

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 572 919**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2014** **E 14169754 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.03.2016** **EP 2946766**

54 Título: **Composición farmacéutica líquida**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.06.2016

73 Titular/es:

ARES TRADING S.A. (100.0%)
Zone Industrielle de l'Ouriettaz
1170 Aubonne, CH

72 Inventor/es:

RINALDI, GIANLUCA;
FRATARCANGELI, SILVIA y
DEL RIO, ALESSANDRA

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 572 919 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica líquida

Introducción

5 La presente invención se refiere a una nueva formulación de proteínas. En particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica líquida de adalimumab, a un método para fabricar la composición, a un kit que incluye la composición, a un envase que incluye la composición, a un método de fabricación del envase, y a métodos de tratamiento que emplean la composición y/o el envase.

Antecedentes

10 El tratamiento de enfermedades autoinmunitarias relacionadas con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), tales como la artritis reumatoide, la psoriasis y otras enfermedades autoinmunitarias, se ha logrado empleando fármacos aprobados por la FDA, tal como adalimumab (HUMIRA®, Abbott Corporation). El adalimumab es un anticuerpo monoclonal humano que inhibe la actividad del TNF- α humano evitando que active los receptores de TNF y, con ello, infrarregula las respuestas inflamatorias asociadas con las enfermedades autoinmunitarias. Las indicaciones médicas aprobadas para el adalimumab incluyen la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la

15 espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave, y la artritis idiopática juvenil.

20 El adalimumab en general se administra a un paciente a través de una inyección subcutánea y, así, se proporciona en forma líquida, generalmente en envases tales como viales, jeringas precargadas o "dispositivos de pluma" precargados. Los dispositivos de pluma disponibles en el mercado (pluma HUMIRA®) incluyen en general una jeringa de vidrio precargada de 1 ml, precargada con 0,8 ml de una formulación estéril de 40 mg de adalimumab (véase a continuación), con una aguja fijada (de goma natural gris o la versión sin látex) y una cubierta para la aguja. Las formulaciones comerciales (HUMIRA®) de adalimumab contienen los siguientes ingredientes:

Ingrediente	Cantidad por recipiente (mg) (volumen de carga = 0,8 ml)	Cantidad (mg/ml)
Adalimumab	40	50
Ácido cítrico monohidrato	1,04	1,3
Fosfato de sodio dibásico dihidrato	1,22	1,53
Manitol	9,6	12
Fosfato de sodio monobásico dihidrato	0,69	0,86
Polisorbato 80	0,8	1
Cloruro de sodio	4,93	6,16
Citrato de sodio	0,24	0,3
Agua para inyección e hidróxido de sodio	c.s. para ajustar el pH a 5,2	c.s. para ajustar el pH a 5,2

25 El adalimumab, y su método de fabricación, se describe en el documento WO97/29131 (BASF) como D2E7, y en otras partes en la técnica.

Aunque la formulación comercial de adalimumab mencionada anteriormente es estable (al menos hasta cierto punto), el anticuerpo pertinente puede ser inestable en periodos de tiempo prolongados o bajo condiciones de estrés, impidiendo la conservación prolongada de dichas formulaciones. Esta degradación de la formulación puede ser debida a una diversidad de factores, que incluyen:

30 · Efectos físicos, tales como:

- una inhibición inadecuada de la agregación de las moléculas de proteína pertinentes (una función que supuestamente cumple el Tween-80);

- una inhibición inadecuada de la precipitación;

35 - una inhibición inadecuada de la adsorción de las moléculas de proteína pertinentes en la interfase del agua y aire o en las superficies de contacto de cualquier material de envasado (una función que supuestamente cumple el Tween-

80);

- una regulación inadecuada de la presión osmótica (una función que supuestamente cumple el manitol).

· Efectos químicos, tales como:

- una regulación inadecuada de la oxidación (una función que supuestamente cumple el manitol y que puede ser potencialmente socavada por Tween-80, que puede estimular la oxidación de los dobles enlaces);

- una inhibición inadecuada de la fotooxidación;

- una inhibición inadecuada de la hidrólisis de los enlaces éster que conduce a la formación de productos de ácidos, aldehídos y peróxidos, afectando así a la estabilidad del anticuerpo;

- una estabilización y mantenimiento inadecuados del pH;

- una inhibición inadecuada de la fragmentación de las proteínas;

- una inhibición inadecuada del desplegamiento de las proteínas.

Cualquiera, algunos o todos los anteriores factores pueden conducir a un producto de fármaco inviable (que puede no ser seguro para su uso en tratamientos médicos) o a un producto de fármaco cuya viabilidad es variable e impredecible, en especial a la vista de los distintos tipos de estrés (agitación, calor, luz) a los que pueden estar expuestos los diferentes lotes del producto de fármaco durante la fabricación, el transporte y la conservación.

En términos de la estabilización física y química del adalimumab, el complejo conjunto de componentes dentro de las formulaciones comerciales mencionadas anteriormente parece que tiene una actuación por debajo de las expectativas, en especial a la vista del gran número de componentes. Aunque esta combinación concreta de excipientes representa sin duda un "equilibrio delicado" (debido a la interacción entre diversos factores técnicos) y ha sido el resultado de intensas investigaciones y desarrollos, debido al riesgo aparente de mala actuación resulta cuestionable que ese gran número de excipiente diferentes esté justificado, en especial debido a que esta situación aumenta inevitablemente el procesamiento y el coste, los riesgos de toxicidad y los riesgos de interacciones perjudiciales entre los componentes, lo cual podría comprometer la formulación. Incluso aunque la actuación global de las formulaciones comerciales no pueda aumentarse, una formulación alternativa que tuviera una actuación comparable pero que contuviese menos componentes representaría un sustituto altamente deseable para las formulaciones comerciales, por al menos las razones mencionadas.

Para garantizar una actuación clínica reproducible de un producto farmacéutico basado en proteínas, estos productos deben permanecer en una forma estable y constante a lo largo del tiempo. Se sabe que pueden producirse alteraciones moleculares durante cada etapa del proceso de fabricación, que incluye durante la producción de la formulación final y durante la conservación. Las alteraciones moleculares pueden modificar un atributo de calidad de un producto biofarmacéutico, dando como resultado un cambio no deseado en la identidad, la potencia o la pureza del producto. Algunos de estos problemas se han comentado anteriormente.

El principal objetivo del desarrollo de formulaciones es proporcionar una composición farmacéutica que mantenga la estabilidad de una proteína biofarmacéutica durante todas las etapas de su producción, conservación, transporte y uso. El desarrollo de formulaciones para una proteína biofarmacéutica innovadora, o un anticuerpo monoclonal (mAb) biosimilar, resulta fundamental para su seguridad, eficacia clínica y éxito comercial.

Por tanto, son necesarias unas formulaciones líquidas de adalimumab alternativas o mejoradas. De modo deseable, cualquier formulación nueva debería resolver al menos uno de los problemas mencionados anteriormente y/o al menos un problema inherente en la técnica anterior, y de modo adecuado debería resolver dos o más de dichos problemas. De modo deseable, el problema o problemas de la técnica anterior pueden resolverse al mismo tiempo que se reduce la complejidad de la formulación.

El documento WO 2001/104381 (Novo Nordisk) se refiere a composiciones líquidas estables de baja viscosidad que contienen proteínas, en particular, pero no exclusivamente anticuerpos estables, y al uso de dichas composiciones en terapia.

El documento WO 2014/039903 (Coherus Biosciences Inc.) describe composiciones farmacéuticas acuosas adecuadas para la conservación a largo plazo del adalimumab.

El documento WO 2013/186230 (Boehringer Ingelheim) se refiere a formulaciones farmacéuticas para un anticuerpo terapéutico.

