

FORMULACIÓN DE ANTICUERPO ESTABLE QUE COMPRENDE FIANLIMAB

CAMPO

La presente descripción se refiere al campo de las formulaciones de anticuerpos terapéuticos.

- 5 Más específicamente, la presente descripción se refiere al campo de las formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente a la proteína del gen de activación de linfocitos humanos-3 (LAG-3).

LISTADO DE SECUENCIAS

Una copia oficial del listado de secuencias se presenta simultáneamente con la

- 10 memoria descriptiva a través del Centro de Patentes. El contenido de la lista de secuencias electrónicas (11396WO01_Sequence_Listing_ST26.xml; Tamaño: 12.288 bytes; y Fecha de creación: 29 de octubre de 2024) es parte de la descripción y se incorpora a la presente en su totalidad por referencia.

ANTECEDENTES

- 15 Las macromoléculas terapéuticas (por ejemplo, los anticuerpos) deben formularse de manera que no solo sean aptas para su administración a los pacientes, sino que también mantengan su estabilidad durante el almacenamiento y el uso posterior. Por ejemplo, los anticuerpos terapéuticos en solución líquida son propensos a la degradación, la agregación o las modificaciones químicas indeseadas, a menos que la solución esté formulada adecuadamente.
- 20 La estabilidad de un anticuerpo en una formulación líquida depende no solo del tipo de excipientes usados en la formulación, sino también de las cantidades y proporciones de los excipientes entre sí. Además, deben tenerse en cuenta otras consideraciones además de la estabilidad al preparar una formulación de anticuerpo líquido. Los ejemplos de tales consideraciones adicionales incluyen la viscosidad de la solución y la concentración de
- 25 anticuerpo que puede acomodarse en una formulación dada, y la calidad o atractivo visual de la formulación. Por lo tanto, al formular un anticuerpo terapéutico, se debe tener mucho cuidado

para llegar a una formulación que permanezca estable, contenga una concentración adecuada de anticuerpo y posea una viscosidad adecuada, así como otras propiedades que permitan que la formulación se administre convenientemente a los pacientes.

Los anticuerpos contra el gen 3 de activación de linfocitos humanos (LAG-3) son un ejemplo de
5 una macromolécula terapéuticamente relevante que requiere una formulación adecuada. Los anticuerpos anti-LAG-3 son clínicamente útiles para estimular o mejorar la respuesta inmunitaria y/o para tratar a un sujeto que sufre de cáncer o una infección viral crónica. Los anticuerpos anti-LAG3 ilustrativos útiles en la presente descripción incluyen, *entre otros*, LAG525 (y otros anticuerpos LAG3 descritos en U.S. 20100233183), relatlimab (y otros anticuerpos LAG3
10 descritos en U.S. 20110150892), GSK2831781 (y otros anticuerpos LAG3 descritos en U.S. 20140286935), MGD013 (y otros anticuerpos LAG3 descritos en WO2015200119) y anticuerpos LAG3 descritos en U.S. 20160222116, U.S. 20170022273, U.S. 20170097333, U.S. 20170137517, U.S. 20170267759, U.S. 20170290914, U.S. 20170334995, WO2017062888, WO2016126858, WO2016200782, WO2017087589, WO2017087901, WO2017106129,
15 WO2017149143, WO2017198741, WO2017219995, y WO2017220569.

Aunque se conocen anticuerpos anti-LAG-3, sigue existiendo una necesidad en la técnica de formulaciones farmacéuticas nuevas que comprenden anticuerpos anti-LAG-3 que son suficientemente estables y adecuados para la administración a los pacientes.

COMPENDIO

20 La presente descripción satisface la necesidad mencionada anteriormente al proporcionar formulaciones farmacéuticas estables que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente al gen de activación de linfocitos humanos 3 (LAG-3).

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable de baja viscosidad, que comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la proteína del gen de
25 activación de linfocitos humanos 3 (LAG-3); (ii) un amortiguador; (iii) un cosolvente orgánico; y (iv) un estabilizador.

En varias modalidades, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente $5 \pm 0,75$ mg/ml a aproximadamente 250 ± 45 mg/ml. En una modalidad, el anticuerpo se proporciona a una concentración de $12,5$ mg/ml $\pm 1,85$ mg/ml, o aproximadamente $12,5$ mg/ml.

En una modalidad, el anticuerpo se proporciona a una concentración de 25 mg/ml $\pm 3,75$ mg/ml,

5 o aproximadamente 25 mg/ml. En otra modalidad, el anticuerpo se proporciona a una concentración de 50 mg/ml $\pm 7,5$ mg/ml, o aproximadamente 50 mg/ml. En otra modalidad, el anticuerpo se proporciona a una concentración de 100 mg/ml ± 15 mg/ml, o aproximadamente 100 mg/ml. En una modalidad, el anticuerpo se proporciona a una concentración de 150 mg/ml $\pm 22,5$ mg/ml, o aproximadamente 150 mg/ml. En otra modalidad, el anticuerpo se proporciona

10 a una concentración de 175 mg/ml $\pm 26,25$ mg/ml, o aproximadamente 175 mg/ml. En otra modalidad, el anticuerpo se proporciona a una concentración de 200 mg/ml ± 30 mg/ml, o aproximadamente 200 mg/ml.

En determinadas modalidades, la formulación comprende cualquiera de los anticuerpos anti-LAG-3 descritos en el documento estadounidense 20170101472, incorporado en el presente documento en su totalidad. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende

15 (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada 1, 2 y 3 (HCDR1-HCDR2-HCDR3), cada una que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5,

20 respectivamente; y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera 1, 2 y 3 (LCDR1-LCDR2-LCDR3), cada una que comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8,

respectivamente. En una modalidad, el anticuerpo comprende un HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y un LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena

25 pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1. En una modalidad, el anticuerpo comprende una LCVR que tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2. En una modalidad, el anticuerpo comprende una HCVR que tiene 90 % de

5 identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1 y una LCVR que tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos que comprende los aminoácidos 1-448 de SEQ ID NO: 9. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena ligera

10 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En una modalidad, el anticuerpo comprende una cadena pesada/cadena ligera que comprende secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 9/10. En una modalidad, el anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende los aminoácidos 1-448 de SEQ ID NO: 9, y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

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

En una modalidad, el amortiguador comprende histidina. En determinadas modalidades, el amortiguador de histidina está a una concentración de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $50 \text{ mM} \pm 10 \text{ mM}$, por

20 ejemplo, de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $25 \text{ mM} \pm 5 \text{ mM}$. En una modalidad, el amortiguador de histidina tiene una concentración de $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ o aproximadamente 10 mM. En una modalidad, el amortiguador de histidina tiene una concentración de $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ o aproximadamente 20 mM. En una modalidad, el amortiguador de histidina está a una concentración de $40 \text{ nM} \pm 8 \text{ nM}$ o aproximadamente 40 nM. En determinadas modalidades, el amortiguador de histidina

25 comprende L-histidina y monoclóridato monohidrato de L-histidina. En una modalidad, la L-histidina está a una concentración de $2 \text{ mM} \pm 0,4 \text{ mM}$ a $25 \text{ mM} \pm 5 \text{ mM}$, por ejemplo, de $4 \text{ mM} \pm$

0,8 mM a 20 mM $\pm$ 4 mM. En una modalidad, el monoclorhidrato monohidrato de L-histidina está a una concentración de 2 mM $\pm$ 0,4 mM a 25 mM $\pm$ 5 mM, por ejemplo, de 4 mM $\pm$ 0,8 mM a 20 mM $\pm$ 4 mM. En una modalidad, el amortiguador comprende L-histidina a una concentración de 5,0 mM $\pm$ 1,0 mM y monoclorhidrato monohidrato de L-histidina a una concentración de 5,0 mM $\pm$ 1,0 mM. En una modalidad, el amortiguador comprende histidina a una concentración de 10 mM $\pm$ 2 mM, en donde la histidina comprende L-histidina a una concentración de 5,0 mM $\pm$ 1,0 mM y monoclorhidrato monohidrato de L-histidina a una concentración de 5,0 mM $\pm$ 1,0 mM.

En determinadas modalidades, el cosolvente orgánico es un polímero no iónico que contiene un resto de polioxietileno. En una modalidad, el solvente orgánico es un tensioactivo. En algunas modalidades, el cosolvente orgánico es uno o más de polisorbato, poloxámero 188 y polietilenglicol 3350. En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 80. En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 20. En una modalidad, el cosolvente orgánico es polietilenglicol, p. ej., PEG3350.

En una modalidad, el cosolvente orgánico está a una concentración de aproximadamente 0,01 % $\pm$ 0,005 % a aproximadamente 1 % $\pm$ 0,5 % “peso a volumen” o “p/v”, en donde p. ej., 0,1 g/ml = 10 % y 0,01 g/ml = 1 %. En determinadas modalidades, el solvente orgánico es polisorbato a una concentración de 0,05% $\pm$ 0,025% a 0,5% $\pm$ 0,25% (p/v). En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 80, que está a una concentración de 0,2 % $\pm$ 0,02 % p/v, o aproximadamente 0,2 %. En otra modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 80, que está a una concentración de 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v o aproximadamente 0,1 % p/v. En una modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 20, que está a una concentración de 0,2 % $\pm$ 0,1 % p/v, o aproximadamente 0,2 %. En otra modalidad, el cosolvente orgánico es polisorbato 20, que está a una concentración de 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v o aproximadamente 0,1 % p/v. En otra modalidad, el cosolvente orgánico es PEG3350, que está a una concentración de 1,0 % $\pm$ 0,5 % p/v o aproximadamente 1,0 % p/v.

En determinadas modalidades, el estabilizador es un azúcar. En una modalidad, el azúcar es sacarosa. En varias modalidades, el estabilizador está a una concentración de $1 \% \pm 0,2 \% \text{ p/v}$ a $20 \% \pm 4 \% \text{ p/v}$, de $5 \% \pm 1 \% \text{ p/v}$ a $15 \% \pm 3 \% \text{ p/v}$, o de $1 \% \pm 0,2 \%$ a $10 \% \pm 2 \% \text{ p/v}$. En

una modalidad, el estabilizador es sacarosa a una concentración de $5 \% \pm 1 \% \text{ p/v}$ o

aproximadamente $5 \% \text{ p/v}$. En otra modalidad, el estabilizador es sacarosa a una concentración de $9 \% \pm 1,8 \% \text{ p/v}$ o aproximadamente $9 \% \text{ p/v}$. En otra modalidad, el estabilizador es sacarosa a una concentración de $10 \% \pm 2 \% \text{ p/v}$ o aproximadamente $10 \% \text{ p/v}$.

En determinadas modalidades, el estabilizador es un aminoácido. En una modalidad, el

estabilizador es un aminoácido tal como clorhidrato de arginina o prolina. En una modalidad, el

estabilizador es clorhidrato de arginina. En determinadas modalidades, el estabilizador es

clorhidrato de arginina y está a una concentración de $1 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$. En una

modalidad, el estabilizador es clorhidrato de arginina a una concentración de $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ o

aproximadamente 20 mM . En una modalidad, el estabilizador es clorhidrato de arginina a una

concentración de $80 \text{ mM} \pm 16 \text{ mM}$ o aproximadamente 80 mM .

En determinadas modalidades, el estabilizador incluye tanto sacarosa como arginina. En otra

modalidad, el estabilizador es sacarosa a una concentración de $10 \% \pm 2 \% \text{ p/v}$ o

aproximadamente $10 \% \text{ p/v}$ y clorhidrato de arginina a una concentración de $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ o

aproximadamente 20 mM .

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (i)

de $5 \pm 0,75 \text{ mg/ml}$ a $250 \pm 37,5 \text{ mg/ml}$ de un anticuerpo humano que se une específicamente a

LAG-3 humano; (ii) amortiguador de histidina de 0 mM a $40 \pm 8 \text{ mM}$; (iii) de 0% a $0,5 \% \pm$

$0,25 \% \text{ (p/v)}$ de polisorbato 80; (iv) de 0% a $15 \% \pm 3 \% \text{ (p/v)}$ de sacarosa; y (v) de $1 \text{ mM} \pm 0,2$

mM a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a un pH de aproximadamente 5,3 a

aproximadamente 6,7; en donde el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una región variable de

cadena pesada (HCVR) y una región variable de cadena ligera (LCVR) de manera que la

combinación de HCVR / LCVR comprende regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y ligera (HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3), que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 – 4 – 5 / SEQ ID NO: 6 – 7 – 8,

respectivamente. En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una región variable

de cadena pesada (HCVR) y una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprenden una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, respectivamente. En determinadas

modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una región Fc seleccionada del grupo que consta de los isotipos humanos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En una modalidad, el anticuerpo comprende un isotipo de IgG4 humana. En una modalidad, el anticuerpo comprende una

cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En una modalidad, el anticuerpo tiene un peso molecular de 145 kDa $\pm$ 5 kDa.

En determinadas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable,

que comprende: (i) de 5 $\pm$ 0,75 mg/ml a 250 $\pm$ 37,5 mg/ml de un anticuerpo humano que se une

específicamente a LAG-3 humano; (ii) amortiguador de histidina de 0 mM a 40 $\pm$ 8 mM; (iii)

de 0 % a 0,5 % $\pm$ 0,25 % (p/v) de polisorbato 80; (iv) de 0 % a 15 % $\pm$ 3 % (p/v) de sacarosa; y

(v) de 1 mM $\pm$ 0,2 mM a 100 mM $\pm$ 20 mM de clorhidrato de arginina, a un pH de

aproximadamente 5,3 a aproximadamente 6,7; en donde el anticuerpo anti-LAG-3 comprende

una HCVR y una LCVR, en donde la HCVR tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ

ID NO: 1 y/o la LCVR tiene 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2. En una

modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende un HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y un LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 2. En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

En determinadas modalidades, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable, que comprende: (i) de $5 \pm 0,75$ mg/ml a $250 \pm 37,5$ mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a LAG-3 humano; (ii) de 0 mM a 40 ± 8 mM de amortiguador de histidina; (iii) de 0 % a $0,5 \% \pm 0,25 \%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) de 0 % a $15 \% \pm 3 \%$ (p/v) de sacarosa; y

5 (v) de $1 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a un pH de aproximadamente 5,3 a aproximadamente 6,7; en donde el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una HCVR y una LCVR, en donde la HCVR comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que tiene no más de cinco sustituciones de aminoácidos, y en donde la LCVR comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 que tiene no más de dos

10 sustituciones de aminoácidos. En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende un HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y un LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

15 10.

En determinadas modalidades, la formulación de cualquiera de los aspectos anteriores tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) la formulación es estable para el almacenamiento a largo plazo a 5°C , como se describe en la presente descripción; (ii) la formulación es estable al estrés de agitación como se describe en la presente descripción; (iii) la

20 formulación es estable incluso con una variación de hasta $\pm 50 \%$ en las concentraciones de excipientes de la formulación, como se describe en la presente descripción; (iv) la formulación es estable y compatible con los dispositivos y procedimientos de administración intravenosa; y (v) la formulación es estable para el almacenamiento a largo plazo en un vial de vidrio.

En determinadas modalidades de este aspecto, se proporciona una formulación líquida estable,

25 que comprende: (i) de $5 \pm 0,75$ mg/ml a $250 \pm 37,5$ mg/ml de un anticuerpo humano que se une

específicamente a LAG-3 humano; (ii) de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $20 \pm 4 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) de $0,05 \% \pm 0,025 \%$ a $0,3 \% \pm 0,15 \%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) de $1 \% \pm 0,2 \%$ a $15 \% \pm 3 \%$ (p/v) de sacarosa; y (v) de $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ a $30 \text{ mM} \pm 6 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a un pH de aproximadamente 6,0, en donde el anticuerpo comprende una

5 HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2.

En una modalidad de este aspecto, la formulación líquida estable comprende (i) $25 \pm 3,75$ mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) $10 \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) $0,1\% \pm 0,05\%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina; y (v) $5\% \pm 1\%$ (p/v) de sacarosa, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que

10 comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2.

En una modalidad de este aspecto, la formulación líquida estable comprende (i) $50 \pm 7,5$ mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) $10 \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) $0,1\% \pm 0,5\%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina; y (v) $10\% \pm 2\%$ (p/v) de sacarosa, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que

15 comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2. En una modalidad, más del 98 % de los anticuerpos mantuvieron la pureza tras el almacenamiento durante 12 meses a 5°C .

En una modalidad de este aspecto, la formulación líquida estable comprende (i) $50 \pm 7,5$ mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) $10 \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) $0,1\% \pm 0,5\%$ (p/v) de polisorbato 80; y (iv) $5\% \pm 1\%$ (p/v) de sacarosa, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el

20 anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2.

