

REIVINDICACIONES:

1. Una composición oftálmica donde dicha composición comprende Bevacizumab en el rango de entre 24 mg/mL a 26 mg/mL, un tampón que se encuentra en el rango de entre 40mM a 60 mM, un sacárido estabilizador que se encuentra en el rango entre 40 mg/mL a 70 mg/mL y un tensioactivo no iónico que se encuentra en el rango entre 0.2mg/mL a 0.6 mg/mL,
 - a. en donde los límites del ensayo de endotoxina bacteriana (BET) están en el intervalo de 0.001 a 0.16 EU/mg;
 - b. en donde las partículas son;
 - i. 1 a 50 partículas $\geq 10\ \mu\text{m}$ de diámetro por mL,
 - ii. 0 a 5 partículas $\geq 25\ \mu\text{m}$ de diámetro por mL, y,
 - iii. 0 a 2 partículas $\geq 50\ \mu\text{m}$ de diámetro por mL; y;
 - c. en donde la composición tiene un agregado de 0.1 a 3.5% por especies de alto peso molecular (HMW) después del almacenamiento a 2.8°C, por un periodo de 2 años.
2. Un proceso para preparar la composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 1 que comprende las etapas de:
 - i. cultivar las células que expresan bevacizumab por el método de fermentación continua en células CHO;
 - ii. someter la cosecha libre de células obtenida del cultivo de células CHO a una filtración profunda basada en adsorción para una clarificación adicional;
 - iii. concentrar la muestra de la etapa (ii) mediante el uso de filtración de flujo tangencial de un solo paso para obtener la cosecha concentrada;
 - iv. someter la cosecha concentrada de la etapa (iii) a cromatografía de proteína A para capturar el bevacizumab y obtener un eluato que contiene bevacizumab parcialmente purificado;
 - v. someter el eluato de la etapa (iv) a inactivación de virus a pH bajo para obtener la muestra con inactivación viral;
 - vi. someter la muestra con inactivación viral de la etapa (v) a una cromatografía de intercambio catiónico adicional para una purificación adicional para obtener un eluato que contiene principalmente bevacizumab altamente purificado;

- vii. someter el eluato de la etapa (vi) a cromatografía de intercambio aniónico para eliminar las trazas de impurezas, por ejemplo, proteínas de células huésped (HCP), ADN de células huésped (HCD), endotoxinas;
 - viii. someter el eluato de la etapa (vii) a filtración de reducción de virus para eliminar los virus presentes;
 - ix. concentrar y diafiltrar la muestra de la etapa (viii) para obtener el bevacizumab; y;
 - x. formular la muestra obtenida de la etapa (ix) para lograr la composición de bevacizumab de la presente invención tal y como se reivindica en la reivindicación 1,
 - a. en donde los límites del ensayo de endotoxina bacteriana (BET) están en el intervalo de 0.001 a 0.16 EU/mg;
 - b. en donde las partículas son;
 - i. 1 a 50 partículas $\geq 10 \mu\text{m}$ de diámetro por mL,
 - ii. 0 a 5 partículas $\geq 25 \mu\text{m}$ de diámetro por mL, y,
 - iii. 0 a 2 partículas $\geq 50 \mu\text{m}$ de diámetro por mL; y;
3. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 2, en donde la baja inactivación de virus se lleva a cabo a un pH en el intervalo de pH 3.0 a 5.0.
 4. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 3, en donde la baja inactivación de virus se lleva a cabo a un pH en intervalo de pH 3.5 a 4.0.
 5. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 2, en donde la fase estacionaria de la cromatografía de intercambio catiónico se selecciona del grupo que comprende sulfonato, SO_3^- sulfoisobutilo, SO_3^- sulfoetilo, sulfopropilo, carboximetilo.
 6. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 5, en donde la fase estacionaria de la cromatografía de intercambio catiónico se selecciona del grupo que comprende sulfonato y la fase estacionaria de la cromatografía de intercambio aniónico se selecciona del grupo que comprende dietilaminoetilo, amina cuaternaria, policuaternio, N-bencil-N-metil etanol amina.

7. El proceso como se reivindicó en la reivindicación 6, en donde la fase estacionaria de la cromatografía de intercambio catiónico se selecciona del grupo que comprende amina cuaternaria y la diafiltración se lleva a cabo en presencia de tampón de diafiltración TFF-II.
8. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde la concentración de bevacizumab en la composición está en el intervalo de 24 mg/mL a 26 mg/mL
9. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 8, en donde la concentración de bevacizumab en la composición se encuentra en 25 mg/mL.
10. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el tampón se selecciona del grupo que comprende fosfato, citrato, acetato, histidina, succinato, gluconato, glicina, la concentración es de 40 mM a 60 mM y el pH está en el intervalo de 6.0 a 7.0
11. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde el tampón corresponde a tampón fosfato,
12. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde la concentración del tampón se encuentra en el intervalo de 50 mM a 60 mM.
13. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 10, en donde el pH está en el intervalo de 6.1 a 6.3.
14. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el estabilizador es un sacárido seleccionado de monosacárido, disacárido, trisacárido, polisacárido, alcohol de azúcar, azúcar reductor, azúcar no reductor y está en el rango de 40 mg/mL a 70 mg/mL.
15. La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 14, en donde el estabilizador es trehalosa.

- 16.** La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 14, en donde el estabilizador está en el rango de 50 mg/mL a 60 mg/mL.
- 17.** La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 1, en donde el tensioactivo se selecciona del grupo que comprende un tensioactivo no iónico, polisorbato 20 o polisorbato 80 y está en el intervalo de 0.35 mg/mL a 0.45 mg/mL.
- 18.** La composición oftálmica como se reivindicó en la reivindicación 17, en donde el tensioactivo es polisorbato 20.
- 19.** La composición oftálmica tal y como se reivindica en la reivindicación 1, que se encuentra en forma de una jeringa pre llenada de uso único.