Sumario de la invención

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica líquida según se define en las reivindicaciones adjuntas.

En la presente también se describe un envase (por ejemplo, una jeringa precargada, una pluma, una bolsa intravenosa o un envase/recipiente que contenga cualquiera de los anteriores) que comprende una composición farmacéutica líquida según se define en la presente.

5 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un dispositivo de transporte de fármaco (por ejemplo, una jeringa precargada, una pluma, o una bolsa intravenosa) que comprende una composición farmacéutica líquida según se define en la presente.

10 En la presente también se describe un kit de partes que comprende un dispositivo de transporte de fármacos, una composición farmacéutica líquida según se define en la presente (opcionalmente contenida en un envase o recipiente), y opcionalmente un conjunto de instrucciones con indicaciones referidas a la administración (por ejemplo, subcutánea) de la composición farmacéutica líquida.

15 En la presente también se describe un método para fabricar una composición farmacéutica líquida, comprendiendo dicho método mezclar juntos adalimumab; un agente tamponante de histidina (o un sistema de tampón de histidina); un estabilizante de azúcar; y opcionalmente cualquiera o más de un componente adicional definido en la presente con relación a una composición farmacéutica líquida, opcionalmente en cualquier cantidad, concentración o forma estipulada; y opcionalmente ajustar cualquiera de uno o más parámetros indicados en la presente con relación a una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, pH, osmolalidad).

En la presente también se describe una composición farmacéutica líquida que puede obtenerse, que se obtiene a través o que se obtiene directamente de un método de fabricación de una composición farmacéutica líquida según se define en la presente.

20 En la presente también se define un método de fabricación de un envase o un dispositivo de transporte de fármacos, comprendiendo dicho método incorporar una composición farmacéutica líquida según se define en la presente, dentro de un envase o de un dispositivo de transporte de fármacos.

25 En la presente también se describe un envase o un dispositivo de transporte de fármacos que puede obtenerse, que se obtiene a través o que se obtiene directamente de un método de fabricación de un envase o un dispositivo de transporte de fármacos según se define en la presente.

En la presente también se describe un método para tratar una enfermedad o un trastorno médico en un paciente que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica líquida según se define en la presente.

30 En la presente también se describe una composición farmacéutica líquida según se define en la presente para su uso en terapia.

En la presente también se describe un uso de una composición farmacéutica líquida según se define en la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno.

35 En la presente también se describe un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) en un paciente que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica líquida según se define en la presente.

En la presente también se describe una composición farmacéutica líquida según se define en la presente para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α).

40 En la presente también se describe un uso de una composición farmacéutica líquida según se define en la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α).

45 En la presente también se describe un método para tratar la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave y/o la artritis idiopática juvenil en un paciente que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho método administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica líquida según se define en la presente.

50 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica líquida según se define en la presente para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave y/o la artritis idiopática juvenil.

En la presente también se describe un uso de una composición farmacéutica líquida según se define en la presente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la

espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave y/o la artritis idiopática juvenil.

- 5 Cualquier característica, incluyendo las características opcionales, adecuadas y preferidas, descrita en relación con cualquier aspecto concreto de la invención también puede ser una característica, incluyendo las características opcionales, adecuadas y preferidas, de cualquier otro aspecto de la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

Para comprender mejor la invención y para demostrar la forma en que se realizan sus realizaciones, a continuación se remite, a modo de ejemplo, a los siguientes diagramas, en los que:

- 10 La figura 1 es un diagrama de barras que muestra el contenido en proteínas (mg/ml), determinado mediante OD, de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 4 semanas (barras rojas) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

- 15 La figura 2 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras naranjas) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

- 20 La figura 3 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rosas) y 4 semanas (barras azul claro) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

La figura 4 es un diagrama de barras que muestra la temperatura de desplegamiento (°C), determinada mediante DSF, de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas).

- 25 La figura 5 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un punto de inicio arbitrario (barras rojas, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras moradas) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

- 30 La figura 6 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

- 35 La figura 7 es un diagrama de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

- 40 La figura 8 es un diagrama de barras que muestra el perfil de las isoformas del pico o picos de la agrupación ácida, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

- 45 La figura 9 es un diagrama de barras que muestra la turbidez, determinada mediante nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

La figura 10 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han agitado de modo mecánico.

- 50 La figura 11 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han agitado de modo mecánico.

La figura 12 es un diagrama de barras que muestra la turbidez, determinada mediante nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han agitado de modo mecánico.

- 5 La figura 13 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

- 10 La figura 14 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

- 15 La figura 15 es un diagrama de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

La figura 16 es un diagrama de barras que muestra el perfil de las isoformas del pico o picos de la agrupación ácida, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

- 20 La figura 17 es un diagrama de barras que muestra la turbidez, determinada mediante nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

- 25 La figura 18 es un diagrama de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (FT) (-80 °C → temperatura ambiente).

La figura 19 es un diagrama de barras que muestra el perfil de las isoformas del pico o picos de la agrupación ácida, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

- 30 La figura 20 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

- 35 La figura 21 es un diagrama de barras que muestra la concentración del número (n.º/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 10 micrómetros, según se determina mediante un análisis de recuento de partículas subvisibles, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

- 40 La figura 22 es un diagrama de barras que muestra la concentración del número (n.º/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 25 micrómetros, según se determina mediante un análisis de recuento de partículas subvisibles, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

Descripción detallada de la invención

Definiciones

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos empleados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones tienen los siguientes significados.

- 45 En la presente, la referencia a “adalimumab” incluye la sustancia fármaco del originador (según está disponible en el mercado), el adalimumab definido en el documento WO97/29131 (BASF) (en particular D2E7) y en otras partes de la técnica, y también los biosimilares a él. El D2E7 del documento WO97/29131 “tiene un dominio CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, y un dominio CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4”. Preferiblemente, el anticuerpo D2E7 tiene una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1, y una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:2. El documento WO97/29131 incluye detalles de cada uno de estos listados de secuencias. La referencia en la presente al “adalimumab” puede incluir biosimilares que, por ejemplo, comparten al menos 75%, de modo adecuado al menos 80%, de modo adecuado al menos 85%, de modo adecuado al menos 90%, de modo adecuado al menos 95%, de

modo adecuado al menos 96%, de modo adecuado al menos 97%, de modo adecuado al menos 98% o lo más adecuado al menos 99% de identidad de secuencia de proteínas con cualquiera de las secuencias de proteínas descritas en el documento WO97/29131 (en especial con relación a D2E7) o en otras partes con relación al “adalimumab”. Como alternativa o además, la referencia en la presente al “adalimumab” puede incluir biosimilares que muestran al menos 75%, de modo adecuado al menos 80%, de modo adecuado al menos 85%, de modo adecuado al menos 90%, de modo adecuado al menos 95%, de modo adecuado al menos 96%, de modo adecuado al menos 97%, de modo adecuado al menos 98%, o del modo más adecuado al menos 99% de homología de secuencia de proteínas con cualquiera de las secuencias de proteínas descritas en el documento WO97/29131 (en especial con relación a D2E7) o en otras partes con relación al “adalimumab”. Como alternativa o además, un biosimilar puede tener un perfil de glicosilación (ligeramente) diferente, aunque la secuencia de proteína sea sustancialmente la misma o sea diferente en el grado especificado anteriormente.