En una modalidad, la formulación líquida estable comprende (i) 100 ± 15 mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) $10 \pm 2 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) $0,1\% \pm 0,05\%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) de $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20$ de clorhidrato de arginina; y (v) $1\% \pm 0,2\%$

25

(p/v) de sacarosa, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2.

En una modalidad, la formulación líquida estable comprende (i) $150 \pm 22,5$ mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) amortiguador de histidina de 10 ± 2 mM; (iii) $0,1\% \pm 0,05\%$ (p/v) de

5 polisorbato 80; (iv) $1\% \pm 0,2\%$ a $10\% \pm 2\%$ (p/v) de sacarosa; y (v) de $1 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2.

10 En una modalidad de este aspecto, la formulación líquida estable comprende (i) $175 \pm 26,25$ mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) amortiguador de histidina de 10 ± 2 mM; (iii) $0,1\% \pm 0,05\%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) $1\% \pm 0,2\%$ a $10\% \pm 2\%$ (p/v) de sacarosa; y (v) $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2.

15 En una modalidad de este aspecto, la formulación líquida estable comprende (i) $200 \pm 30,00$ mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) amortiguador de histidina de 10 ± 2 mM; (iii) $0,1\% \pm 0,05\%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) $10\% \pm 2\%$ (p/v) de sacarosa; y (v) $80 \text{ mM} \pm 16 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2.

20 En una modalidad, la formulación líquida estable comprende (a) 5-250 mg/ml de un anticuerpo que se une específicamente a LAG-3, en donde el anticuerpo comprende una HCVR de SEQ ID NO: 1 y una LCVR de SEQ ID NO: 2, (b) amortiguador de histidina de $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, pH $6,0 \pm 0,3$, (c) $0,1\% \pm 0,05\%$ (p/v) de polisorbato 80, y (d) $5\% \pm 1\%$ (p/v) de sacarosa. En algunos aspectos, la formulación líquida estable comprende además $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$

25 de clorhidrato de arginina.

En una modalidad, después del almacenamiento de la formulación a 40° durante 28 días, $\geq 95\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 45\%$ del anticuerpo es de la forma de carga principal. En una modalidad, después del almacenamiento de la formulación a 25° durante tres meses, $> 98\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 52\%$ del anticuerpo es de la forma de carga principal. En una

5 modalidad, después del almacenamiento de la formulación a 5° durante 12 meses, $> 98\%$ del anticuerpo es nativo y $> 50\%$ del anticuerpo es de la forma de carga principal. En una modalidad, más del 98% de los anticuerpos tienen conformación nativa tras el almacenamiento durante 24 meses a 5 °C. En una modalidad, al menos 98% o más de los anticuerpos tienen conformación nativa después de la agitación durante 120 minutos.

10 En un aspecto, la presente descripción proporciona una formulación líquida estable que comprende: (i) hasta 100 mg/ml de un anticuerpo anti-LAG-3; (ii) de 2 mM $\pm$ 0,4 mM a 20 mM $\pm$ 4 mM de amortiguador de histidina; (iii) hasta 20 % $\pm$ 4 % (p/v) de sacarosa; y (iv) hasta 0,2% $\pm$ 0,1% (p/v) de polisorbato, a pH 6,0 $\pm$ 0,3. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 25 mg/ml de anticuerpo anti-LAG-3. En una modalidad, la formulación líquida

15 estable comprende 50 mg/ml de anticuerpo anti-LAG-3. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 75 mg/ml de anticuerpo anti-LAG-3. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende amortiguador de histidina de 10 mM $\pm$ 2 mM. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 5 % de sacarosa. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 6 % de sacarosa. En una modalidad, la formulación

20 líquida estable comprende 9 % de sacarosa. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 10 % de sacarosa. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 0,1 % de polisorbato. En una modalidad, la formulación líquida estable comprende 0,2 % de polisorbato. En una modalidad, el polisorbato es polisorbato 80 o polisorbato 20. En una modalidad, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una HCVR/LCVR de SEQ ID NO: 1/2.

25 En un aspecto, se proporciona en un contenedor una formulación farmacéutica líquida estable

de cualquiera de los aspectos anteriores. En una modalidad, el contenedor es un vial de policarbonato. En una modalidad, el contenedor es un vial de vidrio. En una modalidad, el vial es un vial de vidrio transparente de tipo 1 de 2 ml, 5 ml, 10 ml o 20 ml. En una modalidad, el vial de vidrio es un vial de vidrio de borosilicato tipo 1 con un tapón de goma de butilo recubierto de fluorocarbono. En una modalidad, el contenedor es un microinfusor. En una modalidad, el contenedor es una jeringa. En una modalidad, el contenedor es una jeringa precargada. En una modalidad, la jeringa comprende un émbolo recubierto de fluorocarbono. En determinadas modalidades, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml que contiene menos de aproximadamente 500 partes por mil millones de tungsteno, equipada con una aguja 27-G, un tapón de goma de butilo recubierto con fluorocarbono y una tapa de punta de goma no citotóxica y sin látex. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml equipada con una aguja de pared delgada 27-G, un tapón de goma 4023/50 recubierto con FLUROTEC y una tapa de punta de goma FM 27. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de plástico de 1 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml o 10 ml equipada con una aguja.

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

En determinadas modalidades, la presente descripción proporciona una jeringa precargada que comprende una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (i) de $5 \pm 0,75$ mg/ml a $250 \pm 37,5$ mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a LAG-3 humano; (ii) de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $20 \pm 4 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) de $0,05 \% \pm 0,025 \%$ a $0,3 \% \pm 0,15 \%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) de $1 \% \pm 0,2 \%$ a $15 \% \pm 3 \%$ (p/v) de sacarosa; y (v) de 0 a

100 mM $\pm$ 20 mM de clorhidrato de arginina, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2; en donde la formulación tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) $\geq$ 98 % del anticuerpo está en forma nativa después de su almacenamiento a 5 °C durante 24 meses; (ii) $\geq$ 50 % del anticuerpo es la variante de carga principal después del almacenamiento a 5 °C durante 24 meses; (iii) $\geq$ 98 % del anticuerpo está en forma nativa después de su almacenamiento a 25 °C durante 6 meses; (iv) $\geq$ 45 % del anticuerpo es la variante de carga principal después del almacenamiento a 25 °C durante 6 meses; (v) más del 90 % de los anticuerpos tienen un peso molecular de $145 \text{ kDa} \pm 1 \text{ kDa}$; (vi) más del 98 % de los anticuerpos tienen conformación nativa tras el almacenamiento durante 12 meses a 5 °C; y (vii) al menos el 97 % o más de los anticuerpos tienen conformación nativa tras el almacenamiento a 40 °C durante 28 días.

En determinadas modalidades, la presente descripción proporciona un vial de vidrio que comprende una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (i) de $5 \pm 0,75 \text{ mg/ml}$ a $250 \pm 37,5 \text{ mg/ml}$ de un anticuerpo humano que se une específicamente a LAG-3 humano; (ii) de $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ a $20 \pm 4 \text{ mM}$ de amortiguador de histidina; (iii) de $0,05 \% \pm 0,025 \%$ a $0,3 \% \pm 0,15 \%$ (p/v) de polisorbato 80; (iv) de $1 \% \pm 0,2 \%$ a $15 \% \pm 3 \%$ (p/v) de sacarosa; y (v) de 0 a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a un pH de $6,0 \pm 0,3$, en donde el anticuerpo comprende una HCVR/LCVR que comprende un par de secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1/2; en donde la formulación tiene un atributo seleccionado del grupo que consiste en: (i) la formulación es estable para el almacenamiento y el estrés en un vial de vidrio; (ii) la formulación es estable y compatible para su uso en dispositivos de administración IV; (iii) la formulación es química y físicamente estable a la dilución con diluyentes estándar conocidos en la técnica (*por ejemplo*, cloruro de sodio al 0,9 % o dextrosa al 5 %); (iv) la formulación es estable a bolsas IV hechas de vidrio o plásticos poliméricos (*p. ej.*, cloruro de polivinilo, ftalatos, poliolefinas o

polipropileno); (v) la formulación es compatible con las bombas de infusión estándar (*p. ej.*, bomba peristáltica, bomba de desplazamiento de fluidos); (vi) ≥ 90 % de los anticuerpos tienen un peso molecular de $145 \text{ kDa} \pm 1 \text{ kDa}$; (vii) más del 98 % de los anticuerpos tienen conformación nativa tras el almacenamiento durante 24 meses a 5°C ; y (viii) al menos el 97% o
5 más de los anticuerpos tienen conformación nativa tras el almacenamiento a 25°C durante 6 meses.

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

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

10 La Figura 1 muestra el efecto de la concentración de polisorbato 80 en la estabilidad de 50 mg/ml de mAb1 después de la agitación (48 horas de agitador orbital a 250 RPM).

La Figura 2 ilustra el efecto en los atributos de calidad después del almacenamiento de las catorce formulaciones del DP (50 mg/ml; 800 mg de DP) a $2-8^\circ\text{C}$ durante un período de 12 meses.

15 La Figura 3 ilustra el efecto en los atributos de calidad después del almacenamiento de las catorce formulaciones del DP (50 mg/ml; 800 mg de DP) a $25^\circ\text{C}/60$ % de HR durante un período de 6 meses.

La Figura 4 ilustra el efecto de la concentración de anticuerpo (mg/ml de proteína) sobre la viscosidad en formulaciones que comprenden 10 mM de histidina, 5 % de sacarosa, 70 mM de
20 arginina HCl y 0,1 % de PS80, a pH 6.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir los presentes métodos, debe entenderse que esta invención no se limita a los métodos y condiciones experimentales particulares descritos, ya que estos métodos y condiciones pueden variar. Además, debe entenderse que la terminología usada en la presente
25 descripción es solamente para el propósito de describir modalidades particulares, y no pretende ser limitante, dado que el alcance de la presente invención solo se limitará por las

reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Como se usa en la presente

5 descripción, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico mencionado en particular o intervalo de valores, significa que el valor puede variar del valor mencionado en no más de 1 %. Por ejemplo, como se usa en la presente descripción, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores entre ellos (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etcétera). Aunque cualquiera de los métodos y materiales similares o
10 equivalentes a los descritos en la presente descripción pueden usarse en la práctica o prueba de la presente invención, a continuación se describirán los métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en la presente descripción se incorporan como referencia en su totalidad.

Como se usa en la presente, la expresión "formulación farmacéutica" significa una combinación
15 de al menos un ingrediente activo (por ejemplo, una molécula pequeña, macromolécula, compuesto, etc. que es capaz de ejercer un efecto biológico en un ser humano o animal no humano), y al menos un ingrediente inactivo que, cuando se combina con el ingrediente activo o uno o más ingredientes inactivos adicionales, es adecuado para la administración terapéutica a un ser humano o animal no humano. El término "formulación", como se usa en la presente,
20 significa "formulación farmacéutica" a menos que se indique específicamente de cualquier otra manera. La presente descripción proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido terapéutico. Según determinadas modalidades de la presente invención, el polipéptido terapéutico es un anticuerpo, o un fragmento del mismo que se une al antígeno, el cual se une específicamente a la proteína del gen de activación de linfocitos humanos-3 (LAG-
25 3). Más específicamente, la presente descripción incluye formulaciones farmacéuticas que comprenden: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a LAG-3 humano; (ii) un

amortiguador de histidina; (iii) un cosolvente orgánico que es un tensioactivo no iónico; (iv) un estabilizador que es un carbohidrato y/o un aminoácido. A continuación se describen en detalle componentes y formulaciones específicas ilustrativos incluidos en la presente invención.

ANTICUERPOS QUE SE UNEN ESPECÍFICAMENTE AL LAG-3

5 Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender un anticuerpo humano, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une específicamente al LAG-3 humano. Como se usa en la presente descripción, el término "LAG-3" significa gen 3 de activación de linfocitos humanos. Los anticuerpos contra LAG-3 humano se describen, por ejemplo, en U.S. 20100233183, U.S. 20110150892, U.S. 20140286935, WO2015200119, U.S.
10 20160222116, U.S. 20170022273, U.S. 20170097333, U.S. 20170137517, U.S. 20170267759, U.S. 20170290914, U.S. 20170334995, WO2017062888, WO2016126858, WO2016200782, WO2017087589, WO2017087901, WO2017106129, WO2017149143, WO2017198741, WO2017219995, y WO2017220569.

El término "anticuerpo", como se usa en la presente descripción, generalmente pretende
15 referirse a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como también multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM); sin embargo, las moléculas de inmunoglobulina que consisten solo en cadenas pesadas (es decir, que carecen de cadenas ligeras) se abarcan también dentro de la definición del término "anticuerpo". Cada cadena
20 pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en la presente descripción como HCVR o V_H) 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 (que se abrevia en la presente descripción como LCVR o V_L) y una región constante de la cadena ligera. La región constante
25 de la cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes

complementarias (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L se compone de tres CDR y cuatro FR, que se disponen desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxi terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

- 5 Salvo que se indique específicamente lo contrario, el término "anticuerpo", tal como se utiliza en el presente documento, se entenderá que abarca tanto las moléculas completas de anticuerpos como los fragmentos de las mismas que se unen al antígeno. El término "porción de unión al antígeno" o "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo" o "fragmento de anticuerpo"), tal como se utiliza en el presente documento, se
- 10 refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente al LAG-3 humano o a un epítipo de este.

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

15 LAG-3 humano está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos de LAG-3 humano).

El término "se une específicamente", o similares, significa que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica puede caracterizarse por una constante de

20 disociación de al menos aproximadamente 1×10^{-8} M o mayor. Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmones superficiales, y similares. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a LAG-3 humano puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas LAG-3 de otras especies (ortólogas). En el contexto

25 de la presente descripción, multiespecie (por ejemplo, anticuerpos) biespecíficos que se unen a LAG-3 humano así como también uno o más antígenos adicionales se consideran que "se unen

específicamente" a LAG-3 humano. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular o productos químicos.

Los anticuerpos anti-LAG-3 humano ilustrativos que pueden incluirse en las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción se exponen en las publicaciones de solicitud de patentes U.S. 20170101472 y WO2017062888, cuyas divulgaciones se incorporan por referencia en su totalidad.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región determinante complementaria de cadena pesada (HCDR) 1 de SEQ ID NO: 3, una HCDR2 de SEQ ID NO: 4 y una HCDR3 de SEQ ID NO: 5. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR de SEQ ID NO: 1.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una región determinante complementaria de cadena ligera (LCDR) 1 de SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de SEQ ID NO: 7 y una LCDR3 de SEQ ID NO: 8. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR de SEQ ID NO: 2.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que tiene 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una HCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que tiene no más de 5 sustituciones de aminoácidos.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente descripción, el anticuerpo anti-LAG-3 humano, o fragmento de unión al antígeno de este, comprende una LCVR que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 que tiene no más de 2 sustituciones de aminoácidos.

- 5 La identidad de secuencia puede medirse mediante cualquier método conocido en la técnica (*p. ej.*, GAP, BESTFIT y BLAST).

La presente descripción también incluye formulaciones que comprenden anticuerpos anti-LAG-3, en donde los anticuerpos anti-LAG-3 comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos HCVR, LCVR y/o CDR divulgadas en el presente documento que tienen una o
10 más sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, la presente descripción incluye formulaciones que comprenden anticuerpos anti-LAG-3 que tienen secuencias de aminoácidos HCVR, LCVR y/o CDR con, por ejemplo, 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc., sustituciones de aminoácidos conservadoras en relación con cualquiera de las secuencias de aminoácidos HCVR, LCVR y/o CDR divulgadas en el presente documento.

- 15 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una región Fc seleccionada del grupo que consta de los isotipos humanos IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

El anticuerpo ilustrativo no limitante usado en los Ejemplos de la presente descripción se denomina “mAb1”. Este anticuerpo también se denomina en U.S. 20170101472 como H4sH15482P, y también se conoce como “REGN3767” o “Fianlimab”. mAb1 (H4sH15482P)
20 comprende un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que tiene SEQ ID NO: 1/2, y dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3 representados por SEQ ID NO: 3 – 4 – 5 / SEQ ID NO: 6 – 7 – 8.

De acuerdo con determinadas modalidades de la presente descripción, el LAG-3 antihumano, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende una cadena pesada de la SEQ ID NO: 9
25 y una cadena ligera de la SEQ ID NO: 10.

Es bien sabido en la técnica que la escisión terminal de aminoácidos puede ocurrir durante la

producción de anticuerpos (véase, por ejemplo, Wang *et al* 2007, J. Pharma. Sci. 96: 1-26). En consecuencia, en determinadas modalidades, el anticuerpo anti-LAG-3 comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9, en donde la lisina C-terminal está ausente de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9. En determinadas modalidades, las formulaciones de la presente descripción contienen aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 98 % o más del anticuerpo anti-LAG-3 en donde la lisina C-terminal está ausente.

