgHCl 150 mM	6,2
F5	acetato 10 mM	0,1 % poloxámero 88	5 % sorbitol	5,7
F6	Histidina 10 mM	0,1 % PS80	NaCl 150 mM	5,5
F7	Histidina 10 mM	0,1 % PS80	5 % sorbitol	6,0
F8	succinato 10 mM	0,1 % poloxámero 88	ArgHCl 150 mM	5,5
F9	succinato 10 mM	0,1 % PS20	5 % sorbitol	6,5
F10	acetato 10 mM	0,1 % poloxámero 88	NaCl 150 mM	6,2
F11	acetato 10 mM	0,1 % PS20	10 % de sacarosa	5,2
F12	Histidina 10 mM	0,1 % poloxámero 88	10 % de sacarosa	6,5
F13	succinato 10 mM	0,1 % PS80	10 % de sacarosa	6,0

Tabla 29: Estabilidad de investigación de la formulación F1 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, arginina HCl 150 mM, polisorbato 20 al 0,1 % (p/v), pH 6,0		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0.5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Suspenso
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,04	0,10
pH		6,1	6,1	6,2
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	101	NR	563
	≥10 µm	5	NR	15
	≥25 µm	0	NR	3
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	98	100
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,5	8,2	14,8
	% nativo	97,2	91,1	84,2
	% de LMW	0,3	0,7	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,1	26,0	35,8
	% principal	35,3	22,3	14,8
	% básico	52,6	51,7	49,4

Tabla 30: Estabilidad de investigación de la formulación F2 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, sorbitol al 5 %, polisorbato 20 al 0,1 % (p/v), pH 5,5		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0.5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,2
pH		5,7	5,7	5,8
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	140	NR	1685
	≥10 µm	11	NR	40
	≥25 µm	7	NR	13
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	95	99
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,4	4,5	7,4
	% nativo	97,3	94,9	91,7
	% de LMW	0,3	0,6	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,5	29,6	37,6
	% principal	34,0	17,9	12,5
	% básico	53,5	52,5	49,9

Tabla 31: Estabilidad en investigación de la formulación F3 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, succinato 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, polisorbato 20 al 0,1 % (p/v), pH 6,0		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0.5	1
Color y apariencia		Aprobado	Suspenso	Suspenso
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,06	0,15
pH		5,9	5,9	6,0
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	2256	NR	1299
	≥10 µm	167	NR	50
	≥25 µm	17	NR	15
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	96	98
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,7	8,2	13,8
	% nativo	97,1	91,9	85,3
	% de LMW	0,3	0,7	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,8	25,3	36,4
	% principal	33,5	21,9	14,2
	% básico	53,7	52,9	49,4

Tabla 32: Estabilidad en investigación de la formulación F4 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, acetato 10 mM, arginina HCl 150 mM, polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,2		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0.5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Suspenso
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,04	0,08
pH		6,1	6,1	6,3
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	48	NR	1600
	≥10 µm	11	NR	42
	≥25 µm	0	NR	7
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	98	101
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,6	7,4	13,0
	% nativo	97,1	91,9	85,9
	% de LMW	0,3	0,7	1,1
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,2	25,5	36,0
	% principal	34,2	22,9	51,6
	% básico	36,0	14,8	49,2

Tabla 33: Estabilidad en investigación de la formulación F5 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, acetato 10 mM, sorbitol al 5 %, poloxámero 188 al 0,1 % (p/v), pH 5,7		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,01
pH		5,7	5,8	5,7
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	40	NR	1798
	≥10 µm	3	NR	25
	≥25 µm	3	NR	3
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	96	99
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,5	4,3	6,6
	% nativo	97,2	95,2	92,7
	% de LMW	0,3	0,5	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,6	26,4	37,8
	% principal	32,6	22,4	12,1
	% básico	54,8	51,3	50,1

Tabla 34: Estabilidad en investigación de la formulación F6 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 5,5		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Suspensio	Suspensio
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,08	0,21
pH		5,7	5,8	5,8
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	459	NR	ND
	≥10 µm	13	NR	ND
	≥25 µm	0	NR	ND
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	96	99
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,5	4,3	16,7
	% nativo	97,1	95,0	82,4
	% de LMW	0,3	0,6	0,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,7	27,8	37,3
	% principal	32,7	20,3	12,6
	% básico	54,6	51,9	50,1

Tabla 35: Estabilidad en investigación de la formulación F7 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, sorbitol al 5 %, polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,02
pH		6,1	6,2	6,2
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	71	NR	3745
	≥10 µm	3	NR	15
	≥25 µm	3	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	96	101
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,5	3,9	6,1
	% nativo	97,1	95,6	93,1
	% de LMW	0,3	0,5	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,3	25,9	36,0
	% principal	32,6	22,9	14,1
	% básico	54,1	51,2	49,9

Tabla 36: Estabilidad en investigación de la formulación F8 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, succinato 10 mM, arginina HCl 150 mM, poloxámero 188 al 0,1 % (p/v), pH 5,5		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Suspenso	Suspenso
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,09	0,24
pH		5,5	5,5	5,5
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	171	NR	1468
	≥10 µm	3	NR	15
	≥25 µm	0	NR	7
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	93	95
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,4	3,9	28,1
	% nativo	97,3	95,3	71,0
	% de LMW	0,3	0,6	0,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,7	30,1	39,7
	% principal	32,5	17,3	10,5
	% básico	54,8	52,6	49,9