El término “biosimilar” (también conocido como sustancia biológica de desarrollo) es muy conocido en la técnica, y los expertos en la técnica sabrán con facilidad cuándo una sustancia fármaco se considera un biosimilar del adalimumab. Además, estos “biosimilares” deben ser oficialmente aprobados como “biosimilar” antes de comercializar dicho “biosimilar” en el mercado. El término “biosimilar” se emplea en general para describir versiones posteriores (en general procedentes de una fuente diferente) de “productos biofarmacéuticos innovadores” (“productos biológicos”, cuya sustancia fármaco está fabricada por un organismo vivo o se obtiene de un organismo vivo o mediante metodologías de ADN recombinante o de expresión de genes controlada) cuya autorización de comercialización ha sido previamente concedida de modo oficial. Puesto que los productos biológicos tienen un alto grado de complejidad molecular y, en general, son sensibles a los cambios en los procesos de fabricación (por ejemplo, si se emplean distintas líneas celulares para su producción), y puesto que los posteriores fabricantes desarrolladores en general no tienen acceso al clon molecular de originador, al banco de células, al conocimiento con relación al proceso de fermentación y purificación ni a la propia sustancia fármaco activa (solo al producto de fármaco comercializado por el innovador), es probable que cualquier “biosimilar” no sea exactamente el mismo que el producto de fármaco del innovador.

Para los fines de diversos cálculos molares (por ejemplo, para las proporciones molares entre el adalimumab y otro componente de la composición farmacéutica líquida de la invención), se puede considerar que el peso molecular del adalimumab es de 144190,3 g/mol (peso molecular de referencia), basándose en los detalles descritos en la base de datos CAS para CAS n.º 331731-18-1, adalimumab, en el que se considera que la fórmula molecular es $C_{6428}H_{9912}N_{1694}O_{1987}S_{46}$. Como tal, puede considerarse que una composición farmacéutica líquida que contenga adalimumab 50 mg/ml sea una disolución de adalimumab 0,347 mM (o 347 μ M). No se pretende de ninguna forma limitar la naturaleza de cualquiera de los biosimilares del adalimumab incluidos en el alcance de la presente invención, ni el nivel de glicosilación, cualquiera de los cuales puede afectar al peso molecular real. Sin embargo, cuando un biosimilar sí tiene un peso molecular diferente, el peso molecular de referencia mencionado anteriormente puede utilizarse de modo adecuado para evaluar si este biosimilar se encuentra o no dentro del alcance de cualquiera de las definiciones molares estipuladas en esta memoria descriptiva. Así, debe calcularse el número de moles en un peso conocido de dicho biosimilar, solo para los fines de esta invención, empleando el peso molecular de referencia anterior.

En la presente, el término “tampón” o la expresión “disolución tampón” se refiere a una disolución en general acuosa que comprende una mezcla de un ácido (habitualmente un ácido débil, por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, una forma de imidazolio de la histidina) y su base conjugada (por ejemplo, una sal acetato o citrato, por ejemplo, acetato de sodio, citrato de sodio o histidina) o, como alternativa, una mezcla de una base (habitualmente una base débil, por ejemplo, histidina) y su ácido conjugado (por ejemplo, sal de histidina protonada). El pH de una “disolución tampón” cambia solo ligeramente después de la adición de una pequeña cantidad de una base o ácido fuerte, debido al “efecto tamponante” impartido por el “agente tamponante”.

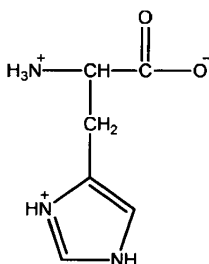
En la presente, un “sistema de tampón” comprende uno o más agentes tamponantes y/o uno de sus conjugados de ácido/base, y de modo más adecuado comprende uno o más agentes tamponantes y/o uno de sus conjugados de ácido/base, y del modo más adecuado comprende solo un agente tamponante y/o uno de sus conjugados de ácido/base. A menos que se indique lo contrario, cualquier concentración estipulada en la presente con relación a un “sistema de tampón” (es decir, una concentración de tampón) se refiere, de modo adecuado, a la concentración combinada del agente o agentes tamponantes y/o su conjugado o conjugados de ácido/base. En otras palabras, las concentraciones estipuladas en la presente con relación a un “sistema de tampón” se refieren, de modo adecuado, a la concentración combinada de todas las especies tamponantes pertinentes (es decir, las especies en equilibrio dinámico entre sí, por ejemplo, citrato/ácido cítrico). Como tal, una concentración concreta de un sistema de tampón de histidina en general se refiere a la concentración combinada de histidina y la forma de imidazolio de la histidina. Sin embargo, en el caso de la histidina, estas concentraciones habitualmente son fáciles de calcular, remitiéndose a las cantidades de entrada de la histidina o su sal. El pH global de la composición que comprende el sistema de tampón pertinente en general es un reflejo de la concentración de equilibrio de cada una de las especies tamponantes pertinentes (es decir, el equilibrio del agente o agentes tamponantes a su conjugado o conjugados de ácido/base).

En la presente, la expresión “agente tamponante” se refiere a un componente de ácido o de base (habitualmente un

ácido débil o una base débil) de un tampón o una disolución tampón. Un agente tamponante ayuda a mantener el pH de una disolución concreta en un valor predeterminado, o cercano a este, y los agentes tamponantes en general se eligen para complementar el valor predeterminado. Un agente tamponante es, de forma adecuada, un único compuesto que genera un efecto tamponante deseado, en especial cuando dicho agente tamponante se mezcla (y, de forma adecuada, es capaz de realizar un intercambio de protones) con una cantidad apropiada (que depende del pH predeterminado deseado) de su correspondiente “conjugado de ácido/base”, o la cantidad requerida de su correspondiente “conjugado de ácido/base” formada *in situ* (esto se puede lograr añadiendo un ácido o una base fuerte hasta que se alcanza el pH requerido). Como ejemplo:

- Un “agente tamponante” de histidina es la histidina en forma de aminoácido libre. Puesto que los aminoácidos, tal como la histidina, son anfóteros y, por tanto, son capaces de comportarse como un ácido y una base, el “agente tamponante” es simplemente el propio compuesto anfótero (de manera adecuada, en forma bipolar). Sin embargo, un sistema de tampón o una disolución tampón de histidina puede comprender opcionalmente, además de la histidina, una cantidad de un ácido (de forma adecuada un ácido fuerte, tal como ácido clorhídrico) o una base (de forma adecuada una base fuerte, tal como hidróxido de sodio) hasta que se alcanza el pH deseado. Como tal, una parte de la histidina presente puede mostrar un estado de protonación diferente que el aminoácido bipolar. En la presente, a menos que se indique lo contrario, cualquier concentración indicada con relación a un sistema de tampón de histidina se refiere, de modo adecuado, a la concentración combinada del agente tamponante (por ejemplo, histidina) y/o su conjugado o conjugados de ácido/base (por ejemplo, la forma de imidazolio de la histidina). Los expertos en la técnica podrán calcular con facilidad esta concentración, y pueden hacerlo remitiéndose simplemente a las cantidades de entrada de la histidina o su conjugado de ácido/base (por ejemplo, hidrocloreto de histidina). Estas concentraciones pueden calcularse remitiéndose a las concentraciones combinadas de agente o agentes tamponantes y conjugado o conjugados de ácido/base, cuando se forma un sistema de tampón simplemente mezclando un agente o agentes tamponantes y un conjugado o conjugados de ácido/base. Como alternativa, cuando un sistema de tampón se forma mezclando el agente o agentes tamponantes o un conjugado o conjugados de ácido/base con un ajustador de pH (por ejemplo, un ácido fuerte o una base fuerte) para producir una mezcla de cada, estas concentraciones pueden calcularse, de modo adecuado, remitiéndose a las cantidades/concentraciones de partida del agente o agentes tamponantes o del conjugado o conjugados de ácido/base, respectivamente. Por ejemplo, cuando un sistema de tampón se forma utilizando una cantidad/concentración conocida de histidina que se mezcla con un ajustador de pH (por ejemplo, hidróxido de sodio) hasta que se alcanza el pH deseado, la concentración del sistema de tampón puede calcularse remitiéndose a la cantidad inicial de histidina. De modo similar, esto mismo se aplica cuando un sistema de tampón se forma empleando una cantidad/concentración conocida de la sal imidazolio de histidina (por ejemplo, hidrocloreto de histidina) mezclada con un ajustador de pH (por ejemplo, hidróxido de sodio) hasta que se alcanza el pH deseado (en este caso la concentración del sistema de tampón puede calcularse remitiéndose a la cantidad inicial de sal imidazolio de histidina).