La cantidad de anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno de este, contenido dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción pueden variar en dependencia de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como también de las circunstancias y propósitos particulares para los cuales las formulaciones se destinan a usarse. En determinadas modalidades, las formulaciones farmacéuticas son formulaciones líquidas que pueden contener $5 \pm 0,75$ mg/ml a $250 \pm 37,5$ mg/ml de anticuerpo; $10 \pm 1,5$ mg/ml a 240 ± 36 mg/ml de anticuerpo; $20 \pm 3,0$ mg/ml a $230 \pm 34,5$ mg/ml de anticuerpo; $25 \pm 3,75$ mg/ml a 240 ± 36 mg/ml de anticuerpo; $50 \pm 7,5$ mg/ml a $230 \pm 34,5$ mg/ml de anticuerpo; 60 ± 9 mg/ml a 240 ± 36 mg/ml de anticuerpo; $70 \pm 10,5$ mg/ml a $230 \pm 34,5$ mg/ml de anticuerpo; 80 ± 12 mg/ml a 220 ± 33 mg/ml de anticuerpo; $90 \pm 13,5$ mg/ml a $210 \pm 31,5$ mg/ml de anticuerpo; 100 ± 15 mg/ml a 200 ± 30 mg/ml de anticuerpo; $110 \pm 16,5$ mg/ml a $190 \pm 28,5$ mg/ml de anticuerpo; 120 ± 18 mg/ml a 180 ± 27 mg/ml de anticuerpo; $130 \pm 19,5$ mg/ml a $170 \pm 25,5$ mg/ml de anticuerpo; 140 ± 21 mg/ml a 160 ± 24 mg/ml de anticuerpo; $150 \pm 22,5$ mg/ml de anticuerpo; o $175 \pm 26,25$ mg/ml. Por ejemplo, las formulaciones de la presente descripción pueden comprender aproximadamente 5 mg/ml; aproximadamente 10 mg/ml; aproximadamente 15 mg/ml; aproximadamente 20 mg/ml; aproximadamente 25 mg/ml; aproximadamente 30 mg/ml;

- aproximadamente 35 mg/ml; aproximadamente 40 mg/ml; aproximadamente 45 mg/ml;
aproximadamente 50 mg/ml; aproximadamente 55 mg/ml; aproximadamente 60 mg/ml;
aproximadamente 65 mg/ml; aproximadamente 70 mg/ml; aproximadamente 75 mg/ml;
aproximadamente 80 mg/ml; aproximadamente 85 mg/ml; aproximadamente 90 mg/ml;
5 aproximadamente 95 mg/ml; aproximadamente 100 mg/ml; aproximadamente 105 mg/ml;
aproximadamente 110 mg/ml; aproximadamente 115 mg/ml; aproximadamente 120 mg/ml;
aproximadamente 125 mg/ml; aproximadamente 130 mg/ml; aproximadamente 135 mg/ml;
aproximadamente 140 mg/ml; aproximadamente 145 mg/ml; aproximadamente 150 mg/ml;
aproximadamente 155 mg/ml; aproximadamente 160 mg/ml; aproximadamente 165 mg/ml;
10 aproximadamente 170 mg/ml; aproximadamente 175 mg/ml; aproximadamente 180 mg/ml;
aproximadamente 185 mg/ml; aproximadamente 190 mg/ml; aproximadamente 195 mg/ml;
aproximadamente 200 mg/ml; aproximadamente 205 mg/ml; aproximadamente 210 mg/ml;
aproximadamente 215 mg/ml; aproximadamente 220 mg/ml; aproximadamente 225 mg/ml;
aproximadamente 230 mg/ml; aproximadamente 235 mg/ml; aproximadamente 240 mg/ml;
15 aproximadamente 245 mg/ml; o aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo o un fragmento
del mismo que se une al antígeno y que se une específicamente al LAG-3 humano.

EXCIPIENTES Y pH

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción comprender uno o más excipientes.

- El término “excipiente”, como se usa en la presente, significa cualquier agente no terapéutico
20 añadido a la formulación para proporcionar una consistencia, viscosidad o efecto estabilizador
deseados.

- En determinadas modalidades, la formulación farmacéutica de la invención comprende al
menos un cosolvente orgánico en un tipo y en una cantidad que estabiliza el anticuerpo LAG-3
humano en condiciones de manipulación brusca o agitación, tal como, *p. ej.*, agitación en
25 vórtex. En algunas modalidades, lo que significa “estabiliza” es la prevención de la formación de
más del 3 % de anticuerpo agregado de la cantidad total de anticuerpo (en una base molar)

durante el transcurso de la manipulación brusca. En algunas modalidades, la manipulación brusca es agitar en vórtex una solución que contiene el anticuerpo y el cosolvente orgánico durante aproximadamente 60 minutos o aproximadamente 120 minutos.

En determinadas modalidades, el cosolvente orgánico es un tensioactivo no iónico, tal como un

5 poli(óxido de etileno) alquilo. Los tensioactivos no iónicos específicos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente descripción incluyen, por ejemplo, polisorbato tales como polisorbato 20, polisorbato 28, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81 y polisorbato 85; poloxámeros tales como poloxámero 181, poloxámero 188, poloxámero 407; o polietilenglicol (PEG, p. ej., PEG3350). El polisorbato 20 también se conoce
10 como TWEEN 20, monolaurato de sorbitán y monolaurato de sorbitán de polioxietileno. El poloxámero 188 también se conoce como PLURONIC F68.

La cantidad de tensioactivo no iónico contenido dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción puede variar en dependencia de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como también de las circunstancias y propósitos particulares para los

15 cuales las formulaciones se destinan a usarse. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener aproximadamente $0,01\% \pm 0,005\%$ a $0,5\% \pm 0,25\%$ de tensioactivo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente descripción pueden comprender aproximadamente aproximadamente $0,005\%$; $0,01\%$; aproximadamente $0,02\%$; aproximadamente $0,03\%$; aproximadamente $0,04\%$; aproximadamente $0,05\%$;
20 aproximadamente $0,06\%$; aproximadamente $0,07\%$; aproximadamente $0,08\%$; aproximadamente $0,09\%$; aproximadamente $0,1\%$; aproximadamente $0,11\%$; aproximadamente $0,12\%$; aproximadamente $0,13\%$; aproximadamente $0,14\%$; aproximadamente $0,15\%$; aproximadamente $0,16\%$; aproximadamente $0,17\%$;
25 aproximadamente $0,18\%$; aproximadamente $0,19\%$; aproximadamente $0,20\%$; aproximadamente $0,21\%$; aproximadamente $0,22\%$; aproximadamente $0,23\%$; aproximadamente $0,24\%$; aproximadamente $0,25\%$; aproximadamente $0,26\%$;

aproximadamente 0,27 %; aproximadamente 0,28 %; aproximadamente 0,29 %;

aproximadamente 0,30 %; aproximadamente 0,35 %; aproximadamente 0,40 %;

aproximadamente 0,45 %; aproximadamente 0,46 %; aproximadamente 0,47 %;

aproximadamente 0,48 %; aproximadamente 0,49 %; aproximadamente 0,50 %;

- 5 aproximadamente 0,55 %; o aproximadamente 0,60 % de polisorbato 20, polisorbato 80 o PEG3350.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción también pueden comprender uno o más estabilizadores de un tipo y en una cantidad que estabilice el anticuerpo humano LAG-3 en condiciones de estrés térmico o estrés por agitación. En algunas modalidades, lo que significa

- 10 “estabiliza” es mantener más de aproximadamente 91 % del anticuerpo en una conformación nativa cuando la solución que contiene el anticuerpo y el estabilizador térmico se mantiene a aproximadamente 45°C hasta aproximadamente 28 días. En algunas modalidades, lo que significa “estabiliza” es en donde menos de aproximadamente 6 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el estabilizador térmico se mantiene a
- 15 aproximadamente 45°C hasta aproximadamente 28 días. Como se usa en la presente, “nativo” significa la forma principal del anticuerpo por exclusión por tamaño, que generalmente es un monómero intacto del anticuerpo. El término “nativo” también se refiere a la forma no agregada y no degradada del anticuerpo.

- En determinadas modalidades, el estabilizador térmico es un azúcar como la sacarosa, cuya
- 20 cantidad contenida en la formulación puede variar según las circunstancias específicas y los fines previstos para los que se utilice la formulación. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener aproximadamente entre un 1 % y un 15 % de azúcar; entre un 2 % y un 14 % de azúcar; entre un 3 % y un 13 % de azúcar; entre un 4 % y un 12 % de azúcar; entre un 5 % y un 12 % de azúcar; entre un 6 % y un 11 % de azúcar; entre un 7 % y un 10 %
- 25 de azúcar; entre un 8 % y un 11 % de azúcar; o entre un 9 % y un 11 % de azúcar. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción pueden comprender $4\% \pm 0,8\%$; 5

% $\pm$ 1 %; 6 % $\pm$ 1,2 %; 7 % $\pm$ 1,4 %; 8 % $\pm$ 1,6 %; 9 % $\pm$ 1,8 %; 10% $\pm$ 2 %; 11 % $\pm$ 2,2 %; 12 % $\pm$ 2,4 %; 13 % $\pm$ 2,6 %; aproximadamente 14 % $\pm$ 2,8% de azúcar; o aproximadamente 15 % $\pm$ 3,0 % de azúcar (*p. ej.*, sacarosa).

En determinadas modalidades, el estabilizador es un aminoácido, por ejemplo, arginina. En

5 determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener 1-20 % p/v de arginina. En determinadas modalidades, el aminoácido en la formulación también puede actuar como un reductor de la viscosidad, por ejemplo, en formulaciones de alta concentración, *p. ej.*, cuando la concentración del anticuerpo es de 100 mg/ml o más de 100 mg/ml. En algunas modalidades, cuando la concentración del anticuerpo es 175 mg/ml, el clorhidrato de arginina está presente

10 en la composición a una concentración de aproximadamente 1 mM $\pm$ 0,2 mM a aproximadamente 100 mM $\pm$ 20 mM y actúa como un reductor de la viscosidad. En algunas modalidades, la formulación farmacéutica comprende 175 mg/ml de anticuerpo anti-LAG3 y 20 mM de clorhidrato de arginina.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción también pueden comprender un

15 amortiguador o sistema amortiguador, que sirve para mantener un pH estable y para ayudar a estabilizar el anticuerpo LAG-3 humano. El término “amortiguador” como se usa en la presente descripción denota un amortiguador farmacéuticamente aceptable que mantiene un pH estable o resiste cambios en el pH de la solución. En algunos aspectos, el amortiguador comprende fosfato. En algunos aspectos, el amortiguador comprende histidina.

20 En el contexto de esta descripción, “amortiguador de histidina” o “amortiguador que comprende histidina” es un amortiguador que comprende el aminoácido histidina. Los ejemplos de amortiguadores de histidina incluyen cloruro de histidina, acetato de histidina, fosfato de histidina y sulfato de histidina. En una modalidad, el amortiguador de histidina se prepara mediante la disolución de L-histidina y clorhidrato de L-histidina (por ejemplo, como

25 monohidrato) en una cantidad y relación definidas. En una modalidad, el amortiguador de

histidina se prepara mediante la valoración de L-histidina (base libre, sólida) con ácido clorhídrico diluido. El término "histidina" se usa indistintamente con "amortiguador de histidina" en toda esta descripción. En algunas modalidades, lo que se entiende por "estabiliza" es en donde menos del $4,5 \% \pm 0,5 \%$ del anticuerpo está agregado cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 40°C durante hasta aproximadamente 28 días.

En algunas modalidades, lo que se entiende por "estabiliza" es en donde menos del $2 \% \pm 0,5 \%$ o menos del $1 \% \pm 0,5 \%$ del anticuerpo está agregado cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 40°C durante hasta aproximadamente 28 días. En algunas modalidades, lo que se entiende por "estabiliza" es en donde al menos el $97 \% \pm 0,5 \%$ o al menos el $98 \% \pm 0,5 \%$ del anticuerpo está en su conformación nativa según lo determinado por cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 40°C durante hasta aproximadamente 28 días. Por "nativo" o "conformación nativa", se entiende la fracción de anticuerpo que no está agregada ni degradada. Esto generalmente se determina mediante un ensayo que mide el tamaño relativo de la entidad del anticuerpo, tal como un ensayo cromatográfico de exclusión por tamaño. El anticuerpo no agregado y no degradado se eluye en una fracción que equivale al anticuerpo nativo, y generalmente es la fracción principal de elución. El anticuerpo agregado se eluye en una fracción que indica un tamaño mayor que el del anticuerpo nativo. El anticuerpo degradado se eluye en una fracción que indica un tamaño menor que el del anticuerpo nativo.

En algunas modalidades, lo que se entiende por "estabiliza" es en donde al menos $35 \% \pm 0,5 \%$ del anticuerpo está en su forma de carga principal según lo determinado por cromatografía de intercambio catiónico cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 40°C durante hasta aproximadamente 28 días. En algunas

modalidades, lo que se entiende por “estabiliza” es en donde al menos $46 \% \pm 0,5 \%$ del anticuerpo está en su forma de carga principal según lo determinado por cromatografía de intercambio catiónico cuando la solución que contiene el anticuerpo y el amortiguador se mantiene a aproximadamente 40°C durante hasta aproximadamente 28 días. Por “carga

principal” o “forma de carga principal”, se entiende la fracción de anticuerpo que se eluye de una resina de intercambio iónico en el pico principal, que generalmente está flanqueado por picos más “básicos” en un lado y picos más “ácidos” en el otro lado.

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

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

amortiguador de histidina comprende L-histidina monoclorhidrato monohidrato a una concentración de $5,0 \text{ mM} \pm 1,0 \text{ mM}$. En una modalidad, el amortiguador de histidina comprende L-histidina a una concentración de $5,0 \text{ mM} \pm 1,0 \text{ mM}$ y L-histidina monoclorhidrato monohidrato a una concentración de $5,0 \text{ mM} \pm 1,0 \text{ mM}$.

5 Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción también pueden comprender uno o más excipientes que sirven para mantener una viscosidad reducida o para reducir la viscosidad de las formulaciones que contienen la sustancia farmacológica de anticuerpo anti-LAG-3 (por ejemplo, 50 mg/ml de anticuerpo), y en algunos aspectos, una alta concentración de la sustancia farmacológica de anticuerpo LAG-3 (*por ejemplo*, generalmente $\geq 150 \text{ mg/ml}$ de anticuerpo). En determinadas modalidades, el estabilizador es un aminoácido. En una 10 modalidad, el aminoácido es clorhidrato de arginina. En una modalidad, la formulación farmacéutica de la presente descripción contiene clorhidrato de arginina a una concentración de 1 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM, 40 mM, 45 mM, 50 mM, 55 mM, 60 mM, 65 mM, 70 mM, 75 mM, 80 mM, 85 mM, o 90 mM. En algunas modalidades, la formulación 15 comprende clorhidrato de arginina en una cantidad suficiente para mantener la viscosidad de la formulación líquida a menos de $20 \pm 3 \text{ cPoise}$, menos de $15 \pm 2,25 \text{ cPoise}$, o menos de $11 \pm 1,65 \text{ cPoise}$. En algunas modalidades, la formulación comprende clorhidrato de arginina en una cantidad suficiente para mantener la viscosidad en o por debajo de $15 \pm 2,25 \text{ cPoise}$. En determinadas modalidades, las formulaciones pueden contener aproximadamente 1 mM a 20 aproximadamente 80 mM; aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM de clorhidrato de arginina; o aproximadamente 20 mM de clorhidrato de arginina. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción pueden comprender $1 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$, $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, $15 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$, $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$, $25 \text{ mM} \pm 5 \text{ mM}$, $30 \text{ mM} \pm 6 \text{ mM}$, $35 \text{ mM} \pm 7 \text{ mM}$, $40 \text{ mM} \pm 8 \text{ mM}$, $45 \text{ mM} \pm 9 \text{ mM}$, $50 \text{ mM} \pm 10 \text{ mM}$, $55 \text{ mM} \pm 11 \text{ mM}$, $60 \text{ mM} \pm 12 \text{ mM}$, $65 \text{ mM} \pm 13 \text{ mM}$, $70 \text{ mM} \pm 14 \text{ mM}$, $75 \text{ mM} \pm 15 \text{ mM}$, $80 \text{ mM} \pm 16 \text{ mM}$, $85 \text{ mM} \pm 17 \text{ mM}$, o $90 \text{ mM} \pm$

18 mM de clorhidrato de arginina.

