

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir una composición farmacéutica con actividad reducida de lipasa, que comprende:

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

(b) someter tal muestra con lipasa inactivada a un paso de purificación para formar una muestra empobrecida en alto peso molecular (HMW); y

(c) formular tal muestra reducida en HMW con al menos un éster de ácido graso para producir una composición farmacéutica con actividad reducida de lipasa,

en donde tal composición farmacéutica tiene una actividad reducida de lipasa en comparación con una composición farmacéutica formulada a partir de una muestra que no fue sometida a condiciones de estrés, y en donde tal actividad reducida de lipasa se mide después de un periodo de almacenamiento en condiciones de almacenamiento a largo plazo o en condiciones de almacenamiento acelerado de al menos 2 semanas.

2. El método de la reivindicación 1, en donde tal proteína de interés es un anticuerpo, una proteína derivada de anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo biespecífico, una proteína de fusión, un conjugado de anticuerpo-fármaco o una proteína terapéutica.

3. El método de la reivindicación 1, en donde tal proteína de interés es Dupilumab.

4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde tales condiciones de estrés incluyen estrés por agitación y/o estrés térmico.

5. El método de la reivindicación 4, en donde tal estrés por agitación comprende agitar tal muestra desde 50 hasta 500 rpm, desde 200 hasta 300 rpm, aproximadamente 50 rpm, aproximadamente 75 rpm, aproximadamente 100 rpm, aproximadamente 125 rpm, aproximadamente 150 rpm, aproximadamente 200 rpm, aproximadamente 225 rpm, aproximadamente 250 rpm, aproximadamente 275 rpm, aproximadamente 300 rpm, aproximadamente 325 rpm, aproximadamente 350 rpm, aproximadamente 375 rpm, aproximadamente 400 rpm, aproximadamente 425 rpm, aproximadamente 450 rpm, aproximadamente 475 rpm, o aproximadamente 500 rpm.

6. El método de la reivindicación 4 o de la reivindicación 5, en donde tal estrés por agitación comprende agitar tal muestra desde 1 hasta 96 horas, desde 24 hasta 48 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 24 horas,

aproximadamente 30 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 42 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 84 horas, o aproximadamente 96 horas.

7. El método de la reivindicación 4, en donde tal estrés térmico comprende almacenar tal muestra desde aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente 60 °C, desde aproximadamente 30 °C hasta aproximadamente 60 °C, desde aproximadamente 35 °C hasta aproximadamente 55 °C, desde aproximadamente 40 °C hasta aproximadamente 50 °C, desde aproximadamente 44 °C hasta aproximadamente 46 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 30 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 40 °C, aproximadamente 45 °C, aproximadamente 50 °C, aproximadamente 55 °C, o aproximadamente 60 °C.

8. El método de la reivindicación 7, en donde tal estrés térmico comprende almacenar tal muestra a tal temperatura desde 1 día hasta 6 meses, desde 3 días hasta 3 meses, desde 1 semana hasta 2 meses, desde 0,5 meses hasta 1 mes, aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 0,5 meses, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 1 mes, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 2 meses, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 3,5 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 4,5 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 5,5 meses, o aproximadamente 6 meses.

9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde tal paso de purificación comprende filtración, enriquecimiento o separación cromatográfica.

10. El método de la reivindicación 9, en donde tal separación cromatográfica comprende cromatografía de intercambio catiónico.

11. El método de la reivindicación 9, en donde tal separación cromatográfica comprende cromatografía de exclusión por tamaño.

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde tal muestra reducida en HMW comprende menos de 10%, menos de 5%, menos de 4%, menos de 3%, menos de 2% o menos de 1% de especies de HMW.

13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde tal paso de formulación comprende además añadir excipientes a tal muestra reducida en HMW.

14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde tal éster de ácido graso es polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60 o polisorbato 80.

15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde tal período de almacenamiento es desde aproximadamente 2 semanas hasta aproximadamente 5 años, desde aproximadamente 2 semanas hasta aproximadamente 3 años, desde aproximadamente 2 semanas hasta aproximadamente 1 año, desde aproximadamente 2 semanas hasta aproximadamente 6 meses, desde aproximadamente 1 mes hasta aproximadamente 5 años, desde aproximadamente 1 mes hasta aproximadamente 3 años, desde aproximadamente 1 mes hasta aproximadamente 1 año, desde aproximadamente 1 mes hasta aproximadamente 6 meses, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 1 mes, aproximadamente 2 meses, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 18 meses, aproximadamente 2 años, aproximadamente 3 años, aproximadamente 4 años, o aproximadamente 5 años.

16. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde tales condiciones de almacenamiento a largo plazo comprenden el almacenamiento a una temperatura desde aproximadamente 0 °C hasta aproximadamente 10 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 5 °C o aproximadamente 10 °C.

17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde tales condiciones de almacenamiento acelerado comprenden el almacenamiento a una temperatura desde aproximadamente 35 °C hasta aproximadamente 60 °C, desde aproximadamente 45 °C hasta aproximadamente 55 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 40 °C, aproximadamente 45 °C, aproximadamente 50 °C, aproximadamente 55 °C, o aproximadamente 60 °C.

18. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, en donde una medida de la actividad reducida de lipasa comprende una cuantificación de la degradación de ésteres de ácidos grasos.

19. El método de la reivindicación 18, en donde tal cuantificación comprende un ensayo enzimático colorimétrico para ácidos grasos no esterificados, espectrometría de masas, detección de aerosoles cargados y/o cromatografía líquida.

20. El método de la reivindicación 18, en donde tal cuantificación comprende determinar un porcentaje de éster de ácido graso recuperado de tal composición farmacéutica con actividad reducida de lipasa después de tal período de almacenamiento usando cromatografía de detección de aerosol-líquido cargado.

21. El método de la reivindicación 20, en donde tal porcentaje es por arriba de

80%, por arriba de 85%, por arriba de 90%, por arriba de 95%, por arriba de 99%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 99% o aproximadamente 100%.

22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, en donde una medida de la actividad reducida de lipasa comprende una cuantificación de partículas por unidad de volumen.

23. El método de la reivindicación 22, en donde tales partículas comprenden partículas visibles y/o partículas subvisibles.

24. El método de la reivindicación 22, en donde tales partículas comprenden partículas ≥ 10 μm de diámetro y/o partículas ≥ 25 μm de diámetro.

25. El método de la reivindicación 22, en donde tales partículas comprenden partículas de ácidos grasos.

26. El método de cualquiera de las reivindicaciones 22-25, en donde tal cuantificación comprende oscurecimiento por luz, microscopía óptica, análisis de imágenes de microflujo, citometría de flujo, conteo de Coulter y/o seguimiento de partículas submicrométricas.

27. El método de cualquiera de las reivindicaciones 22-26, en donde un número de partículas por mL en tal composición farmacéutica con actividad reducida de lipasa es por debajo de 500, por debajo de 200, por debajo de 100, por debajo de 50, por debajo de 10 o por debajo de 5.

28. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-27, en donde tal proteína de interés se produce a partir de una célula hospedera recombinante.

29. El método de la reivindicación 28, en donde tal célula hospedera recombinante se selecciona a partir de un grupo que consiste de una célula CHO, una célula CHO-K1, y variaciones de las mismas.

30. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde tal lipasa es una proteína de célula hospedera.

31. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde tal lipasa tiene una mayor susceptibilidad a la inactivación en condiciones de estrés en comparación con tal proteína de interés.

32. Una formulación de proteína que comprende una proteína y al menos un éster de ácido graso elaborada por el método de cualquiera de las reivindicaciones 1-31.