En la presente, un “conjugado de ácido/base” se refiere al ácido conjugado o a la base conjugada (lo que sea pertinente a un pH concreto, generalmente el ácido conjugado en el contexto de la presente invención) de un “agente tamponante” concreto. El conjugado de ácido/base de un agente tamponante de histidina (por ejemplo, histidina es, de modo adecuado, la forma de imidazolio de la histidina, de modo adecuado una sal imidazolio de histidina. La forma de imidazolio de la histidina puede denominarse en la presente “imidazolio-histidina”, y tiene la estructura:



Una sal imidazolio de la histidina puede denominarse sal de imidazolio-histidina, y tiene fundamentalmente la misma estructura que la mostrada anteriormente, excepto por un contraión asociado.

En la presente, la expresión “especie tamponante” se refiere a la especie concreta (excluyendo cualquier contraión o contraión asociado, es decir, no se toman en cuenta los contraiones cloruro o hidróxido para los sistemas de histidina/imidazolio-histidina) de un sistema de tampón concreto que están en equilibrio dinámico entre sí (e intercambian protones entre sí). Por ejemplo, la histidina e imidazolio-histidina juntos pueden constituir la “especie tamponante de histidina” de un “sistema de tampón de histidina”.

Puesto que a veces es difícil definir cantidades (absolutas o relativas) de un sistema de tampón remitiéndose al peso (puesto que el peso total depende del pH deseado, que afecta a la cantidad de contraiones presentes), en la

presente las cantidades basadas en el peso pueden determinar remitiéndose a un peso teórico de la “especie tamponante” pertinente. En general están presentes al menos dos especies en cualquier conjunto concreto de “especies tamponantes” (en cantidad relativas que solo pueden ser determinadas remitiéndose al pH), cada una con un peso molecular diferente (que habitualmente se diferencia solo en 1). Por tanto, para poder obtener referencias y cálculos del peso viables, para los fines de esta memoria descriptiva, el peso de cualquier conjunto concreto de “especies tamponantes” se indica como un valor teórico basado solo en una de las especies tamponantes, concretamente la especie tamponante más básica (es decir, la forma menos protonada en cualquier pH concreto). Así, el peso de un conjunto concreto de “especies tamponantes” se indica como el peso de los equivalentes de la especie básica. Como ejemplo, en un sistema de tampón de histidina, la especie tamponante de histidina puede consistir en histidina y cationes de imidazolio-histidina. El peso de la “especie tamponante” se calcula, por tanto, como si la histidina fuera la única especie presente en el sistema de tampón (aunque también esté presente el imidazolio-histidina, junto con la histidina). Así, cualquier referencia a un peso o a una proporción de peso que incluya a una “especie tamponante de histidina” se refiere, de modo adecuado, al peso teórico de los equivalentes de histidina dentro del sistema de tampón. Así, cuando una composición se forma añadiendo un ajustador de pH (por ejemplo, hidróxido de sodio) a una cantidad fijada de imidazolio-histidina, o a una cantidad fijada de histidina (que, de manera adecuada, puede formar alguna cantidad de imidazolio-histidina tras la disolución en el diluyente), el peso original de la histidina puede considerarse como el peso de la “especie tamponante”, independientemente del pH final. Como alternativa, si se conoce la concentración (es decir, la molaridad) de un sistema de tampón, esta puede convertirse en el peso de la “especie tamponante” remitiéndose al peso molecular de la forma más básica de la especie tamponante pertinente (por ejemplo, histidina), y no tomando en cuenta el hecho de que también están presentes cationes imidazolio-histidina.

A menos que se indique lo contrario, las referencias en la presente a un “aminoácido” o “aminoácidos”, tanto de modo específico (por ejemplo, arginina, histidina) o general (por ejemplo, cualquier aminoácido), en el contexto de su presencia o de otra forma dentro de composiciones (en especial, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención), se refieren al correspondiente aminoácido libre (independientemente de su estado de protonación y/o forma salina, aunque, por coherencia, las cantidades se calculan de modo adecuado remitiéndose al aminoácido libre *per se*). Esto puede incluir, de modo adecuado, aminoácidos naturales y/o artificiales. A menos que se indique lo contrario, estas referencias no pretenden referirse al resto o restos aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un compuesto mayor (en oposición a una composición que comprende múltiples compuestos), tal como un péptido o una proteína (en los que dichos restos aminoácidos están unidos a través de enlaces peptídicos). Así, aunque el adalimumab, siendo una proteína, contiene restos aminoácidos, no se considera que comprenda ningún “aminoácido libre”. Como ejemplo, una composición que se define como “sin arginina” no contiene arginina libre, pero sí puede incluir una o más proteínas (por ejemplo, adalimumab) que en sí mismas sí comprenden restos arginina.

A menos que se indique lo contrario, las referencias en la presente a uno cualquiera o más “aminoácidos”, tanto de modo específico como general, se refieren de modo adecuado a los L-estereoisómeros o a sus racematos, de modo más adecuado a L-aminoácidos.

La expresión “sustancialmente exento”, cuando se emplea con relación a un componente concreto de una composición (por ejemplo, “una composición farmacéutica líquida sustancialmente exenta de arginina”), se refiere a una composición a la cual no se ha añadido fundamentalmente ninguna cantidad de dicho componentes. Tal como se explicó anteriormente, esta referencia no tiene relación con la presencia de un resto o restos aminoácidos dentro de la estructura de una proteína. Cuando una composición está “sustancialmente exenta” de un componente concreto, dicha composición comprende de modo adecuado no más del 0,001% en peso de dicho componente, de modo adecuado no más del 0,0001% en peso de dicho componente, de modo adecuado no más del 0,000001% en peso de dicho componente, de modo adecuado no más del 0,0000001% en peso de dicho componente, del modo más adecuado no más del 0,0001 partes por mil millones (en peso).

La expresión “totalmente exento”, cuando se emplea con relación a un componente concreto de una composición (por ejemplo, “una composición farmacéutica líquida sustancialmente exenta de arginina”), se refiere a una composición que no contiene dicho componente. Tal como explicó anteriormente, esta referencia no tiene relación con la presencia de un resto o restos aminoácidos dentro de la estructura de una proteína.

En la presente, en el contexto de la presente memoria descriptiva, un “ácido fuerte” es, de forma adecuada, un ácido que tiene un pK_a de -1,0 o menor, mientras que un “ácido débil” es, de forma adecuada, un ácido que tiene un pK_a de 2,0 o mayor. En la presente, en el contexto de la presente memoria descriptiva, una “base fuerte” es, de forma adecuada, una base cuyo ácido conjugado tiene un pK_a de 12 o mayor (de modo adecuado, 14 o mayor), mientras que una “base débil” es, de forma adecuada, una base cuyo ácido conjugado tiene un pK_a de 10 o menor.

En la presente, un “estabilizante” se refiere a un componente que facilita el mantenimiento de la integridad estructural del fármaco biofarmacéutico, en particular durante la congelación y/o la liofilización y/o la conservación (en especial cuando se expone a un estrés). Este efecto estabilizante puede surgir por una diversidad de razones, aunque generalmente dichas estabilizantes pueden actuar como osmolitos que mitigan la desnaturalización de las proteínas. Los estabilizantes típicos incluyen aminoácidos (por ejemplo, aminoácidos libres que no son parte de un

péptido o de una proteína, por ejemplo, glicina, arginina, histidina, ácido aspártico, lisina) y estabilizantes de azúcar, tal como un poliol de azúcar (por ejemplo, manitol, sorbitol) y/o un disacárido (por ejemplo, trehalosa, sacarosa, maltosa, lactosa), aunque las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención incluyen un estabilizante, y al menos uno de los cuales es un estabilizante de azúcar (es decir, un poliol de azúcar o un disacárido). De forma más adecuada, dicho al menos un estabilizante de azúcar es un azúcar no reductor (tanto si es un poliol de azúcar como si es un disacárido).