Durante el proceso de purificación de anticuerpos, puede desearse o ser necesario intercambiar un amortiguador por otro para lograr concentraciones adecuadas de excipientes, concentración de anticuerpos, pH, etc. El intercambio de amortiguador puede lograrse, *p. ej.*, mediante

5 ultrafiltración/diafiltración (UF/DF) usando, *p. ej.*, 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 et al., 2011, Biotechnol. Prog. 27(1):140-152]. La acumulación de carga positiva en el lado del producto de la membrana durante la concentración de proteínas se contrarresta eléctricamente mediante el movimiento preferencial de los iones positivos hacia el

10 lado opuesto de la membrana. La consecuencia potencial de este fenómeno es que las concentraciones finales de determinados componentes (*por ejemplo*, clorhidrato de arginina, histidina, L-prolina, etc.) pueden ser menores que las concentraciones objetivo previstas de estos componentes debido a la repulsión electrostática de los excipientes amortiguadores de diafiltración con carga positiva hacia la proteína de anticuerpo con carga positiva durante el

15 paso de UF/DF. Por lo tanto, la presente descripción incluye formulaciones en las que la concentración de, *p. ej.*, histidina y/o clorhidrato de arginina varía de las cantidades o intervalos mencionados en la presente descripción debido al efecto de Gibbs-Donnan.

La exclusión de volumen describe el comportamiento de muestras altamente concentradas en las que una parte significativa del volumen total de la solución está ocupada por el soluto,

20 especialmente moléculas grandes como proteínas, excluyendo el solvente de este espacio.

Esto disminuye el volumen total de solvente disponible para que se disuelvan otros solutos, lo que puede provocar una partición desigual a través de la membrana de ultrafiltración. Por lo tanto, la presente descripción incluye formulaciones en las que la concentración de, *p. ej.*, histidina y/o clorhidrato de arginina puede variar de las cantidades o intervalos mencionados en

25 la presente descripción debido al efecto de exclusión de volumen.

Durante la fabricación de las formulaciones de la presente descripción, pueden producirse

variaciones en la composición de la formulación. Estas variaciones pueden incluir la concentración del principio activo, la concentración de los excipientes y/o el pH de la formulación. Dado que los cambios en cualquiera de estos parámetros podrían afectar potencialmente la estabilidad o potencia del medicamento, se realizaron estudios de rango aceptable comprobado (PAR) para evaluar si las variaciones en la composición, dentro de los rangos definidos, afectarían la estabilidad o potencia del anticuerpo. En consecuencia, la presente descripción incluye formulaciones que comprenden anticuerpos anti-LAG-3 que son estables y retienen potencia con hasta un 50 % de variación en la concentración de excipientes. Por ejemplo, en la presente descripción se incluyen formulaciones de anticuerpos anti-LAG-3, en donde la estabilidad y potencia de dichas formulaciones no se ve afectada por una variación de $\pm 10\%$, $\pm 20\%$, $\pm 30\%$, $\pm 40\%$ o $\pm 50\%$ en la concentración de anticuerpo, sacarosa, amortiguador de histidina y/o polisorbato.

ESTABILIDAD Y VISCOSIDAD DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

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

La estabilidad se puede medir, entre otras cosas, determinando el porcentaje de anticuerpo nativo que permanece en la formulación después de almacenarla durante un tiempo

determinado a una temperatura definida. El porcentaje de anticuerpos nativos se puede determinar, entre otros métodos, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de ultra alto rendimiento con exclusión por tamaño [SE-UPLC]), de modo que nativo significa no agregado y no degradado. Un "grado aceptable de estabilidad", como se

5 usa en la presente descripción, significa que al menos 90 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. En determinadas modalidades, al menos

aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento

10 durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura definida. La cantidad de tiempo definida después de la cual se mide la estabilidad puede ser al menos 14 días, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o

15 más. La temperatura definida a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica al evaluar la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, *por ejemplo*, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4 °C-8°C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 35 °C,

20 aproximadamente 37 °C o aproximadamente 45 °C. Por, ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta por SE-UPLC más de aproximadamente 95 %, 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta por SE-UPLC más de aproximadamente 95 %, 96 %, 97 %

25 o 98 % de anticuerpo nativo. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 40 °C, se detecta por SE-UPLC más de

aproximadamente 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, o 98 % de anticuerpo nativo. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a -20 °C, se detecta por SE-UPLC más de aproximadamente 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo. Una formulación farmacéutica

- 5 también puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a -30 °C, se detecta por SE-UPLC más de aproximadamente 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 12 meses de almacenamiento a -80 °C, se detecta por SE-UPLC más de aproximadamente 96 %, 97 % o 98 % de anticuerpo nativo.
- 10 La estabilidad se puede medir, entre otras cosas, determinando el porcentaje de anticuerpo que se forma en un agregado dentro de la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura definida, en donde la estabilidad es inversamente proporcional al por ciento de agregado que se forma. El porcentaje de anticuerpo agregado puede determinarse por, *entre otros*, cromatografía de exclusión por tamaño (*por*
- 15 *ejemplo*, cromatografía líquida de ultra rendimiento con exclusión por tamaño [SE-UPLC]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esa frase en la presente descripción, significa que a lo máximo el 5 % del anticuerpo está en forma agregada (también denominada forma de alto peso molecular ("HMW")) detectada en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. En determinadas modalidades, un
- 20 grado aceptable de estabilidad significa que a lo máximo aproximadamente 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en un agregado en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. La cantidad de tiempo definida después de la cual se mide la estabilidad puede ser al menos 2
- 25 semanas, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al

menos 24 meses o más. La temperatura a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica al evaluar la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, *por ejemplo*, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4 °C-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 12 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta menos de aproximadamente 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo en forma agregada. Una formulación farmacéutica puede también considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a 25 °C, se detecta menos de aproximadamente 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si, después de 28 días de almacenamiento a 45 °C, se detecta menos del 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % o 0,5 % del anticuerpo en forma agregada. Una formulación farmacéutica puede también considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -20 °C, -30 °C, o -80 °C, se detecta menos de aproximadamente 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo en forma agregada.

La estabilidad puede medirse, entre otros, al determinar el porcentaje de anticuerpo que migra en una fracción más ácida durante el intercambio iónico ("forma ácida") que en la fracción principal de anticuerpo ("forma de carga principal"), en donde la estabilidad es inversamente proporcional a la fracción de anticuerpo en la forma ácida. Aunque no se desea limitarse a la teoría, la desamidación del anticuerpo puede hacer que el anticuerpo se vuelva más cargado negativamente y, por lo tanto, más ácido con relación al anticuerpo no desamidado (véase, *por ejemplo*, Robinson, N., Protein Deamidation, *PNAS*, 16 de abril de 2002, 99(8):5283-5288). El porcentaje de anticuerpo "acidificado" puede determinarse, entre otros, mediante cromatografía de intercambio iónico (por ejemplo, cromatografía líquida de intercambio catiónico de ultra rendimiento [CEX-UPLC]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esa frase en la

presente descripción, significa que a lo máximo el 45 % del anticuerpo está en una forma más ácida detectada en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura definida. En determinadas modalidades, un grado aceptable de estabilidad significa que a lo máximo aproximadamente 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en una forma ácida en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. En una modalidad, un grado aceptable de estabilidad significa que menos del 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en una forma ácida en la formulación después del almacenamiento durante una cantidad de tiempo definida a una temperatura dada. La cantidad de tiempo definida después de la cual se mide la estabilidad puede ser al menos 2 semanas, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica al evaluar la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, *por ejemplo*, almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4 °C-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 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 seis meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente 32 %, 31 %, 30 %, 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 % o 0,1 % del anticuerpo está en una forma más ácida.

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

Pueden usarse otros métodos para evaluar la estabilidad de las formulaciones de la presente descripción tales como, por ejemplo, calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar 15 la estabilidad térmica, agitación controlada para determinar la estabilidad mecánica, y absorbancia a aproximadamente 350 nm o aproximadamente 405 nm para determinar las turbideces de la solución. Por ejemplo, una formulación de la presente descripción puede considerarse estable si, después de 6 o más meses de almacenamiento a aproximadamente 5 20 °C a aproximadamente 25 °C, el cambio en OD405 de la formulación es menos de aproximadamente 0,05 (por ejemplo, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01 o menos) del OD405 de la formulación en el tiempo cero.

Medir la actividad biológica o afinidad de unión del anticuerpo a su objetivo también puede usarse para evaluar la estabilidad. Por ejemplo, una formulación de la presente descripción 25 puede considerarse estable si, después de almacenarla, por ejemplo, a 5 °C, 25 °C, 45 °C, etc., durante un período de tiempo definido (por ejemplo, de 1 a 12 meses), el anticuerpo anti-LAG-3

contenido en la formulación se une a LAG-3 con una afinidad que es al menos del 90 %, 95 % o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento. La afinidad de unión puede determinarse, por ejemplo, mediante ELISA o resonancia de plasmones superficiales. La actividad biológica puede determinarse mediante un ensayo de actividad de LAG-3, tal como

5 *por ejemplo*, poner en contacto una célula que expresa LAG-3 con la formulación que comprende el anticuerpo anti-LAG-3. La unión del anticuerpo a tal célula puede medirse directamente, tal como *por ejemplo*, mediante análisis de FACS. Alternativamente, la actividad posterior del sistema LAG-3 puede medirse en presencia del anticuerpo, y compararse con la actividad del sistema LAG-3 en ausencia de anticuerpo. En algunas modalidades, el LAG-3
10 puede ser endógeno a la célula. En otras modalidades, el LAG-3 puede expresarse ectópicamente en la célula.

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

Las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente descripción pueden, en determinadas
15 modalidades, presentar niveles de viscosidad de bajos a moderados. La "viscosidad" como se usa en la presente descripción puede ser "viscosidad cinemática" o "viscosidad absoluta". La "viscosidad cinemática" es una medida del flujo resistivo de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos de volumen igual se colocan en viscosímetros capilares idénticos y se dejan fluir por gravedad, un fluido viscoso tarda más que un fluido menos viscoso en fluir a
20 través del capilar. Por ejemplo, si un fluido tarda 200 segundos en completar su flujo y otro fluido tarda 400 segundos, el segundo fluido es dos veces más viscoso que el primero en una escala de viscosidad cinemática. La "viscosidad absoluta", a veces llamada viscosidad dinámica o simple, es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido (viscosidad absoluta = viscosidad cinemática x densidad). La dimensión de la viscosidad cinemática es L^2/T
25 donde L es una longitud y T es un tiempo. Comúnmente, la viscosidad cinemática se expresa en centistokes (cSt). La unidad SI de la viscosidad cinemática es mm^2/s , que es 1 cSt. La

viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad SI de viscosidad absoluta es el milipascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s.

Como se usa en la presente descripción, un nivel bajo de viscosidad, en referencia a una formulación fluida de la presente descripción, exhibirá una viscosidad absoluta de menos de

5 aproximadamente 20 cPoise (cP). Por ejemplo, se considerará que una formulación fluida de la invención tiene "baja viscosidad" si, al medirla utilizando técnicas estándar de medición de viscosidad, la formulación presenta una viscosidad absoluta de aproximadamente 20 cP, aproximadamente 19 cP, aproximadamente 18 cP, aproximadamente 15 cP, aproximadamente 12 cP, aproximadamente 10 cP, aproximadamente 9 cP, aproximadamente 8 cP o menos.

10 Como se usa en la presente, un nivel moderado de viscosidad, en referencia a una formulación líquida de la presente descripción, exhibirá una viscosidad absoluta de entre aproximadamente 35 cP y aproximadamente 20 cP. Por ejemplo, se considerará que una formulación fluida de la invención tiene "viscosidad moderada" si, al medirla utilizando técnicas estándar de medición de viscosidad, la formulación presenta una viscosidad absoluta de aproximadamente 34 cP, 15 aproximadamente 33 cP, aproximadamente 32 cP, aproximadamente 31 cP, aproximadamente 30 cP, aproximadamente 29 cP, aproximadamente 28 cP, aproximadamente 27 cP, aproximadamente 26 cP, aproximadamente 25 cP, aproximadamente 24 cP, aproximadamente 23 cP, aproximadamente 22 cP, aproximadamente 21 cP, aproximadamente 20 cP, aproximadamente 19 cP, 18 cP, aproximadamente 17 cP, aproximadamente 16 cP o 20 aproximadamente 15 cP.

Como se ilustra en los ejemplos a continuación, los presentes inventores han hecho el descubrimiento sorprendente de que las formulaciones líquidas estables que comprenden altas concentraciones de un anticuerpo anti-LAG-3 humano (*por ejemplo*, de aproximadamente 50 mg/ml hasta 250 mg/ml) pueden obtenerse mediante la formulación del anticuerpo con 25 clorhidrato de arginina de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM y sacarosa a aproximadamente 5 % o aproximadamente 10 %. Tales formulaciones son estables al estrés

durante el manejo y al almacenamiento a temperaturas que varían de 5 °C a 45 °C (mostradas en la presente descripción).

FORMULACIONES EJEMPLARES

De acuerdo con un aspecto de la presente descripción, la formulación farmacéutica es una formulación líquida estable, generalmente fisiológicamente isotónica, que comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a LAG-3 humano (*por ejemplo*, REGN3767), a una concentración de hasta 250 mg/ml $\pm$ 45 mg/ml; (ii) un sistema amortiguador de histidina que proporciona amortiguación suficiente a aproximadamente pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) un cosolvente orgánico, que protege la integridad estructural del anticuerpo; (iv) un estabilizador térmico que es un azúcar; y, opcionalmente, (v) un aminoácido, que sirve para conservar la estabilidad y mantener la viscosidad manejable para la inyección en un volumen conveniente, p. ej., en una formulación de alta concentración adecuada para la administración subcutánea.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica estable comprende: (i) un anticuerpo IgG4 humano que se une específicamente a LAG-3 humano, y que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 3, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 4, una HCDR3 de la SEQ ID NO: 5, una LCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8, a una concentración de hasta 250 mg/ml $\pm$ 45 mg/ml; (ii) amortiguador de histidina a 10 mM $\pm$ 2 mM, que amortigua a pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) polisorbato 80 al 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v a 0,2 % p/v $\pm$ 0,1 % p/v; (iv) sacarosa al 5 % $\pm$ 1 % p/v a 10 % $\pm$ 2 % p/v; y (v) de 1 mM $\pm$ 0,2 mM a 100 mM $\pm$ 20 mM de clorhidrato de arginina.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica estable comprende: (i) un anticuerpo IgG4 humano que se une específicamente a LAG-3 humano, y que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 3, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 4, una HCDR3 de la SEQ ID NO: 5, una LCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8, a una concentración de 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml; (ii) amortiguador de histidina a 10 mM

± 2 mM, que amortigua a pH $6,0 \pm 0,3$; (iii) polisorbato 80 al $0,1 \% \text{ p/v} \pm 0,05 \% \text{ p/v}$; (iv) sacarosa al $10 \% \pm 2 \% \text{ p/v}$; y (v) de $1 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica estable comprende: (i) un

5 anticuerpo IgG4 humano que se une específicamente a LAG-3 humano, y que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 3, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 4, una HCDR3 de la SEQ ID NO: 5, una LCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8, a una concentración de $150 \text{ mg/ml} \pm 22,5 \text{ mg/ml}$; (ii) amortiguador de histidina a $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, que mantiene un pH de $6,0 \pm 0,3$; (iii) polisorbato 80 al $0,1 \% \text{ p/v} \pm 0,05 \% \text{ p/v}$; (iv) 10 sacarosa al $10 \% \pm 2 \% \text{ p/v}$; y (v) de $1 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica estable comprende: (i) un

anticuerpo IgG4 humano que se une específicamente a LAG-3 humano, y que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 3, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 4, una HCDR3 de la SEQ ID NO: 5, 15 una LCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8, a una concentración de $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$; (ii) amortiguador de histidina a $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, que mantiene un pH de $6,0 \pm 0,3$; (iii) sacarosa al $10 \% \text{ p/v} \pm 2 \% \text{ p/v}$; (iv) polisorbato 80 al $0,1 \% \text{ p/v} \pm 0,05 \%$; y (v) de $1 \text{ mM} \pm 0,2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica estable comprende: (i) un

20 anticuerpo IgG4 humano que se une específicamente a LAG-3 humano, y que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 3, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 4, una HCDR3 de la SEQ ID NO: 5, una LCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8, a una concentración de $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$; (ii) amortiguador de histidina a $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$, que mantiene un pH de $6,0 \pm 0,3$; (iii) sacarosa al $10 \% \text{ p/v} \pm 2 \% \text{ p/v}$; (iv) polisorbato 25 80 al $0,1 \% \text{ p/v} \pm 0,05 \%$; y (v) $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina.

De acuerdo con una modalidad, la formulación farmacéutica estable comprende: (i) un anticuerpo IgG4 humano que se une específicamente a LAG-3 humano, y que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 3, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 4, una HCDR3 de la SEQ ID NO: 5, una LCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8, a una concentración de 25 mg/ml $\pm$ 3,75 mg/ml; (ii) amortiguador de histidina a 10 mM M $\pm$ 2 mM, que mantiene un pH de 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa al 10 % p/v $\pm$ 2 % p/v; (iv) polisorbato 80 al 0,1 % p/v $\pm$ 0,05 %; y (v) 20 mM $\pm$ 4 mM de clorhidrato de arginina.