Tabla 37: Estabilidad en investigación de la formulación F9 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, succinato 10 mM, sorbitol al 5 %, polisorbato 20 al 0,1 % (p/v), pH 6,5		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,02	0,04
pH		6,3	6,3	6,4
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	272	NR	309
	≥10 µm	34	NR	19
	≥25 µm	13	NR	15
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	99	105
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	3,0	5,1	7,8
	% nativo	96,8	94,4	91,4
	% de LMW	0,3	0,6	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,4	27,9	36,7
	% principal	32,6	18,9	14,3
	% básico	54,0	53,2	49,0

Tabla 38: Estabilidad en investigación de la formulación F10 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, acetato 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, poloxámero 188 al 0,1 % (p/v), pH 6,2		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Suspenso
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,05	0,10
pH		6,2	6,2	6,3
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	132	NR	1691
	≥10 µm	11	NR	32
	≥25 µm	3	NR	3
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	97	101
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	3,0	6,9	11,0
	% nativo	96,7	92,4	88,2
	% de LMW	0,3	0,7	0,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,6	26,4	35,8
	% principal	31,8	21,0	14,4
	% básico	54,6	52,5	49,9

Tabla 39: Estabilidad en investigación de la formulación F11 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, acetato 10 mM, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 20 al 0,1 % (p/v), pH 5,2		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,09
pH		5,2	5,2	5,3
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	184	NR	1091
	≥10 µm	17	NR	5
	≥25 µm	7	NR	0
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	96	97
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,4	5,2	9,0
	% nativo	97,4	94,2	90,1
	% de LMW	0,3	0,6	0,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,4	32,6	41,9
	% principal	33,0	16,5	10,1
	% básico	53,6	50,9	48,1

Tabla 40: Estabilidad en investigación de la formulación F12 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, histidina 10 mM, sacarosa al 10 %, poloxámero 188 al 0,1 % (p/v), pH 6,5		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,03
pH		6,5	6,6	6,6
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	249	NR	1639
	≥10 µm	55	NR	50
	≥25 µm	11	NR	11
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	99	104
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,7	3,8	5,7
	% nativo	97,0	95,6	93,5
	% de LMW	0,3	0,6	0,9
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	13,1	27,4	38,0
	% principal	33,6	22,3	14,4
	% básico	53,3	50,3	47,6

Tabla 41: Estabilidad en investigación de la formulación F13 almacenada a 45°C

Formulación		REGN1979 100 mg/mL, succinato 10 mM, sacarosa al 10 %, polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0		
Volumen de llenado		2,5		
		Duración del almacenamiento a 45 °C (mes)		
Ensayo		0	0,5	1
Color y apariencia		Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (aumento de OD a 405 nm)		0,00	0,01	0,01
pH		5,9	5,9	6,0
Análisis de partículas mediante MFI (partículas/mL)	2-10 µm	73	NR	1108
	≥10 µm	15	NR	55
	≥25 µm	3	NR	9
% de proteína recuperada mediante RP-UPLC		100	96	101
Pureza por SE-UPLC	% de HMW	2,6	4,2	6,4
	% nativo	97,1	95,2	92,8
	% de LMW	0,3	0,6	0,8
Análisis de variantes de carga por CEX-UPLC	% ácido	12,8	25,9	37,8
	% principal	32,8	22,9	13,9
	% básico	54,4	51,2	48,3

Ejemplo 3: Viscosidad de las formulaciones

Las medidas de viscosidad se realizaron a 20 °C mediante el uso de un viscosímetro capilar Rheosense m-VROC (Rheosense, San Ramon, CA). Se prepararon muestras de diversas concentraciones de REGN1979 que estaban en el intervalo entre 79,9 y 184,9 mg/mL en un amortiguador de formulación que contenía histidina 10 mM y sacarosa al 5% (pH 5,8). Todas las muestras se filtraron mediante el uso de filtros centrífugos giratorios de 2 µm antes de la medición. Los resultados de las mediciones se muestran más abajo en la Tabla 42.

Tabla 42. Concentraciones de proteínas-viscosidad

Concentración de proteínas (mg/mL) de la formulación del fármaco (histidina 10 mM, pH 5,8, sacarosa al 5 %)	Viscosidad a 20°C sin reductor de viscosidad (cP)
79,9	2,8
115,7	5,4
154,8	12,1
184,9	33,0

El medicamento, que contiene una concentración específica de REGN1979, L-histidina (0,57 mg/mL), monoclóhidrato de L-histidina monohidrato (1,33 mg/mL), sacarosa (100 mg/mL), polisorbato 80 (1 mg/mL), y agua para inyección (USP), se determinó que tenía la viscosidad que se muestra en la Tabla 43, más abajo.

Tabla 43. Viscosidad del medicamento

	Concentración de REGN1979	Viscosidad (cP)
medicamento 2 mg	2 mg/mL	1,4
medicamento 80 mg y 160 mg	20 mg/mL	1,7
medicamento 200 mg	100 mg/mL	4,95

La baja viscosidad (por ejemplo, menos de 15 cP) observada en formulaciones que contienen hasta 154,8 mg/mL de anticuerpo es ventajosa para usar en jeringas precargadas o autoinyectores.

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