En la presente, un “azúcar no reductor” es, en general, un azúcar sin restos aldehído o sin la capacidad de formar un resto aldehído (por ejemplo, mediante isomería).

En la presente, un “modificador de la tonicidad” o “tonificante” se refiere a un reactivo cuya inclusión dentro de una composición contribuye de forma adecuada (o aumenta) la osmolaridad y la osmolalidad global de la composición. De forma adecuada, un tonificante, tal como se emplea en la presente, incluye un agente que actúa para hacer que una disolución tenga características osmóticas similares a los fluidos fisiológicos.

En la presente, las referencias a cantidades específicas de un componente concreto de una composición, en especial un agente tamponante, un estabilizante, un aminoácido, un tensioactivo, o un tonificante, se refieren, de modo adecuado, a las cantidades de la forma anhidra pura del componente pertinente (o las composiciones formadas empleando dichas cantidades de la forma anhidra pura), aunque dicho componente puede utilizarse en una forma no anhidra cuando se forma la composición. Las cantidades de cualquiera de las correspondientes formas no anhidras (por ejemplo, monohidratos, dihidratos, etc.) pueden calcularse con facilidad simplemente empleando el multiplicador apropiado. Por ejemplo, a menos que se indique lo contrario (como en los ejemplos, en los que las cantidades se refieren a la trehalosa dihidrato), las cantidades estipuladas con relación a la trehalosa se refieren a la forma anhidra de la trehalosa (o las composiciones formadas empleando las cantidades/concentraciones estipuladas de la trehalosa anhidra), que tiene un peso molecular de 342,206 g/mol, y para calcular la correspondiente cantidad de trehalosa dihidrato necesaria para formar la misma composición (habría que añadir menos agua), es necesario multiplicar la cantidad estipulada por 378,33/342,296, puesto que el peso molecular de la trehalosa dihidrato es 378,33. Los expertos en la técnica comprenderán con facilidad cómo ajustar juiciosamente la cantidad de diluyente/agua, dependiendo de la forma de los componentes utilizados para obtener las concentraciones diana.

En la presente, la expresión “composición farmacéutica” se refiere a una formulación de un principio activo farmacéutico que hace que la actividad biológica del ingrediente activo sea terapéuticamente eficaz, pero no incluye otros ingredientes que sean obviamente tóxicos para un sujeto al cual se tiene previsto administrar la formulación.

En la presente, el término “estable” en general se refiere a la estabilidad física y/o la estabilidad química y/o la estabilidad biológica de un componente, generalmente un principio activo o una composición de este, durante la conservación/almacenamiento.

Se apreciará que las referencias a “tratar” o “tratamiento” incluyen la profilaxis, así como el alivio de síntomas establecidos de un trastorno. Por tanto, “tratar” o “tratamiento” de un estado, trastorno o afección incluye: (1) prevenir o retrasar la aparición de síntomas clínicos del estado, trastorno o afección que se desarrollan en un ser humano que puede padecer o está predispuesto a ese estado, trastorno o afección, pero que aún no sufre ni muestra síntomas clínicos o subclínicos del estado, trastorno o afección, (2) inhibir el estado, trastorno o afección, es decir, detener, reducir o retrasar el desarrollo de la enfermedad o una recaída de la misma (en el caso de un tratamiento de mantenimiento) o al menos uno de sus síntomas clínicos o subclínicos, o (3) aliviar o atenuar la enfermedad, es decir, provocar la regresión del estado, trastorno o afección o al menos uno de sus síntomas clínicos o subclínicos.

En el contexto de la presente invención, una “cantidad terapéuticamente eficaz” o una “cantidad eficaz” del anticuerpo significa una cantidad que es eficaz, cuando se administra a un mamífero para tratar una enfermedad o un trastorno, en un aspecto profiláctico y terapéutico, y el anticuerpo es eficaz para el tratamiento de las enfermedades implicadas.

La “cantidad terapéuticamente eficaz” puede variar dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad, y de la edad, peso, etc., del mamífero que se está tratando.

La expresión “TNF- α humano” se refiere a la citoquina humana que existe en una forma segregada de 17 kD y una forma asociada a membranas de 26 kDa y, en una forma biológicamente activa, el TNF- α puede observarse como un trímero de una molécula de 17 kD unida covalentemente. Su estructura específica puede encontrarse en Pennica, D. et al. (1984), *Nature*, 312:724-729; Davis, J. M. et al. (1987), *Biochemistry*, 26, 1322-1326; y Jones, E. Y. et al. (1989), *Nature*, 338:225-228.

La expresión “anticuerpo recombinante humano” pretende incluir un anticuerpo humano preparado, expresado, producido o aislado utilizando un método recombinante.

En la presente, las cantidades estipuladas para los componentes e ingredientes, especificadas en términos de “partes”, ppm (partes por millón), porcentajes (%), por ejemplo, % en peso) o proporciones, pretender ser en peso, a

menos que se indique lo contrario.

Cuando la cantidad o la concentración de un componente particular de una composición concreta se especifica como un porcentaje en peso (% en peso o % en p/p), dicho porcentaje en peso se refiere al porcentaje de dicho componente en peso con relación al peso total de la composición como un todo. Los expertos en la técnica entenderán que la suma de los porcentajes en peso de todos los componentes de una composición (tanto si se especifican como si no) sumarán un total del 100% en peso. Sin embargo, cuando no se listan todos los componentes (por ejemplo, cuando se dice que las composiciones “comprenden” uno o más componentes particulares), el resto del porcentaje en peso opcionalmente puede llevarse al 100% en peso con ingredientes no especificados (por ejemplo, un diluyente, tal como agua, u otros aditivos adecuados aunque no fundamentales).

En la presente, a menos que se indique lo contrario, el término “partes” (por ejemplo, partes en peso, pep), cuando se emplea con relación a múltiples ingredientes/componentes, se refiere a las proporciones relativas entre dichos múltiples ingredientes/componentes. La expresión de las proporciones molares o en peso de dos, tres o más componentes produce el mismo efecto (por ejemplo, una proporción molar de x, y e z es $x_1:y_1:z_1$, respectivamente, o un intervalo $x_1-x_2:y_1-y_2:z_1-z_2$). Aunque, en muchas realizaciones, las cantidades de los componentes individuales dentro de una composición pueden indicarse como un valor de “% en peso”, en realizaciones alternativas, cualquiera o todos estos valores de porcentaje en peso pueden convertirse en partes en peso (o proporciones relativas) para definir una composición de múltiples componentes. Esto es así debido a que las proporciones relativas entre los componentes a menudo son más importantes que sus concentraciones absolutas en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención. Cuando una composición que comprende múltiples ingredientes se describe en términos de partes en peso solamente (es decir, para indicar solo las proporciones relativas de los ingredientes), no es necesario estipular las cantidades o concentraciones absolutas de dichos ingredientes (tanto *in toto* como individualmente), porque las ventajas de la invención pueden surgir de las proporciones relativas de los respectivos ingredientes, y no de sus cantidades o concentraciones absolutas. Sin embargo, en ciertas realizaciones, estas composiciones consisten fundamentalmente o consisten en los ingredientes estipulados y un diluyente (por ejemplo, agua).