Ejemplos adicionales no limitantes de farmacéutico formulaciones abarcadas por la presente descripción se exponen en otra parte en la presente descripción, lo que incluye los Ejemplos de trabajo presentados más abajo.

CONTENEDORES Y MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción puede contenerse dentro de cualquier contenedor adecuado para el almacenamiento de medicamentos y otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden contenerse dentro de un contenedor de plástico o vidrio sellado y esterilizado que tiene un volumen definido tal como un frasco, ampolla, jeringa, cartucho, botella. Diferentes tipos de viales pueden usarse para contener las formulaciones de la presente descripción que incluye, por ejemplo, translúcido y opaco (por ejemplo, ámbar) o frascos de vidrio o plástico. Igualmente, cualquier tipo de jeringa puede usarse para contener o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción puede contenerse dentro de jeringas de "tungsteno normal" o jeringas de "bajo tungsteno". Como apreciarán los expertos en la técnica, el proceso de fabricación de jeringas de vidrio implica generalmente el uso de una barra de tungsteno caliente que funciona para perforar el vidrio de esta manera creando un agujero a partir del cual los líquidos pueden aspirarse y expulsarse de la jeringa. Este proceso da como resultado la deposición de cantidades traza de tungsteno en la superficie interna 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 "tungsteno normal" significa que la jeringa contiene más de o igual a 500 partes por mil millones (ppb) de tungsteno. El término "bajo tungsteno" significa que la jeringa contiene menos de 500 ppb de tungsteno. Por ejemplo, una jeringa de tungsteno bajo, de acuerdo con la presente descripción, 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.

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

Las formulaciones farmacéuticas se pueden administrar a un paciente por vías parenterales tales como inyección (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o administración percutánea, mucosa, nasal, pulmonar u oral. Numerosos dispositivos de suministro de pluma o autoinyector reutilizables pueden usarse para suministrar por vía

5 subcutánea las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, Reino Unido), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, y OPTICLIK™ (Aanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania). Los ejemplos de dispositivos de suministro tipo pluma o autoinyector desechables que tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, la pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), la

10 FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y la KWIKPEN™ (Eli Lilly), la SURECLICK™ Autoinyector (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.) y el HUMIRA™ Pluma (Abbott Labs, Abbott Park IL).

El uso de un microinfusor para administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción también se contempla en el presente documento. Como se usa en la presente

20 descripción, el término “microinfusor” significa un dispositivo de administración subcutánea diseñado para administrar lentamente grandes volúmenes (*p. ej.*, hasta aproximadamente 2,5 ml o más) de una formulación terapéutica durante un período prolongado de tiempo (*p. ej.*, aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30 o más minutos). Véase, *p. ej.*, U.S. 6.629.949; US 6.659.982; y Meehan y otros, *J. Controlled Release* 46:107-116 (1996). Los microinfusores son

25 particularmente útiles para la administración de grandes dosis de proteínas terapéuticas contenidas en soluciones de alta concentración (*p. ej.*, aproximadamente 100, 125, 150, 175,

200 o más mg/ml) o viscosas.

En determinadas modalidades, la formulación farmacéutica líquida estable de cualquiera de los aspectos anteriores está contenida en un vial de vidrio estéril y se administra como una infusión IV.

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

- En una modalidad, la formulación farmacéutica líquida de la presente descripción que comprende aproximadamente 25 mg/ml o 50 mg/ml de mAb1 se administra por vía intravenosa y puede estar contenida en un vial de vidrio. En algunos aspectos, el vial de vidrio contiene 400 mg de mAb1. En algunos aspectos, el vial de vidrio contiene 800 mg de mAb1.

En una modalidad, la formulación farmacéutica líquida de la presente descripción que comprende aproximadamente 100 mg/ml de mAb1 se administra por vía subcutánea y puede estar contenida en un vial de vidrio.

- 15 En determinadas modalidades, la presente descripción proporciona un autoinyector que comprende cualquiera de las formulaciones líquidas descritas en la presente descripción. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un autoinyector que comprende una formulación líquida estable que comprende aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml o aproximadamente 175 mg/ml de mAb1,
- 20 aproximadamente 10 mM de histidina, a pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 5 % de sacarosa o aproximadamente 10 % de sacarosa, aproximadamente 20 mM de clorhidrato de arginina y aproximadamente 0,1 % de polisorbato 80 o aproximadamente 0,2 % de polisorbato 80. En algunos aspectos, el autoinyector contiene 400 mg de mAb1. En algunos aspectos, el autoinyector contiene 800 mg de mAb1. En algunos aspectos, el autoinyector contiene 1600 mg
- 25 de mAb1.

En determinadas modalidades, la presente descripción proporciona una jeringa precargada que

comprende cualquiera de las formulaciones líquidas descritas en la presente descripción. En algunas modalidades, la presente descripción proporciona una jeringa precargada que comprende una formulación líquida estable que comprende aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml o aproximadamente 175 mg/ml de mAb1, aproximadamente 10 mM de histidina, a pH de aproximadamente 6,0, aproximadamente 5 % de sacarosa o aproximadamente 10 % de sacarosa, aproximadamente 20 mM de clorhidrato de arginina y aproximadamente 0,1 % de polisorbato 80 o aproximadamente 0,2 % de polisorbato 80. En determinadas modalidades, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml llena de una aguja de pared delgada de calibre 27, un émbolo de goma recubierto de fluorocarbono y un protector de aguja de goma. En algunos aspectos, la jeringa precargada contiene 400 mg de mAb1. En algunos aspectos, la jeringa precargada contiene 800 mg de mAb1. En algunos aspectos, el autoinyector contiene 1600 mg de mAb1.

En una modalidad, la formulación farmacéutica líquida que contiene aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de mAb1 se administra en un volumen de aproximadamente hasta 2 ml en una jeringa precargada. En determinadas modalidades, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml llena de una aguja de pared delgada de calibre 27, un émbolo de goma recubierto de fluorocarbono y un protector de aguja de goma. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga OMPI de 1 ml equipada con una aguja de calibre 27, un protector de aguja de goma FM27 y un émbolo de goma 4023/50 recubierto con FLUROTEC®.

En una modalidad, la formulación farmacéutica líquida que contiene aproximadamente 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de anticuerpo anti-LAG-3 se administra en un volumen de aproximadamente hasta 2 ml en una jeringa precargada. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga de 1 ml o 2,25 ml llena con una aguja de pared delgada de calibre 27, un émbolo de goma recubierto de fluorocarbono y un protector de aguja de goma. En una modalidad, la jeringa es una jeringa de vidrio larga OMPI de 1 ml equipada con una aguja de calibre 27, un protector de

aguja de goma FM27 y un émbolo de goma 4023/50 recubierto con FLUROTEC®.

USOS TERAPÉUTICOS DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación son útiles, entre otras cosas, para el tratamiento, la prevención o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de LAG-3, incluidas las enfermedades o trastornos mediados por LAG-3. Las enfermedades y trastornos ilustrativos, no limitantes, que pueden tratarse o prevenirse mediante la administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción incluyen infecciones virales, enfermedades autoinmunitarias y diversos tipos de cáncer tales como *p. ej.*, cáncer de cerebro, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de piel, diversos tipos de cáncer de sangre y cáncer de endometrio.

EJEMPLOS

Los ejemplos siguientes se presentan para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción completa de cómo realizar y usar los métodos y composiciones de la invención, y no están destinados a limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención.

Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. Salvo que se indique lo contrario, las partes se expresan en moles, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura se expresa en grados centígrados y la presión es igual o cercana a la presión atmosférica.

Ejemplo 1: Desarrollo de una formulación de anticuerpo anti-LAG-3

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

- Una formulación líquida con una concentración del anticuerpo anti-LAG-3 suficiente para administrar una dosis de 50 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg o más;
- Una formulación casi isoosmolar que es estable tras la dilución con diluyentes utilizados comúnmente, *p. ej.*, inyección de cloruro de sodio al 0,9 % o inyección de dextrosa al 5

%, para infusión intravenosa;

- Una formulación que es compatible con y estable en un frasco de vidrio transparente de tipo 1 y un tapón de suero estándar como empaque; y
- Una solución de medicamento (drug product, DP) estéril que respalda la estabilidad a largo plazo.

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

Durante todo el desarrollo de la formulación, se emplearon tres condiciones principales de estrés de proteínas (que representan condiciones extremas de manipulación más allá de las cuales el medicamento de anticuerpo no se sometería durante la manipulación, fabricación, envío, almacenamiento y etiquetado) para desarrollar y optimizar las formulaciones de anticuerpos y evaluar los efectos de los posibles estreses del mundo real en la estabilidad del medicamento. Estas condiciones de estrés incluyeron:

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

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

Anticuerpos anti-LAG-3:

- Los anticuerpos anti-LAG-3 se describen en la patente de EE. UU. 10.358.495, incorporada en la presente descripción en su totalidad. El anticuerpo ejemplar usado en los ejemplos a continuación es un anticuerpo anti-LAG-3 completamente humano conocido como “REGN3767” o “Fianlimab”, que comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada (HCDR) dentro de la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (HCVR) de la SEQ ID NO: 1 y las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera (LCDR) dentro de la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera (LCVR) de la SEQ ID NO: 2; o un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR que comprende las SEQ ID NO: 1/2; o secuencias de CDR de cadena pesada y ligera que comprenden las SEQ ID NO: 3–8; o las CDR de cadena pesada dentro de una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO: 9 y las CDR de cadena ligera dentro de una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de la SEQ ID NO: 10; o una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO: 9 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de la SEQ ID NO: 10; y en lo sucesivo denominada “mAb1”. El anticuerpo posee un peso molecular aproximado de 145 kDa y la cadena pesada posee una región constante de isotipo IgG4.
- El mAb1 se evaluó para la administración intravenosa (IV) y subcutánea (SC) en un primer estudio en humanos. Inicialmente, se desarrolló una única formulación liofilizada de doble uso, de manera que el producto farmacológico (DP) liofilizado de mAb1 puede reconstituirse con agua estéril para inyección hasta una concentración de 50 mg/ml de mAb1 para infusión IV o 100 mg/ml de mAb1 para inyección SC.
- Las actividades de desarrollo de la formulación incluyeron la evaluación de amortiguadores, pH, cosolventes orgánicos, tensioactivos y sacarosa (como estabilizador térmico) para identificar

excipientes que mejoran la estabilidad de las proteínas. En la fase temprana del desarrollo de la formulación, se realizó el cribado de amortiguadores y pH. Se probaron tres amortiguadores:

acetato (pH 4,5–5,5), histidina (pH 5,5–6,5) y fosfato (pH 6,0–7,0). La histidina 10 mM a pH 6,0 mostró una estabilidad óptima en condiciones aceleradas y se eligió para continuar. Se

5 probaron tres tensioactivos/cosolventes: polisorbato 20, polisorbato 80 y PEG3350. Se seleccionó PS80 para la formulación. Los resultados generados a partir de estos estudios se utilizaron para desarrollar una formulación liofilizada estable, que contenía 50 mg/ml de mAb1, 10 mM de histidina, pH 6,0, 5 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % (p/v) de polisorbato 80, que era adecuada para la reconstitución a la forma líquida antes del uso clínico.

10 Para el desarrollo clínico en etapas posteriores, se realizaron estudios de desarrollo de la formulación para desarrollar una formulación líquida de DP de mAb1. La información obtenida durante el desarrollo de la formulación en fase temprana fue la base para determinar el amortiguador y el pH en la formulación en fase tardía.

Amortiguador y pH

15 El efecto del amortiguador y el pH en la estabilidad térmica se examinó en formulaciones líquidas mediante la incubación de una formulación de mAb1 de 25 mg/ml a 45 °C durante 28 días en una serie de sistemas amortiguadores en rangos de pH variables (Tabla 1). El amortiguador de L-histidina a 10 mM y pH 6,0 se seleccionó como amortiguador de formulación porque proporcionó el mejor nivel general de estabilización de proteínas con respecto a la

20 formación de especies de bajo peso molecular (LMW) y alto peso molecular (HMW) y la formación de variantes de carga.

Tabla 1: Efecto del pH en la estabilidad de 25 mg/ml de mAb1 incubado a 45 °C durante 14 días

Formulación	25 mg/ml de mAb1, amortiguador de 10 mM								
Volumen de llenado	0,4 ml								
Contenedor/Cierre	Frascos de vidrio tipo 1 de 2 ml con tapón elastomérico recubierto con FluroTec® de 13 mm.								
Amortiguador de 10 mM y pH	Color y apariencia ^a	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)	% de proteína recuperada mediante RP-UPLC	Cambio en la pureza por SE-UPLC ^b			Cambio en las variantes de carga por CEX-UPLC ^b		
				% de HMW	% Principal	% LMW	% Ácido	% Principal	% Básico
Fosfato pH 6,5	Aprobado	0,12	91	2,1	-2,3	0,1	12,8	-9,4	-3,3
Fosfato pH 6,0	Aprobado	0,00	95	2,0	-2,1	0,1	7,9	-5,1	-2,8
Histidina pH 6,5	Aprobado	0,01	99	1,6	-1,7	0,1	8,0	-6,5	-1,5
Histidina pH 6,0	Aprobado	0,00	102	1,2	-1,2	0,1	4,5	-4,1	-0,4
Histidina pH 5,5	Aprobado	0,00	96	1,2	-1,3	0,1	8,4	-10,0	1,6

Acetato pH 5,5	Aprobado	0,00	95	1,3	-1,3	0,1	6,8	-6,0	-0,8
Acetato pH 5,0	Aprobado	0,00	96	1,3	-1,4	0,2	13,7	-13,3	-0,5

- 5 ^a Se considera apto si es transparente o ligeramente opalescente, prácticamente libre de partículas visibles y de incoloro a amarillo pálido.
- ^b Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 98,5$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 57,2$ % del pico principal por CEX-UPLC en todas las formulaciones.
- 10 CEX, intercambio catiónico; DS, principio activo; HMW, alto peso molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; Ph. Eur., Farmacopea Europea; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra alto rendimiento; USP, Farmacopea de los Estados Unidos

15

20

25

Tensioactivo

Los tensioactivos/cosolvente seleccionados (polisorbato 20, polisorbato 80 y PEG3350) se evaluaron por su efecto en el estrés por agitación de 25 mg/ml de mAb1. Todos los

tensioactivos/cosolventes protegieron adecuadamente la proteína de la inestabilidad inducida

por la agitación, sin aumentos observados en las especies de HMW. El polisorbato 80 se eligió

como el tensioactivo para la formulación del DP porque estabilizó la proteína frente al estrés por

agitación y tiene un perfil de seguridad demostrado para su uso en formulaciones de

anticuerpos monoclonales (Tabla 2).

10

15

20

25

Tabla 2: Efecto de los tensioactivos en la estabilidad de 25 mg/ml de mAb1 después de la agitación en vórtex (120 minutos a 1000 RPM)

5	Formulación	25 mg/ml de mAb1, 10 mM de histidina, 5 % (p/v) de sacarosa, pH 6,0									
	Volumen de llenado	0,4 ml									
	Contenedor/Cierre	Viales de vidrio tipo 1 de 2 ml (viales de vidrio 2R) con tapón elastomérico de 13 mm recubierto con FluroTec®									
10	Tensioactivo/Cosolvente	Color y apariencia^a	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)	pH	% de proteína recuperada mediante RP-UPLC	Cambio en la pureza por SE-UPLC^b			Cambio en variantes de carga por CEX-UPLC^b		
15						% de HMW	% Principal	% LMW	% Ácido	% Principal	% Básico
	Sin tensioactivo/cosolvente	Aprobado	0,00	6,0	101	0,7	-0,5	-0,2	0,6	0,0	-0,6
20	0,1 % (p/v) de polisorbato 20	Aprobado	0,00	6,0	92	0,0	0,1	-0,1	0,5	-0,2	-0,4
	0,1 % (p/v) de polisorbato 80	Aprobado	0,00	6,0	94	0,0	0,0	-0,1	0,4	-0,2	-0,2
25	PEG3350 al 1 %	Aprobado	0,00	6,0	99	0,0	0,0	0,0	0,6	-0,4	-0,2

^a Se considera apto si es transparente o ligeramente opalescente, prácticamente libre de partículas visibles y de incoloro a amarillo pálido.

^b Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 97,7$ % del pico principal por SE-UPLC y $\geq 60,5$ % del pico principal por CEX-UPLC en todas las formulaciones.