Cuando se dice que una composición comprende una pluralidad de ingredientes estipulados (opcionalmente en cantidades estipuladas de concentraciones), dicha composición puede incluir opcionalmente otros ingredientes además de los estipulados. Sin embargo, en ciertas realizaciones, una composición que se dice que comprende una pluralidad de ingredientes estipulados puede, de hecho, consistir fundamentalmente o consistir en todos los ingredientes estipulados.

En la presente, cuando se dice que una composición “consiste fundamentalmente” en un componente particular, dicha composición comprende, de forma adecuada, al menos 70% en peso de dicho componente, de forma adecuada al menos 90% en peso de este, de forma adecuada al menos 95% en peso de este, de la forma más adecuada al menos 99% en peso de este. De forma adecuada, una composición que se dice que “consiste fundamentalmente” en un componente particular consiste en dicho componente, excepto por una o más impurezas traza.

En la presente, la expresión “tamaño de partícula” o “tamaño de poro” se refiere, respectivamente, a la longitud de la dimensión más larga de una partícula o poro concreto. Ambos tamaños pueden medirse empleando un analizador del tamaño de partícula por láser y/o un microscopio electrónico (por ejemplo, un microscopio electrónico de efecto túnel, TEM, o un microscopio de barrido electrónico, SEM). El recuento de las partículas (para cualquier tamaño concreto) puede obtenerse empleando los protocolos y el equipo indicado en los ejemplos, que se refieren al recuento de partículas subvisibles.

Composición farmacéutica líquida

La presente invención proporciona una composición farmacéutica líquida, según se define en las reivindicaciones adjuntas. De forma ventajosa, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas líquidas alternativas y mejoradas, que en general muestran mejor estabilidad y viabilidad que las de la técnica anterior. Tal como se ilustra en la presente (véanse los ejemplos), las formulaciones farmacéuticas líquida de la presente invención tienen unas características comparables o mejoradas, cuando se comparan con las formulaciones convencionales de adalimumab, por ejemplo, la formulación disponible en el mercado Humira®, cuando se someten a diferentes condiciones de estrés (térmico, mecánico y lumínico). Su actuación también es en general comparable o mejor que muchas otras formulaciones comparativas que se sometieron a los mismos ensayos de estrés. Puesto que estas condiciones de estrés son muy representativas del tipo de estrés al que se someten estas formulaciones durante la fabricación, el transporte y la conservación, proporcionan una excelente indicación de las ventajas de la invención. El hecho de que esta buena actuación de estabilidad puede lograrse utilizando formulaciones menos complejas con menos excipientes se considera sorprendente, a la vista de las indicaciones generales de la técnica anterior.

Adalimumab

El adalimumab, que está disponible en el mercado en las formulaciones HUMIRA®, y su método de fabricación, se describe en el documento WO97/29131 (BASF) como D2E7, y en otras partes en la técnica. Se describe como que

presenta “un dominio CDR3 de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3, y un dominio CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4” (documento WO97/29131). Además, el anticuerpo D2E7 se describe como que presenta una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1, y una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:2 (documento WO97/29131).

Las indicaciones médicas y la función del adalimumab se aclararon en la presente anteriormente.

En el contexto de la invención, “adalimumab” incluye los biosimilares, según se definió anteriormente en la presente, y los expertos en la técnica apreciarán con facilidad el alcance del término “adalimumab” en el contexto de la invención.

El adalimumab está presente a una concentración de aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mg/ml. En una realización, el adalimumab está presente a una concentración de aproximadamente 50 mg/ml.

Tampón, agente tamponante y pH

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida es una disolución tamponada cuyo pH es estabilizado por un agente tamponante (o sistema de tampón), de forma adecuada en combinación con un conjugado de ácido/base del agente tamponante. Así, la composición farmacéutica líquida comprende, de modo adecuado, un agente tamponante tal como se define en la presente. Preferiblemente, la composición farmacéutica líquida comprende además un conjugado de ácido/base, en el que dicho conjugado de ácido/base se corresponde con el ácido conjugado o la base conjugada del agente tamponante, dependiendo de que el agente tamponante sea, en sí mismo, una base o un ácido, respectivamente. De manera colectiva, el agente tamponante y su conjugado de ácido/base pueden considerarse un “sistema de tampón”. Así, la composición farmacéutica líquida comprende, de forma adecuada, un “sistema de tampón” (que comprende, de forma adecuada, un agente o agentes tamponantes y un conjugado o conjugados de ácido/base de estos), y cualquier concentración estipulada con relación al sistema de tampón en general se refiere a las concentraciones combinadas del agente o agentes tamponantes y cualquiera de sus conjugados de ácido/base. Cualquier “sistema de tampón” comprende, de forma adecuada, un ácido débil y una base débil (véanse las anteriores definiciones).

El agente tamponante es un agente tamponante de histidina. De modo adecuado, el agente tamponante de histidina es la histidina (o una de sus sales), de la forma más adecuada histidina libre (por ejemplo, histidina bipolar).

La composición farmacéutica líquida comprende un conjugado de ácido/base del agente tamponante. Esto es menos sencillo para agentes tamponantes de histidina que para muchos otros sistemas de tampón de ácido carboxílico/carboxilato habituales, puesto que el resto imidazol de la histidina significa que la histidina en general existe en una disolución acuosa como una mezcla en equilibrio de formas protonadas (imidazolio) y desprotonadas (imidazol libre) a unos pH entre 6-7. La forma protonada (imidazolio) de la histidina puede asociarse con uno o más aniones farmacéuticamente aceptables, que incluyen aniones tales como hidróxido o cloruro, aunque la forma de imidazolio puede existir además, o como alternativa, en un diluyente (por ejemplo, agua) como un catión solvatado. Así, la forma protonada (imidazolio) de la histidina puede considerarse un conjugado de ácido/base de la histidina, puesto que representa el ácido conjugado de la histidina. Este ácido conjugado de la histidina tiene, de forma adecuada, ambos grupos amino e imidazolio protonados, pero el grupo carboxilato está desprotonado, y esto produce una carga neta positiva de +1. La combinación del agente tamponante y su conjugado de ácido/base constituye un sistema de tampón. De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el agente tamponante y su correspondiente conjugado de ácido/base, de manera adecuada de tal forma que el agente tamponante y su conjugado de ácido/base juntos están presentes a un nivel (es decir, concentración o cantidad absoluta) y en una cantidad relativa (o concentración) suficiente para proporcionar el pH deseado a la composición. El sistema de tampón puede formarse simplemente mezclando el agente tamponante (por ejemplo, histidina) con su conjugado de ácido/base (por ejemplo, la forma de sal imidazolio de la histidina, por ejemplo, monohidrocloreto de histidina), de modo adecuado en cantidades apropiadas para lograr una composición con el pH deseado. Como alternativa, el sistema de tampón puede formarse mezclando un ácido o una base con el agente tamponante o con su conjugado de ácido/base para formar *in situ* la mezcla deseada de agente tamponante y conjugado de ácido/base. Por ejemplo, el sistema de tampón puede formarse añadiendo una base (por ejemplo, hidróxido de sodio) al agente tamponante (por ejemplo, histidina, que puede autoequilibrarse inmediatamente cuando se disuelve en agua para producir histidina y su ácido conjugado), de forma adecuada en una cantidad apropiada para lograr el pH deseado y la mezcla del agente tamponante (por ejemplo, histidina) y el correspondiente conjugado de ácido/base (es decir, la forma de sal de imidazolio de la histidina). Como alternativa, puede emplearse cualquier método para formar el sistema de tampón, y el pH puede ajustarse juiciosamente añadiendo más ácido (de modo adecuado, un ácido fuerte, tal como HCl) o más base (de modo adecuado, una base fuerte, tal como hidróxido de sodio) hasta que se alcanza el pH requerido.

Tal como se indicó anteriormente, puede utilizarse un “ajustador de pH” junto con la histidina (o una sal de imidazolio de la histidina, por ejemplo, hidrocloreto de histidina) para obtener un pH deseado. El ajustador de pH puede ser un ácido fuerte o una base fuerte, aunque preferiblemente es una base fuerte, tal como hidróxido de sodio.

El sistema de tampón es un sistema de tampón de histidina, que de forma adecuada comprende histidina en equilibrio con su forma de imidazolio.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende como máximo un agente tamponante. De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende como máximo un sistema de tampón.

- 5 La composición farmacéutica líquida tiene un pH entre 6,3 y 6,5. En una realización concreta, la composición farmacéutica líquida tiene un pH de aproximadamente 6,4.

El sistema de tampón está presente a una concentración de entre 5 y 14 mM, de forma más adecuada a aproximadamente 10 mM. En una realización, el sistema de tampón/agente o agentes tamponantes están presentes a una concentración de 10 mM. Esto incluye, de modo adecuado, cuando el "agente o agentes tamponantes" (por ejemplo, histidina) se forman mediante la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del agente o agentes tamponantes (por ejemplo, la forma de imidazolio de la histidina).

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende la especie tamponante (de modo adecuado, la especie tamponante de histidina, por ejemplo, la propia histidina) a una concentración de aproximadamente 0,31 mg/ml a aproximadamente 7,8 mg/ml. En una realización, la especie tamponante está presente a una concentración de entre 0,77 mg/l y 2,2 mg/ml, del modo más adecuado a aproximadamente 1,55 mg/ml. En una realización, el sistema de tampón/agente tamponante está presente a una concentración de 1,55 mg/ml. Esto incluye el caso en el que el "agente tamponante" (por ejemplo, histidina) se forma mediante la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del agente tamponante (por ejemplo, la forma de imidazolio de la histidina).

De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida comprende el sistema de tampón (de modo adecuado, el sistema de tampón de histidina) en una proporción molar de sistema de tampón a adalimumab de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 145:1. En una realización, el sistema de tampón está presente en una proporción molar de sistema de tampón a adalimumab de aproximadamente 14:1 a aproximadamente 40:1, de la forma más adecuada de aproximadamente 29:1. En una realización, el sistema de tampón/agente o agentes tamponantes están presentes a una concentración de 29:1. Esto incluye el caso en el que el "agente o agentes tamponantes" (por ejemplo, histidina) se forman mediante la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del agente tamponante (por ejemplo, la forma de imidazolio de la histidina).

Tal como se ilustra en la sección de los ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un agente tamponante de histidina/sistema de tampón de histidina tienen una actuación particularmente buena en los ensayos de estrés, en especial con relación a la fragmentación y el desplegamiento de proteínas, que pueden ser indicadores importantes de la estabilidad y la viabilidad del producto de fármaco. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas cuyo sistema de tampón de histidina mantiene un pH constante de 6,4 tienen una actuación particularmente buena.

Estabilizante de azúcar

La composición farmacéutica líquida comprende un estabilizante, en particular un estabilizante de azúcar. De modo adecuado, dicho componente facilita el mantenimiento de la integridad estructural del fármaco biofarmacéutico, en particular durante la congelación y/o la liofilización y/o la conservación (en especial cuando se expone a un estrés).

La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más estabilizantes de azúcar, aunque en las realizaciones preferidas solo está presente un único estabilizante de azúcar.

El estabilizante de azúcar es la trehalosa. La trehalosa es un estabilizante de azúcar particularmente ventajoso para su uso junto con un agente tamponante de histidina/sistema de tampón de histidina en formulaciones de adalimumab líquidas.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende como máximo un estabilizante de azúcar, de modo adecuado como máximo un poliol de azúcar y/o un disacárido. De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida comprende trehalosa como el único estabilizante de azúcar.

De modo adecuado, la trehalosa utilizada para formar la composición farmacéutica líquida es la trehalosa dihidrato, aunque, de modo adecuado, cualquier cantidad estipulada con relación a la trehalosa (a menos que se indique lo contrario, tal como sucede en los ejemplos) se refiere a la trehalosa anhidra pura. Esta cantidad puede convertirse en una cantidad de trehalosa dihidrato aplicando un multiplicador apropiado. Además, para evaluar si una formulación concreta está dentro del alcance de cualquiera de las definiciones de la cantidad de trehalosa ofrecidas en la presente, una cantidad de trehalosa dihidrato puede convertirse con facilidad en la correspondiente cantidad de trehalosa anhidra pura (con un número igual de moles) aplicando dicho multiplicador a la inversa. Este principio puede adoptarse para cualquier componente de estabilizante de azúcar. Por supuesto, las concentraciones, cuando se indican como concentración molar, serán las mismas independientemente del estado de hidratación del estabilizante de azúcar.

El estabilizante o estabilizantes de azúcar están presentes a una concentración de entre 190 y 210 mM, de la forma

más adecuada a aproximadamente 200 mM. En una realización, la trehalosa está presente a una concentración de 200 mM.

De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida comprende el estabilizante o estabilizantes de azúcar (de forma más adecuada la trehalosa) a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 140 mg/ml, de forma más adecuada de aproximadamente 35 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml, de forma más adecuada de aproximadamente 45 mg/ml a aproximadamente 80 mg/ml. En una realización, el estabilizante o estabilizantes de azúcar están presentes a una concentración de aproximadamente 65 mg/ml a 72 mg/ml, de la forma más adecuada a aproximadamente 68 mg/ml. En una realización particular, la trehalosa está presente a una concentración de aproximadamente 68 mg/ml (que es igual a aproximadamente 75,7 mg/ml de trehalosa dihidrato).

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el estabilizante o estabilizantes de azúcar (de forma más adecuada la trehalosa) en una proporción molar de estabilizante o estabilizantes de azúcar a adalimumab de aproximadamente 145:1 a aproximadamente 1150:1, de modo más adecuado de aproximadamente 290:1 a aproximadamente 860:1, de modo más adecuado de aproximadamente 430:1 a aproximadamente 720:1. En una realización, el estabilizante o estabilizantes de azúcar están presentes en una proporción molar de estabilizante o estabilizantes de azúcar a adalimumab de aproximadamente 550:1 a aproximadamente 605:1, de modo más adecuado a aproximadamente 576:1. En una realización, la trehalosa está presente a una proporción molar de trehalosa a adalimumab de aproximadamente 576:1.

Tal como se ilustra en la sección de los ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un estabilizante de azúcar según se define en la presente tienen una actuación particularmente buena en los ensayos de estrés, en especial con relación a la agregación, la fragmentación y el desplegamiento de proteínas, que pueden ser indicadores importantes de la estabilidad y la viabilidad del producto de fármaco. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden trehalosa como estabilizante de azúcar actuación particularmente buena.

Diluyente

Las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención pueden incluir uno cualquiera o más diluyentes farmacéuticamente aceptables, o sus mezclas. Sin embargo, de modo más adecuado, la composición farmacéutica líquida es una composición farmacéutica acuosa. De la forma más adecuada, el diluyente es agua, y de modo adecuado, solo agua. El agua es, de modo adecuado, agua para inyección (WFI).

De modo adecuado, el diluyente puede constituir el resto de los ingredientes en cualquiera composición farmacéutica líquida, por ejemplo, de modo que el porcentaje en peso equivalga al 100%. De modo adecuado, cualquier concentración indicada en la presente con relación a cualquier componente de la composición farmacéutica líquida representa la concentración de dicho componente en el diluyente (y, de modo adecuado, disuelto en él) mezclado con cualquier otro componente.

La composición farmacéutica líquida de la invención es, de modo adecuado, una disolución, y está, de modo adecuado, sustancial o totalmente exenta de partículas o precipitados.