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacológica; HMW, alto peso

5 molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; Ph. Eur., Farmacopea Europea; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultrarrendimiento; USP, Farmacopea de los Estados Unidos

10

15

20

25

Para optimizar la concentración de polisorbato 80, se realizó un estudio de agitación utilizando un rango de concentraciones de polisorbato 80 (0,01 % a 0,20 % p/v). Los resultados indicaron que el mAb1 con polisorbato 80 al 0,10 % (p/v) cae en una región estable del rango caracterizado con tolerancia suficiente en ambos lados para tolerar variaciones en la concentración de polisorbato 80 (Figura 1). La concentración de polisorbato 80 del 0,10 % (p/v) es consistente con la concentración final de polisorbato 80 en la formulación i.v. reconstituida para los ensayos clínicos iniciales.

Estabilizador térmico

Los estabilizadores como la sacarosa a menudo se agregan a formulaciones de anticuerpos para aumentar la estabilidad térmica de las proteínas. La influencia de la sacarosa se estudió al someter una formulación de 25 mg/ml con o sin 5 % (p/v) de sacarosa a condiciones de estrés térmico acelerado (Tabla 3). Después de la incubación a 45 °C durante 28 días, las especies de HMW aumentaron en 2,0 % y 1,5 %, en la formulación de control y con sacarosa, respectivamente.

Tabla 3: Efecto de la sacarosa en la estabilidad de 25 mg/ml de mAb1 incubado a 45 °C durante 28 días

Formulación	25 mg/ml de mAb1, 10 mM de histidina, pH 6,0
Volumen de llenado	0,4 ml
Contenedor/ Cierre	Frascos de vidrio tipo 1 de 2 ml con tapón elastomérico recubierto con FluroTec® de 13 mm.

Estabilizador	Color y apariencia ^a	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)	pH	% de proteína recuperada mediante RP-UPLC	Cambio en la pureza por SE-UPLC ^b			Cambio en variantes de carga por CEX-UPLC ^b		
					% de HMW	% Principal	% LMW	% Ácido	% Principal	% Básico
Sin sacarosa	Aprobado	0,01	6,1	94	2,0	-2,0	0,1	15,3	-15,7	0,4
5% (p/v) de sacarosa	Aprobado	0,00	6,1	95	1,5	-1,5	0,1	15,5	-16,0	0,5

^a Se considera apto si es transparente o ligeramente opalescente, prácticamente libre de partículas visibles y de incoloro a amarillo pálido.

^b Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 97,7$ % del pico principal por SE-UPLC y $\geq 60,5$ % del pico principal por CEX-UPLC en ambas formulaciones.

CEX, intercambio catiónico; DS, sustancia farmacológica; HMW, alto peso molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; Ph. Eur., Farmacopea Europea; RP, fase inversa; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultrarrendimiento; USP, Farmacopea de los Estados Unidos

Se realizó una evaluación de diferentes estabilizadores y concentraciones, utilizando el principio activo (DS) del mAb1, para desarrollar una formulación líquida a 50 mg/ml de mAb1. Como parte de este estudio, se evaluaron los siguientes estabilizadores y combinaciones: 5 % (p/v) de sacarosa, 5 % (p/v) de sacarosa con 20 mM de clorhidrato de arginina y 10 % (p/v) de sacarosa con 20 mM de clorhidrato de arginina. En la tabla 4 se presenta un resumen de los resultados

de estabilidad. En función del análisis SE-UPLC y CEX-UPLC, las tres formulaciones proporcionaron niveles similares de estabilización de proteínas para el mAb1. Entre las tres formulaciones, 10 % (p/v) de sacarosa con 20 mM de clorhidrato de arginina produjo el mejor nivel general de estabilización de proteínas con respecto a la formación de especies de bajo peso molecular (LMW) y alto peso molecular (HMW) y la formación de variantes de carga. La adición de clorhidrato de L-arginina no mostró un impacto negativo en la estabilidad. El clorhidrato de L-arginina se incluyó en la formulación de 50 mg/ml, ya que se buscaba una sustancia farmacológica (DS) de alta concentración para respaldar el desarrollo de una formulación IV y una formulación subcutánea (SC) a una mayor concentración de mAb1. Para fabricar DS de mAb1 de ≥ 175 mg/ml, se añadió clorhidrato de L-arginina como reductor de la viscosidad. La tabla 5 describe el efecto de los estabilizadores de una formulación de alta concentración, y la figura 4 ilustra el cambio en la viscosidad a diversas concentraciones de anticuerpos y temperaturas de almacenamiento. En una formulación de anticuerpo anti-LAG3 que contiene 175 mg/ml de anticuerpo en histidina 10 mM, 5% de sacarosa, 70 mM de arginina HCl, 0,1% de PS80, pH 6 y mantenida a 20 °C, la viscosidad no fue mayor de 25 cP. La formulación que contiene 50 mg/ml de mAb1, histidina 10 mM, sacarosa al 10% (p/v), clorhidrato de arginina 20 mM y polisorbato 80 al 0,1% a pH 6,0 se seleccionó como formulación de DP de mAb1.

Tabla 4: Efecto de los estabilizadores en la estabilidad de mAb1 de 50 mg/ml incubado a 40 °C durante 28 días

Formulación	50 mg/ml mAb1, histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 80 al 0,1%
Volumen de llenado	1 ml
Contenedor/Cierre	Vial de vidrio de borosilicato de tipo 1 de 2 ml con una goma elastomérica de butilo FluorTec® 4432/50 recubierto

5	pH/Amortiguador	Color y apariencia	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)	% de proteína total recuperada por RP-UPLC	Pureza por SE-UPLC ^a			Variantes de carga por CEX-UPLC ^a		
					% de especies de HMW	% de pureza del pico principal	% de especies de LMW	% Región 1	% Región 2	% Región 3
10	Sacarosa al 5 %	Aprobado	0,00	98	0,8	-0,9	0,2	10,5	-10,2	-0,3
	5% de sacarosa, 20 mM de arginina HCl	Aprobado	0,00	98	0,8	-1,0	0,2	10,6	-10,6	-0,1
15	10 % de sacarosa, 20 mM de arginina HCl	Aprobado	0,00	100	0,6	-0,8	0,2	10,5	-10,7	-0,2

^a Informado como un cambio en la pureza en relación con el material de partida. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 98,5$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 57,3$ % del pico principal por CEX-UPLC en todas las formulaciones.

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

10

15

20

25

5	Sacarosa al 0 %, 150 mM de clorhidrato de arginina	19,4	Aprobado	6,1	0,00	0,6	-0,7	0,0	2,2	-1,5	-0,9
10	Sacarosa al 2 %, 100 mM de clorhidrato de arginina	25,2	Aprobado	6,1	0,00	0,6	-0,7	0,0	2,1	-1,6	-0,4
15	Sacarosa al 5 %, 100 mM de clorhidrato de arginina	25,0	Aprobado	6,1	0,02	0,5	-0,6	0,1	0,3	0,3	-0,7

^a Informado como un cambio en la pureza en relación con el material inicial. El material de partida (sin incubación) contiene $\geq 98,0$ % del pico nativo por SE-UPLC y $\geq 57,3$ % del pico principal por CEX-UPLC en todas las formulaciones.

^b Se considera apto si es transparente o ligeramente opalescente, prácticamente libre de partículas visibles y de incoloro a amarillo pálido.

CEX, intercambio catiónico; DS, principio activo; HMW, alto peso molecular; LMW, bajo peso molecular; OD, densidad óptica; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento

Ejemplo 2: Formulaciones ilustrativas

En determinadas modalidades, el mAb1 se formula como una formulación amortiguada acuosa que contiene de 5 mg/ml $\pm$ 0,75 mg/ml a 250 mg/ml $\pm$ 45,0 mg/ml de mAb1, amortiguador de histidina de 10 mM $\pm$ 2 mM, 0,05% $\pm$ 0,05% a 0,2% $\pm$ 0,1% p/v de polisorbato, 1% $\pm$ 0,2% a 15% $\pm$ 3% p/v de sacarosa, y de 1 mM $\pm$ 0,2 mM a 100 mM $\pm$ 20 mM de clorhidrato de arginina, a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

Las formulaciones ilustrativas incluyen:

- Una formulación farmacéutica estable que comprende: 25 mg/ml $\pm$ 3,75 mg/ml de mAb1, 10 $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80, 5 % $\pm$ 1 % o 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, y 20 mM $\pm$ 4 mM de clorhidrato de arginina a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica estable que comprende: 25 mg/ml $\pm$ 3,75 mg/ml de mAb1, 10 $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80, 5 % $\pm$ 1 % p/v de sacarosa a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica estable que comprende: 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de mAb1, 10 $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80, 5 % $\pm$ 1 % o 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, y 20 mM $\pm$ 4 mM de clorhidrato de arginina a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica estable que comprende: 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de mAb1, 10 $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80, 5 % $\pm$ 1 % p/v de sacarosa a pH 6,0 $\pm$ 0,3.
- Una formulación farmacéutica estable que comprende: 100 $\pm$ 15 mg/ml de mAb1, 10 $\pm$ 2 mM de amortiguador de histidina, 0,1 % $\pm$ 0,05 % p/v de polisorbato 80, 10 % $\pm$ 2 % p/v de sacarosa, y 10 mM $\pm$ 2 mM a 100 mM $\pm$ 20 mM de clorhidrato de arginina, a pH 6,0 $\pm$ 0,3.

- Una formulación farmacéutica estable que comprende: $150 \pm 22,5$ mg/ml de mAb1, amortiguador de histidina 10 ± 2 mM, $0,2 \% \pm 0,1 \%$ p/v de polisorbato 80, $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa y $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a pH $6,0 \pm 0,3$.

- 5
- Una formulación farmacéutica estable que comprende: $175 \pm 37,5$ mg/ml de mAb1, amortiguador de histidina 10 ± 2 mM, $0,1 \% \pm 0,05 \%$ p/v de polisorbato 80, $10 \% \pm 2 \%$ p/v de sacarosa y $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ a $100 \text{ mM} \pm 20 \text{ mM}$ de clorhidrato de arginina, a pH $6,0 \pm 0,3$.

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

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

- Color y aspecto mediante inspección visual
- pH
- Turbidez medida por el aumento en la OD a 405 nm Análisis de partículas subvisibles mediante Micro-Flow Imaging™ (MFI) y oscurecimiento de la luz mediante HIAC
- 15 • Concentración de proteínas mediante cromatografía líquida de ultra rendimiento de fase inversa (RP-UPLC)
- La pureza del DP se evaluó mediante los siguientes ensayos:
 - Cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión por tamaño (SE-UPLC)
 - Electroforesis capilar en microchip con dodecilsulfato sódico (MCE-SDS)
- 20 • El análisis de variantes de carga se determinó mediante los siguientes ensayos:
 - UPLC de intercambio catiónico (CEX-UPLC)
 - Enfoque isoelectrico capilar de imágenes (iCIEF)

Las variantes de carga se informan como porcentaje de Región 1, Región 2 y Región 3.

25 La región 1 corresponde a especies ácidas que se eluyen antes del pico principal; la

región 2 corresponde al pico principal; y la región 3 corresponde a especies básicas que se eluyen después del pico principal.

- La potencia se evaluó mediante bioensayo: la potencia relativa de cada muestra se determinó mediante bioensayo y se define como: (muestra de referencia de IC_{50} /muestra de IC_{50}) $\times$ 100 %. La potencia medida de las muestras de estabilidad de almacenamiento debe estar entre el 50% y el 150% de la potencia medida del estándar de referencia.

La estabilidad física de una formulación se refiere a propiedades tales como color, apariencia, pH, turbidez y concentración de proteínas. La presencia de partículas visibles en la solución puede detectarse mediante inspección visual. Una solución pasa la inspección visual si es clara

a ligeramente opalescente, esencialmente libre de partículas visibles, y es incolora a amarillo pálido. Además, la turbidez, medida por OD a 405 nm, también puede usarse para detectar partículas en solución. Un aumento en OD a 405 nm puede indicar la presencia de partículas, un aumento en opalescencia o un cambio de color de los artículos de prueba. La MFI se utiliza para medir partículas subvisibles de $\geq 2 \mu m$ de tamaño. La concentración de proteína de mAb1

se mide mediante un ensayo de RP-UPLC y se informa como por ciento de recuperación de proteína con relación al material de partida. En el ensayo de RP-UPLC, mAb1 se eluye de la columna RP como un solo pico. La concentración de proteína se determina a partir del área pico total del mAb1 mediante la comparación con una curva de calibración generada mediante el uso de estándares de mAb1. El por ciento de recuperación se calcula en base a la concentración de proteína medida con relación a la concentración de proteína inicial.

La estabilidad química se refiere a la formación de formas modificadas covalentemente (por ejemplo, agregados covalentes, productos de escisión o formas variantes de carga) y formas modificadas no covalentemente (por ejemplo, agregados no covalentes) de proteínas. Los productos de degradación de mayor y menor peso molecular pueden separarse del mAb1 nativo mediante los métodos SE-UPLC y MCE-SDS. El porcentaje de mAb1 degradado en los métodos SE-UPLC y MCE-SDS se calcula a partir de la relación del área de todos los picos no

nativos al área total de todos los picos de mAb1. Las formas variantes de carga de mAb1 se resuelven mediante el uso de CEX-UPLC e iCIEF. En el método CEX-UPLC, los picos con tiempos de retención anteriores a los del pico principal se etiquetan como picos "ácidos"; los picos con tiempos de retención posteriores a los del pico principal se etiquetan como picos "básicos". En el método de iCIEF, los picos que se enfocan a un pI menor que el del pico principal se etiquetan como picos "ácidos", mientras que los que se enfocan a un pI mayor que el del pico principal se etiquetan como picos "básicos".

Ejemplo 4: Estabilidad de la formulación de 50 mg/ml cuando se almacena invertida

La formulación que contiene 50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, sacarosa al 10 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 20 mM y polisorbato 80 al 0,1 % a pH 6,0 se seleccionó como la formulación líquida de mAb1 para la coadministración con cemiplimab y para la fabricación de mAb1. La idoneidad de esta formulación se demostró mediante la ausencia de cambios apreciables en la estabilidad física o química de cualquiera de los atributos monitoreados después de 42 meses de almacenamiento a 5 °C (2-8 °C), como se muestra en la Tabla 6.

15

20

25

Tabla 6: Estabilidad del producto farmacéutico de mAb1 50 mg/ml, almacenado a 2-8 °C, invertido

Proteína recombinante mAb1 estéril, en vial, 50,0 mg/ml, en una solución acuosa tamponada, pH 6,0, que contiene 20 mM de hidrocloreuro de arginina, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % de polisorbato 80.											
USP/Ph. Eur. Frasco de vidrio transparente tipo I 20R con tapón de elastómero 4432/50 recubierto con FluroTec® de 20 mm y sello Flip-Off® de 20 mm.											
5 °C Invertido											
Ensayo											
	t =0^a	1	3	6	9	12	18	24	30	36	42
Forma/condición física	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P	LEFV P
Claridad	No > III	No > III	No > II	No > I	No > III	No > II	No > II	No > III	No > III	No > II	No > III
Color	No > BY7	No > BY6	No > BY7	No > BY6	No > BY5	No > BY7	No > BY7	No > BY6	No > BY7	No > BY7	No > BY7
pH	6,0	6,0	6,1	6,1	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Proteínas totales (A ₂₈₀)	51,3	50,7	50,4	51,3	51,4	50,6	50,9	50,6	54,2 ^b	50,8	51,1
Potencia (%)	96	98	132	107	98	115	117	87	107	113	102
Pureza mediante MCE reducido (%)	a. 97 b. 0 c. 2	a. 97 b. 0 c. 2	a. 97 b. 0 c. 2	a. 97 b. 0 c. 2	a. 97 b. 0 c. 3	a. 98 b. 0 c. 2	a. 98 b. 0 c. 2	a. 98 b. 0 c. 2	a. 96 b. 0 c. 4	a. 97 b. 0 c. 3	a. 96 b. 0 c. 3

**USP/Ph. Eur. Frasco de vidrio transparente tipo I 20R con tapón de elastómero 4432/50
recubierto con FluroTec® de 20 mm y sello Flip-Off® de 20 mm.**

5 °C Invertido

Ensayo

10

15

20

25

5	Proteína recombinante mAb1 estéril, en vial, 50,0 mg/ml, en una solución acuosa tamponada, pH 6,0, que contiene 20 mM de hidrocloreuro de arginina, 10 mM de histidina, 10 % (p/v) de sacarosa y 0,1 % de polisorbato 80.											
	USP/Ph. Eur. Frasco de vidrio transparente tipo I 20R con tapón de elastómero 4432/50 recubierto con FluroTec® de 20 mm y sello Flip-Off® de 20 mm.											
	5 °C Invertido											
	Ensayo											
		t =0^a	1	3	6	9	12	18	24	30	36	42
10	Endotoxina	<0,001	NR	NR	NR	NR	<0,001	NR	<0,001	NR	NR	NR
	Esterilidad	Cumple	NR	NR	NR	NR	Cumple	NR	Cumple	NR	NR	NR
	CCI	NDD	NR	NR	NR	NR	NDD	NR	NDD	NR	NDD	NR

^aDatos de pruebas de liberación

A₂₈₀, absorbancia a 280 nm; C2P1, Línea celular 2 Proceso 1; CCI, integridad del cierre del contenedor ; EU, unidad de endotoxinas; HMW, alto peso molecular; iCIEF, enfoque isoeléctrico capilar con imágenes; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, bajo peso molecular; LO, oscurecimiento de la luz; MCE, electroforesis capilar en microchip; MFI, Micro-Flow Imaging™; MP, pico principal; NDD, no se detectó tinte; NGHC, cadena pesada no glucosilada; No > BY2; NR, no requerido; PGMP, pico principal parcialmente glucosilado; Ph. Eur., Farmacopea Europea; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra rendimiento; USP, Farmacopea de los Estados Unidos

La solución de DP contiene 50 mg/ml de mAb1, 10 mM de histidina, pH 6,0, 10% (p/v) de sacarosa, 20 mM de clorhidrato de arginina y 0,1% (p/v) de polisorbato 80. A partir de los estudios de estabilidad, se puede concluir lo siguiente:

- El DP de mAb1 es estable cuando se almacena a 2 °C a 8 °C durante al menos 42 meses.
- Las principales vías de degradación identificadas fueron la formación de especies de HMW y variantes de carga.

Excedentes

No hay excedentes incluidos en la fórmula; sin embargo, se incluye un ligero sobrellenado para garantizar que se extraiga el volumen correcto del vial.

Un vial de DP contiene 16,5 ml de mAb1 a 50 mg/ml. Cada vial contiene un sobrellenado de 0,5 ml, lo cual es suficiente para una extracción precisa de 16,0 ml (800 mg de mAb1) de DP del vial.

Este sobrellenado no está diseñado para compensar las pérdidas durante la fabricación, la degradación durante la fabricación, la degradación durante el almacenamiento (vida útil) o para extender la fecha de caducidad. Este excedente está destinado únicamente a permitir la extracción precisa de 16,0 ml.

Ejemplo 5: Estabilidad de investigación del producto farmacológico (DP) líquido de 400 mg de mAb1

Este informe resume el estudio de estabilidad de investigación para el producto farmacológico (DP) líquido de mAb1 (50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, 20 mM de clorhidrato de L-arginina, 10% (p/v) de sacarosa, 0,1% (p/v) de polisorbato 80, pH 6,0) con un llenado de 8,5 ml (y un volumen de extracción de 8,0 ml) en viales de vidrio de borosilicato tipo 1 de 10R.

El DP se incubó en condiciones de almacenamiento, aceleradas y de estrés. Se seleccionaron las condiciones aceleradas y de estrés para simular las condiciones más allá de las cuales el DP no será sometido durante la fabricación y la manipulación, y para dilucidar las vías de

degradación del DP de mAb1.

El estudio se llevó a cabo en posición vertical bajo las condiciones descritas a continuación. Las siguientes condiciones de estrés/almacenamiento y la duración de los puntos de tiempo se examinaron en los estudios de estabilidad de investigación del mAb1.

- 5
 - Condición de almacenamiento a largo plazo: 2-8 °C, hasta 60 meses
 - Condición de aceleración térmica: 25 °C/60 % HR, hasta 6 meses
 - Condición de estrés térmico: 40 °C/75 % HR, hasta 3 meses
 - Condición de estrés físico: agitación en vórtex a 1000 RPM durante un máximo de 120 minutos
- 10
 - Condición de estrés físico: congelación y descongelación a -30 °C hasta 4 ciclos

Se utilizaron los siguientes métodos para analizar la estabilidad del mAb1:

- Color y aspecto
 - pH
 - Concentración de proteína mediante Solo VPE
- 15
 - Pureza por SE-UPLC
 - Heterogeneidad de carga mediante iCIEF
 - Pureza por MCE (reducida y no reductora): todos los puntos de tiempo, excepto solo T_{end} (último punto de tiempo) para la agitación y F/T
- 20
 - Material particulado por HIAC
 - 0, 3, 6 m y TP anual (punto de tiempo) para 5 °C
 - 3 m y T_{end} para 25 °C/60 % HR y 40 °C/75 % HR
 - T_{end} para la agitación y F/T
 - Materia particulada mediante MFI
 - 0, 6 m y TP anual para 5 °C
 - 3 m y T_{end} para 25 °C/60 % HR y 40 °C/75 % HR
- 25

T_{end} para la agitación y F/T

- Concentración de polisorbato 80 mediante CAD-UPLC

0, 6 meses y TP anual para 5 °C

T_{end} para 25 °C/60 % HR y 40 °C/75 % HR

5

T_{end} para la agitación y F/T

- Potencia por bioensayo - 0, 6 meses & TP anual para 5 °C

Resultados del estudio de estabilidad de almacenamiento a largo plazo

Hay datos de estabilidad del estudio de doce meses disponibles para el mAb1 DP. El mAb1 DP fue física y químicamente estable cuando se almacenó en la condición de almacenamiento (2-8 °C) durante al menos 12 meses. No se detectaron cambios apreciables en la estabilidad en ninguno de los atributos monitoreados a 2-8 °C, como se muestra en la Tabla 7. Estos resultados indican que el mAb1 DP es estable durante al menos 12 meses en condiciones de almacenamiento.

Resultados del estudio de estabilidad térmica acelerada y de estrés

Los resultados del análisis del mAb1 DP después de la incubación en condiciones térmicas aceleradas y de estrés se proporcionan en la Tabla 8.

No se detectaron cambios apreciables en la estabilidad física o química después de la incubación a 25 °C/60 % de HR durante 1 mes, lo que indica que el mAb1 DP puede exponerse a temperatura ambiente durante un máximo de 1 mes. Después de 6 meses de incubación a 25 °C/60 % de HR, se detectó la formación de la Región 3 mediante iCIEF, como se ilustra en la Tabla 9. Ver también Tabla 8.

Después de la incubación durante 3 meses a 40 °C/75 % de HR, se observó formación apreciable de especies de HMW mediante SE-UPLC, LMW mediante MCE y variantes de carga mediante iCIEF (ilustradas en la Tabla 10). Para obtener detalles sobre las variantes de carga en condiciones de estrés, consulte la Tabla 8. Los resultados de la incubación en condiciones aceleradas y de estrés demostraron que un aumento en las especies de HMW, las especies de

LMW y la formación de variantes de carga fueron las principales vías de degradación para el DP del mAb1.

Tabla 7: Estabilidad del medicamento líquido mAb1 almacenado a 2-8 °C

5	Formulación		50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, 20 mM de hidrocloreuro de L-arginina, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0					
	Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec					
10	Volumen de llenado		8,5 ml					
	Ensayo		Tiempo de almacenamiento (meses)					
			t =0	1	3	6	9	12
15	Color y apariencia ^a		Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00
	pH		6,0	6,1	6,0	6,0	6,0	6,0
	Proteína total (mg/ml)		47,6	48,3	47,5	49,0	50,2	48,1
	Potencia (%)		104	NR	NR	111	NR	85
20	Reducción de la MCE (%)	Pureza (LC+HC)	97,3	96,3	96,8	98,0	96,9	97,3
		NGHC	2,3	2,9	2,0	1,9	2,9	2,5
		LMW	0,5	0,0	1,0	0,0	0,0	0,1

5	Formulación		50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, 20 mM de hidrocloreuro de L-arginina, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0					
	Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec					
	Volumen de llenado		8,5 ml					
10	Ensayo		Tiempo de almacenamiento (meses)					
			t =0	1	3	6	9	12
15	MCE no reducida (%)	Pureza (NGMP +MP)	97,7	97,5	96,4	97,8	97,3	98,2
		LMW	2,2	2,2	3,1	2,0	2,4	1,7
		HMW	0,1	0,3	0,5	0,2	0,3	0,2
20	SE-UPLC (%)	Pureza (MP+LM W1)	99,5	99,4	99,4	99,3	99,3	99,3
		LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		HMW	0,5	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7
25	iCIEF (%)	Región 1	33,8	33,2	33,5	31,9	31,4	31,2
		Región 2	56,7	57,0	56,3	57,1	57,6	57,6
		Región 3	9,5	9,8	10,2	11,0	11,1	11,2

5	Formulación		50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, 20 mM de hidrocloruro de L-arginina, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0					
	Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec					
	Volumen de llenado		8,5 ml					
10	Ensayo		Tiempo de almacenamiento (meses)					
			t =0	1	3	6	9	12
	Análisis de partículas por LO (N.º/contenedor)	≥10 µm	6	NR	57	66	NR	94
		≥25 µm	0	NR	3	3	NR	9
	15	Análisis de partículas mediante MFI ^b (N.º/ml)	2 µm ≤ x <10 µm	17	NR	NR	629	NR
≥10 µm			0	NR	NR	10	NR	20
≥25 µm			0	NR	NR	4	NR	4
Polisorbato 80 (% p/v)			0,11	NR.	NR	0,11	NR	0,10

^a Se considera apto si es transparente o ligeramente opalescente, prácticamente libre de partículas visibles y de incoloro a pálido.

^b La contribución de las burbujas de aire se minimiza al filtrar las partículas con una relación de aspecto > 0,85.

HMW, alto peso molecular; iCIEF, isoelectroenfoque capilar con imágenes; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, bajo peso molecular; LO, oscurecimiento de luz; MCE, electroforesis capilar de microchip; MFI, Micro-Flow Imaging™; MP, pico principal; Not > BY2, no más intensamente coloreado que la

solución de referencia BY2; Not > IV, no más turbio que la suspensión de referencia IV;
 NR, no requerido según el protocolo; Ph. Eur., Farmacopea Europea; SE, exclusión por
 tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra alto rendimiento; USP, Farmacopea de los
 Estados Unidos

5 **Tabla 8: Estabilidad del producto farmacológico líquido mAb1 Incubado a 25 °C/60 % de
 HR y 40 °C/75 % de HR**

10	Formulación		50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, 20 mM de hidrocloruro de L-arginina, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0								
	Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec								
	Volumen de llenado		8,5 ml								
15	Ensayo		t =0	Almacenamiento a 25 °C/60 % HR (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % HR (meses)			
				0,5	1	3	6	0,25	0,5	1	3
20	Color y aspecto		Apro bad o ^a	Apro bado	Apro bado	Apro bado	Apro bado	Apro bado	Apro bado	Apro bado	Apro bado
	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	0,02
	pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
	Proteína total (mg/ml)		47,6	48,3	47,8	49,0	48,2	48,7	48,5	48,9	48,4
25	Potencia (%)		104	NR	NR	NR	80	NR	NR	NR	88
	Reducción de la MCE (%)	Pureza (LC+HC)	97,3	97,6	97,8	96,6	96,4	97,5	95,9	95,8	91,5

5	Formulación		50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, 20 mM de hidrocloruro de L-arginina, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0								
	Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec								
	Volumen de llenado		8,5 ml								
10	Ensayo		t =0	Almacenamiento a 25 °C/60 % HR (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % HR (meses)			
				0,5	1	3	6	0,25	0,5	1	3
				NGHC	2,3	2,2	2,2	3,0	3,1	2,3	3,0
		LMW	0,5	0,0	0,0	0,2	0,4	0,3	0,3	1,0	3,2
	15	MCE no reducida (%)	Pureza (NGMP+ MP)	97,7	97,9	97,6	97,4	97,0	97,3	97,1	96,7
LMW			2,2	2,1	2,2	2,4	2,7	2,5	2,7	3,2	6,4
HMW			0,1	0,0	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3
20	SE-UPLC (%)	Pureza (MP+LM W1)	99,5	99,4	99,3	99,2	99,2	99,3	99,1	98,5	95,7
		LMW	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	1,4
		HMW	0,5	0,6	0,7	0,8	0,8	0,7	0,9	1,4	2,9
25	iCIEF (%)	Región 1	33,8	34,3	34,1	34,4	37,7	31,1	36,6	39,7	55,1
		Región 2	56,7	54,8	54,1	51,4	46,2	55,7	48,1	41,3	25,0
		Región 3	9,5	11,0	11,8	14,5	16,1	13,3	15,4	19,0	19,9
	Análisis de	≥10 µm	6	NR	NR	179	88	NR	NR	NR	177

Formulación		50 mg/ml de mAb1, 10 mM de L-histidina, 20 mM de hidrocloruro de L-arginina, sacarosa al 10 % (p/v), polisorbato 80 al 0,1 % (p/v), pH 6,0								
Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec								
Volumen de llenado		8,5 ml								
Ensayo		t =0	Almacenamiento a 25 °C/60 % HR (meses)				Almacenamiento a 40 °C/75 % HR (meses)			
			0,5	1	3	6	0,25	0,5	1	3
partículas por LO (N.º/contenedor)	≥25 µm	0	NR	NR	9	0	NR	NR	NR	0
Análisis de partículas mediante MFI ^b (N.º/ml)	2 µm ≤ x <10 µm	17	NR	NR	150	477	NR	NR	NR	290
	≥10 µm	0	NR	NR	7	12	NR	NR	NR	0
	≥25 µm	0	NR	NR	0	0	NR	NR	NR	0
Polisorbato 80 (% p/v)		0,11	NR	NR	NR	0,11	NR	NR	NR	0,11

^a Se considera apto si es transparente o ligeramente opalescente, prácticamente libre de partículas visibles y de incoloro a pálido.

^b La contribución de las burbujas de aire se minimiza al filtrar las partículas con una relación de aspecto > 0,85.

HMW, alto peso molecular; iCIEF, isoelectroenfoque capilar con imágenes; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, bajo peso molecular; LO, oscurecimiento de luz; MCE, electroforesis capilar de microchip; MFI, Micro-Flow

Imaging™; MP, pico principal; Not > BY2, no más intensamente coloreado que la solución de referencia BY2; Not > IV, no más turbio que la suspensión de referencia IV; NR, no requerido según el protocolo; Ph. Eur., Farmacopea Europea; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra alto rendimiento; USP, Farmacopea de los Estados Unidos

Tabla 9: Resumen del cambio en la estabilidad del producto farmacológico mAb1 (400 mg) después de la incubación a 25 °C/60 % de HR durante 6 meses

mAb1 DP	Cambio en el %HMW por SE-UPLC	Cambio en el %LMW por MCE reducido	Cambio en el % de la región 1 (región ácida) por iCIEF	Cambio en el % de la región 3 (región básica) por iCIEF
400 mg	+0,3	+0,2	+0,6	+5,0

Tabla 10: Resumen del cambio en la estabilidad del producto farmacológico mAb1 (400 mg) después de la incubación a 40 °C/75 % de HR durante 3 meses

mAb1 DP	Cambio en el %HMW por SE-UPLC	Cambio en el %LMW por MCE no reducida	Cambio en el % de la región 1 (región ácida) por iCIEF	Cambio en el % de la región 3 (región básica) por iCIEF
400 mg	+2,4	+4,2	+21,3	+10,4

Resultados del estudio de estabilidad de agitación y congelación y descongelación

Los resultados del análisis del DP del mAb1 después de las condiciones de estrés de agitación en vórtex y congelación y descongelación se proporcionan en la Tabla 11. No se detectaron cambios apreciables en la estabilidad física o química después de 120 minutos de agitación en vórtex y después de 4 ciclos de congelación (-30 °C) y descongelación (temperatura ambiente). Estos resultados indican que el mAb1 DP (400 mg) es estable al estrés de agitación y hasta 4 ciclos de congelación y descongelación.

Tabla 11: Estabilidad del producto farmacológico líquido mAb1 — efecto de la agitación y congelación/descongelación

5	Formulación		50 mg/ml de mAb1, pH 6,0, 10 mM de L-histidina, 20 mM de clorhidrato de L-arginina, 10% (p/v) de sacarosa y 0,1% (p/v) de polisorbato 80				
	Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec				
	Volumen de llenado		8,5 ml				
10	Ensayo		t =0	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
				60	120	2	4
15	Color y apariencia		Aprobado ^a	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
	Turbidez (aumento de la OD a 405 nm)		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	pH		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
	Proteína total (mg/ml)		47,6	49,4	49,6	48,8	48,7
	Potencia (%)		104	NR	89	95	NR
20	Reducción de la MCE (%)	Pureza (LC+HC)	97,3	NR	97,2	NR	96,2
		NGHC	2,3	NR	1,8	NR	1,9
		LMW	0,5	NR	0,7	NR	1,7
25	MCE no reducida (%)	Pureza (NGMP+MP)	97,7	NR	97,7	NR	96,3
		LMW	2,2	NR	2,1	NR	3,5
		HMW	0,1	NR	0,1	NR	0,2

5	Formulación		50 mg/ml de mAb1, pH 6,0, 10 mM de L-histidina, 20 mM de clorhidrato de L-arginina, 10% (p/v) de sacarosa y 0,1% (p/v) de polisorbato 80				
	Cierre del contenedor		Vial de vidrio de borosilicato 10R tipo 1 con tapón de goma de clorobutilo gris de 20 mm con FluroTec				
	Volumen de llenado		8,5 ml				
10	Ensayo		t =0	Agitación (minutos)		Congelación/descongelación (ciclos)	
				60	120	2	4
	SE-UPLC (%)	Pureza (MP+LMW1)	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5
		LMW	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
		HMW	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
15	iCIEF (%)	Región 1	33,8	NR	33,0	NR	34,5
		Región 2	56,7	NR	57,6	NR	56,4
		Región 3	9,5	NR	9,3	NR	9,0
20	Análisis de partículas por LO (N.º/contenedor)	≥10 µm	6	NR	34	NR	9
		≥25 µm	0	NR	0	NR	0
	25	Análisis de partículas mediante MFI ^b (N.º/ml)	2 µm ≤ x <10 µm	17	NR	308	NR
≥10 µm			0	NR	5	NR	0
≥25 µm			0	NR	0	NR	0
	Polisorbato 80 (% p/v)		0,11	NR	0,11	NR	0,11

^a Se considera apto si es transparente o ligeramente opalescente, prácticamente libre de partículas visibles y de incoloro a amarillo pálido.

^b La contribución de las burbujas de aire se minimiza al filtrar las partículas con una relación de aspecto > 0,85.

- 5 HMW, alto peso molecular; iCIEF, isoelectroenfoque capilar con imágenes; LEFVP, líquido esencialmente libre de partículas visibles; LMW, bajo peso molecular; LO, oscurecimiento de luz; MCE, electroforesis capilar de microchip; MFI, Micro-Flow Imaging™; MP, pico principal; Not > BY2, no más intensamente coloreado que la solución de referencia BY2; Not > IV, no más turbio que la suspensión de referencia IV; NR, no requerido según el protocolo; Ph. Eur.,
- 10 Farmacopea Europea; SE, exclusión por tamaño; UPLC, cromatografía líquida de ultra alto rendimiento; USP, Farmacopea de los Estados Unidos

CONCLUSIONES

- Al momento de este informe, se dispone de 12 meses de datos de estabilidad del estudio de estabilidad del mAb1 (presentación de 400 mg). Este estudio de estabilidad de investigación
- 15 evaluó la estabilidad del mAb1 DP en condiciones a largo plazo, aceleradas y de estrés. No se detectan cambios apreciables en la estabilidad del mAb1 DP durante el almacenamiento a largo plazo a 2-8 °C durante un máximo de 12 meses en ninguno de los atributos monitoreados. Además, el mAb1 DP fue física y químicamente estable cuando se lo sometió a estrés de agitación mediante vórtex y congelación-descongelación.
- 20 Los resultados de este estudio respaldan la condición de almacenamiento a largo plazo recomendada de 2-8 °C para el mAb1 DP. Los datos de estabilidad del DP respaldan el almacenamiento en condición acelerada hasta 25 °C/60% HR hasta 1 mes.

Ejemplo 6: Estudio de solidez de la formulación del producto farmacológico (DP) líquido mAb1 de 50 mg/ml

- 25 Se realizaron los siguientes estudios de solidez de la formulación en el mAb1 como producto farmacológico líquido (DP). El DP líquido contiene 50 mg/ml de mAb1 en 10 mM de L-histidina,

10 % (p/v) de sacarosa, 0,1% (p/v) de polisorbato 80, 20 mM de clorhidrato de L-arginina, pH 6,0, y se almacena en viales de vidrio borosilicato tipo 1 de 20 ml. Dado que las variaciones en cualquiera de estos factores de formulación podrían afectar potencialmente la estabilidad del DP, se realizó un estudio de solidez de la formulación para evaluar si las variaciones en la composición de la formulación del DP, dentro del Rango Aceptable Comprobado (PAR) definido, afectarían de manera significativa la estabilidad a largo plazo del mAb1 DP.

Todas las formulaciones se prepararon y llenaron en viales de vidrio tipo 1 de 20 ml con un volumen de llenado de 16,5 ml y se evaluaron para determinar la estabilidad de almacenamiento a largo plazo a 2-8 °C. Los parámetros de formulación y sus rangos examinados en este estudio se resumen en la Tabla 12 y las formulaciones examinadas en el estudio de solidez se muestran en la Tabla 13. Las condiciones de almacenamiento para este estudio se muestran en la Tabla 14.

Tabla 12: Resumen de los parámetros de formulación y rangos de formulación

Factor de formulación	Nivel nominal	Rango de PAR objetivo	Rango evaluado
Concentración de mAb1	50 mg/ml	45 – 55 mg/ml	45 – 55 mg/ml
Concentración de sacarosa	10 % (p/v)	8 – 12 % (p/v)	8 – 12 % (p/v)
Concentración de L-histidina	10 mM	8 – 12 mM	8-12 mM
Concentración de clorhidrato de L-arginina	20 mM	N/C	Fijo
Concentración de polisorbato 80	0,1 % (p/v)	0,05 % - 0,2 % (p/v)	0,05 % - 0,2 % (p/v)
pH	6,0	5,7 – 6,3	5,7 – 6,3

PAR, rango aceptable comprobado

Tabla 13: Formulaciones evaluadas en el estudio de PAR

	Ejecución #	Concentración de mAb1 (mg/ml)	Concentración de sacarosa % (p/v)	Concentración de L-histidina (mM)	Clorhidrato de L-arginina Concentración (mM)	Polysorbat o 80 % (p/v)	pH
5	F1	45	12	12	20	0,05	6,0
	F2	55	8	8	20	0,05	6,0
	F3	55	8	12	20	0,2	5,7
10	F4	45	12	12	20	0,2	6,3
	F5	45	8	8	20	0,2	6,0
	F6	45	12	8	20	0,2	5,7
15	F7	55	8	12	20	0,05	6,3
	F8	55	12	12	20	0,05	6,3
	F9	55	8	8	20	0,2	6,3
20	F10	55	12	8	20	0,05	5,7
25							

5	Ejecución #	Concentración de mAb1 (mg/ml)	Concentración de sacarosa % (p/v)	Concentración de L-histidina (mM)	Clorhidrato de L-arginina Concentración (mM)	Polysorbat o 80 % (p/v)	pH
	F11	45	12	8	20	0,05	5,7
	F12	45	8	8	20	0,05	6,3
	F13	45	8	12	20	0,05	5,7
	F14	55	12	12	20	0,2	6,0
10							

Tabla 14: Condiciones del estudio

15	Estabilidad del PF durante el almacenamiento, en condiciones aceleradas y de estrés (térmico)	
	Temperatura de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento (meses)
20	5 °C (2-8 °C)	0, 1, 3, 6, 9 y 12
	25 °C/60 % de HR	0,1, 3, y 6
	40 °C/75 % de RH	0, 0,5, 1, y 3
	Estabilidad del DP en condiciones de estrés (no térmico)	
	Agitación^a	0 y 48 horas

^a 250 RPM en el agitador orbital

El plan de pruebas analíticas utilizó los siguientes métodos para evaluar la estabilidad de las formulaciones en la Tabla 13:

- osmolalidad por presión de vapor
- viscosidad
- color y apariencia
- pH

5

- contenido de proteína mediante Solo VPE
- contenido de pureza mediante SEC
- pureza mediante MCE (no reducida y reducida)

FDS: t=0, -30 °C y -20 °C a 6 y 12 m

DP: t=0, 5 °C a 6 y 12 m, 25 °C/60 % de HR a 6 m, 40 °C/75 % de HR a 3 m y agitación en el último punto cronológico

10

- heterogeneidad de carga mediante iCIEF

FDS: t=0, -30 °C y -20 °C a 3, 6 y 12 m

DP: t=0, 5 °C a 3, 6 y 12 m, 25 °C/60 % de HR a 1 y 6 m, 40 °C/75 % de HR a 3 m y agitación en el último punto cronológico

15

- polisorbato mediante CAD-UPLC

FDS: t=0, -30 °C y -20 °C a 3, 6 y 12 m

DP: t=0, 5 °C a 3, 6 y 12 m, 25 °C/60 % de HR a 6 m, 40 °C/75 % de HR a 3 m y agitación en el último punto cronológico

20

- materia particulada mediante MFI

FDS: t=0, -30 °C y -20 °C a 3, 6 y 12 m

DP: t=0, 5 °C a 3, 6 y 12 m, 25 °C/60 % de HR a 6 m, 40 °C/75 % de HR a 3 m y agitación en el último punto cronológico

25

- materia particulada mediante HIAC

DP: t=0, 5 °C a 3, 6 y 12 m, 25 °C/60 % de HR a 6 m, 40 °C/75 % de HR a 3 m y agitación en el último punto cronológico.

Resultados del estudio de estabilidad de DP a largo plazo

Las formulaciones del DP mAb1 enumeradas en la Tabla 15 se almacenaron a 2-8 °C. Se examinaron los efectos de variar la concentración de proteína, la concentración de sacarosa, el pH, la concentración de histidina y la concentración de polisorbato 80 en la estabilidad a largo plazo del DP mAb1. Los atributos de calidad evaluados fueron la formación de variantes de peso molecular mediante SE-UPLC y MCE, la formación de variantes de carga mediante iCIEF, apariencia, pH, recuperación de proteína y niveles de partículas subvisibles mediante HIAC y MFI. Los resultados que ilustran la estabilidad durante el almacenamiento a 2-8 °C durante 12 meses se muestran en la Figura 2.

Estos resultados indican que, después de 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C, variar las composiciones de la formulación dentro de los intervalos evaluados no dio como resultado un impacto significativo en la estabilidad o la calidad de mAb1.

- No se detectó ningún cambio en el color, precipitado o partículas visibles mediante inspección visual.
- No se observaron cambios significativos en la recuperación de proteínas con Solo VPE.
- El pH de las formulaciones fue estable.
- No se observaron aumentos significativos en las partículas subvisibles mediante HIAC.

- Todos los valores estuvieron por debajo de los límites aceptables establecidos por USP <787>.

- No se observaron cambios significativos en los niveles de especies de HMW o LMW, según lo determinado por SE-UPLC o MCE.
- No se observaron diferencias significativas en los niveles de variantes de carga ácidas (región 1) o básicas (región 3), según lo determinado por iCIEF.

Los datos demuestran que la formulación del DP de mAb1 de 50 mg/ml (presentación de 800

mg de DP) es robusta con respecto a todos los atributos de calidad evaluados dentro del rango de composición de la formulación probada.

Resultados del estudio de estabilidad (térmica) DE DP acelerada y bajo estrés

Los resultados para ilustrar la estabilidad a lo largo del tiempo a 25 °C/60% HR (estudio de estabilidad térmica acelerada y en condiciones extremas) se resumen en la Figura 3.

No se observó ningún cambio significativo en la estabilidad cuando las formulaciones se incubaron durante un mes a 25 °C/60% de HR, lo que indica que la formulación del DP C2P1 de 50 mg/ml (presentación de 800 mg) dentro del rango de composición de la formulación probado puede exponerse a períodos cortos de tiempo a temperatura ambiente. No se muestran los datos.

Después de la incubación durante 3 meses a 40 °C/75% HR, se detectó la formación apreciable de variantes de HMW, LMW y carga. Los resultados de las condiciones aceleradas demostraron que la formación de variantes de HMW, LMW y carga fue la principal vía de degradación para el DP de mAb1 de 50 mg/ml dentro del rango de composición de la formulación probado. No se muestran los datos.

Resultados del estudio de estabilidad del DP con agitación

Entre las 14 formulaciones examinadas en el estudio de estabilidad en condiciones extremas (no térmicas) de PAR, todas las formulaciones fueron física y químicamente estables cuando se agitaron (250 rpm en agitación orbital a temperatura ambiente) durante 48 horas.

Resultados de osmolalidad y viscosidad

La osmolalidad y la viscosidad de las formulaciones de PAR descritas en la Tabla 13 se midieron y resumieron en la Tabla 15. La viscosidad varió de aproximadamente 2,0 cP a aproximadamente 3,0 cP a 20 °C. La osmolalidad osciló entre aproximadamente 330 y aproximadamente 530 mOsm/kg.

Tabla 15: Osmolalidad y viscosidad del producto farmacéutico de la formulación de mAb1

F#	Concentra ción de mAb1 (mg/ml)	Polisor bato 80 Conc. (% p/v)	Concentra ción de L- arginina HCl (mM)	Concentra ción de L- histidina (mM)	Concentra ción de sacarosa (% p/v)	p H	Osmolali dad (mOsm/ kg)	Viscosi dad a 20 °C (cP)
F1	45	0,05	20	12	12	6, 0	514	2,27
F2	55	0,05	20	8	8	6, 0	339	2,85
F3	55	0,2	20	12	8	5, 7	347	2,50
F4	45	0,2	20	12	12	6, 3	503	2,45
F5	45	0,2	20	8	8	6, 0	348	2,04
F6	45	0,2	20	8	12	5, 7	510	2,41
F7	55	0,05	20	12	8	6, 3	408	2,44
F8	55	0,05	20	12	12	6, 3	504	2,71
F9	55	0,2	20	8	8	6, 3	346	2,45
F1 0	55	0,05	20	8	12	5, 7	493	2,65

5	F1 1	45	0,05	20	8	12	5, 7	496	2,41
	F1 2	45	0,05	20	8	8	6, 3	338	2,15
	F1 3	45	0,05	20	12	8	5, 7	342	2,04
	F1 4	55	0,2	20	12	12	6, 0	519	2,78

10 Resultados de estabilidad del FDS

El FDS a granel utilizado para producir el DP de la formulación PAR del mAb1 se expuso a 2 ciclos de congelación/descongelación (congelación a -30 °C y descongelación a temperatura ambiente) antes del llenado del DP. El FDS a granel fue física y químicamente estable cuando se sometió a 2 ciclos de congelación/descongelación. No se muestran los datos.

15 La formulación PAR del mAb1 almacenada en viales de polycarbonato fue física y químicamente estable cuando se almacenó durante un máximo de 12 meses a -20 °C o -30 °C. Datos no mostrados.

CONCLUSIONES

20 El estudio de robustez de la formulación demostró que las variaciones en la composición de la formulación del mAb1 dentro de los rangos estudiados no afectarán negativamente la estabilidad o la calidad del DP de mAb1 de 50 mg/ml en la condición de almacenamiento recomendada (2-8 °C). Por lo tanto, la formulación del DP de mAb1 de 50 mg/ml se considera robusta para una concentración de proteína de 45 mg/ml a 55 mg/ml, una concentración de sacarosa de 8 % a 12 % (p/v), una concentración de L-histidina de 8 mM a 12 mM, una

25 concentración de polisorbato 80 de 0,05 % a 0,2 % (p/v), a 20 mM de clorhidrato de L-arginina, y un pH de 5,7 a 6,3.

La presente invención no se limita en su alcance por las modalidades específicas descritas en la presente descripción. De hecho, diversas modificaciones de la invención además de las que se describen en la presente descripción serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior y las figuras adjuntas. Tales modificaciones pretenden incluirse dentro

5 del alcance de las reivindicaciones anexas.

Tabla 16: Listado informal de secuencias

SEQ ID NO.	Secuencia	Descripción
1.	QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCVASGFTFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAI IWYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTQY LQMNSLRAED TAVYYCASVA TSGDFDYGM DVWGQGTTVT VSS	AA amino secuencia de ácido
2.	EIVLTQSPAT LSLSPGERTT LSCRASQRIS TYLAWYQQKP GQAPRLIYD ASKRATGIPA RFSGSGSGTG FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPLTFGG GTKVEIK	AA amino secuencia de ácido
3.	GFTFSSYG	AA amino secuencia de ácido
4.	IWYDGSNK	AA amino secuencia de ácido
5.	ASVATSGDFD YYGMDV	AA amino secuencia de

		ácido
5	6. QRISTY	AA amino secuencia de ácido
	7. DAS	AA amino secuencia de ácido
10	8. QQRSNWPLT	AA amino secuencia de ácido
15	9. QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCVASGFTFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAI IWYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTQY LQMNSLRAED TAVYYCASVA TSGDFDY YGM DVWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH KPSNTKVDKR VESKYGPPCP PCPAPPVAGP SVFLFPPKPK DTLNISRTPE VTCVVVDVSQ 20 EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ 25 EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK	AA amino secuencia de ácido

5	10. EIVLTQSPAT LSLSPGERTT LSCRASQRIS TYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASKRATGIPA RFSGSGSGTG FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPLTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEN	AA amino secuencia de ácido
---	---	-----------------------------------

10

15

20

25