Componentes ausentes o presente a un nivel bajo

Arginina ausente o presente a un nivel bajo

La composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de arginina (de modo adecuado, L-arginina) o comprende arginina a una concentración máxima de 0,001 mM.

De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de arginina o comprende arginina en una proporción molar de arginina a agente tamponante (o sistema de tampón) como máximo de 1:150 (es decir, menor o igual a un mol de arginina por cada 150 moles de agente tamponante o sistema de tampón), de forma más adecuada como máximo de 1:1500, de la forma más adecuada como máximo de 1:15.000.

De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de arginina o comprende arginina en una proporción en peso de arginina a adalimumab como máximo de 1:3000 (es decir, menor o igual a una parte en peso de arginina por cada 3000 partes en peso de adalimumab), de forma más adecuada como máximo de 1:30.00, de la forma más adecuada como máximo de 1:300.000.

De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de arginina o comprende arginina en una proporción molar de arginina a adalimumab como máximo de 1:3,75 (es decir, menor o igual a un mol de arginina por cada 3,75 moles de adalimumab), de forma más adecuada como máximo de 1:37,5, de la forma más adecuada como máximo de 1:375.

Tal como se explica en la presente, la referencia a "arginina" en el contexto de su presencia o de otra forma dentro de composiciones farmacéuticas líquidas se refiere al correspondiente aminoácido o aminoácidos libres, no al resto o restos aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un compuesto mayor, tal como un péptido o una

proteína.

Tal como se ilustra en la sección de los ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que excluyen sustancial o totalmente a la arginina tienen una actuación particularmente buena en los ensayos de estrés, en especial con relación a la agregación, la fragmentación y el desplegamiento de proteínas.

5 Aminoácidos ausentes o presentes a un nivel bajo

La composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de aminoácidos distintos de la histidina (que, de modo adecuado, es el agente tamponante) o comprende uno o más aminoácidos distintos de la histidina en una concentración (colectiva) como máximo de 0,001 mM.

10 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de aminoácidos distintos de la histidina o comprende uno o más aminoácidos distintos de la histidina en una proporción molar (colectiva) de aminoácidos a agente tamponante (o sistema de tampón) como máximo de 1:150 (es decir, menor o igual a un mol de aminoácidos distintos de la histidina por cada 150 moles de agente tamponante o sistema de tampón), de forma más adecuada como máximo de 1:1500, de la forma más adecuada como máximo de 1:15.000.

15 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de aminoácidos distintos de la histidina o comprende uno o más aminoácidos distintos de la histidina en una proporción en peso (colectiva) de aminoácidos a adalimumab como máximo de 1:3000 (es decir, menor o igual a una parte en peso de aminoácidos distintos de la histidina por cada 3000 partes en peso de adalimumab), de forma más adecuada como máximo de 1:30.000, de la forma más adecuada como máximo de 1:300.000.

20 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de aminoácidos distintos de la histidina o comprende uno o más aminoácidos distintos de la histidina en una proporción molar (colectiva) de aminoácidos a adalimumab como máximo de 1:3,75 (es decir, menor o igual a un mol de aminoácidos distintos de la histidina por cada 3,75 moles de adalimumab), de forma más adecuada como máximo de 1:37,5, de la forma más adecuada como máximo de 1:375.

25 Tal como se explica en la presente, la referencia a "aminoácidos" en el contexto de su presencia o de otra forma dentro de composiciones farmacéuticas líquidas se refiere al correspondiente aminoácido o aminoácidos libres, no al resto o restos aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un compuesto mayor, tal como un péptido o una proteína.

30 De forma adecuada, los aminoácidos indicados en esta sección (y que se considera que están ausentes o están presentes en baja cantidad) pueden ser aminoácidos naturales y/o artificiales, aunque preferiblemente son aminoácidos naturales. En particular, las composiciones farmacéuticas líquidas están sustancial o totalmente exentas de cualquier aminoácido seleccionado del grupo que incluye: arginina, lisina y ácido aspártico; o comprenden uno o más de los anteriores aminoácidos en una cantidad, concentración, proporción molar o proporción en peso tal como se definió anteriormente en la presente con relación al "aminoácido o aminoácidos distintos de la histidina".

35 Tal como se ilustra en la sección de los ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que están sustancial o totalmente exentas de aminoácidos distintos de la histidina o de ciertos aminoácidos, tal como se definió anteriormente, tienen una actuación particularmente buena en los ensayos de estrés, en especial con relación a la agregación, la fragmentación y el desplegamiento de proteínas.

Tensioactivos ausentes o presentes a un nivel bajo

40 La composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de tensioactivos (catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una concentración (colectiva) como máximo de 0,0001 mM. De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de tensioactivos (catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una proporción molar (colectiva) de tensioactivo o tensioactivos a agente tamponante (o sistema de tampón) como máximo de 1:10, de modo más adecuado como máximo de 1:100, de modo más adecuado como máximo de 1:1000, de modo más adecuado como máximo de 1:10.000, de modo adecuado como máximo de 1:100.000.

50 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de tensioactivos (catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una proporción en peso (colectiva) de tensioactivo o tensioactivos a adalimumab como máximo de 1:50 (es decir, menor o igual a una parte en peso de tensioactivo o tensioactivos por cada 50 partes en peso de adalimumab), de modo más adecuado como máximo de 1:500, de modo más adecuado como máximo de 1:5000, de modo más adecuado como máximo de 1:50.000, de modo adecuado como máximo de 1:500.000.

55 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de tensioactivos (catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una proporción molar (colectiva) de tensioactivo o tensioactivos a adalimumab como máximo de 3:1, de modo más adecuado como

máximo de 0,3:1, de modo más adecuado como máximo de 0,003:1, de modo más adecuado como máximo de 0,0003:1, de modo adecuado de 0,00003:1.

De modo adecuado, los tensioactivos indicados en esta sección (y que se considera que están ausentes o están presentes en baja cantidad) pueden ser tensioactivos catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos.

- 5 Tal como se ilustra en la sección de los ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que están sustancial o totalmente exentas de tensioactivo o de ciertos tensioactivos, tal como se definió anteriormente, tienen una actuación particularmente buena en los ensayos de estrés, en especial con relación a la agregación, la fragmentación y el desplegamiento de proteínas.

Fosfato ausente o presente a un nivel bajo

- 10 La composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de agentes tamponantes de fosfato (por ejemplo, dibifosfato de sodio, bifosfato de disodio) o comprende un sistema de tampón fosfato en una concentración como máximo de 0,001 mM.

- 15 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de agentes tamponantes de fosfato (por ejemplo, dibifosfato de sodio, bifosfato de disodio) o comprende un sistema de tampón fosfato en una proporción molar de sistema de tampón fosfato a cualquiera de los sistemas de tampón que no son fosfato presentes como máximo de 1:150 (es decir, menor o igual a un mol de sistema de tampón fosfato por cada 150 moles del sistema de tampón que no es fosfato presente), de forma más adecuada como máximo de 1:1500, de la forma más adecuada como máximo de 1:15.000.

- 20 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida está sustancial o totalmente exenta de agentes tamponantes de fosfato o comprende un sistema de tampón fosfato en una proporción molar de sistema de tampón fosfato a adalimumab como máximo de 1:3,75 (es decir, menor o igual a un mol de sistema de tampón fosfato por cada 3,75 moles de adalimumab), de forma más adecuada como máximo de 1:37,5, de la forma más adecuada como máximo de 1:375.

- 25 Las referencias a "agentes tamponantes de fosfato" en el contexto de su presencia o de otra forma dentro de composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a cualquier sal fosfato en cualquier forma o estado de protonación, que incluye fosfato, monobifosfato y dibifosfato. Sin embargo, se excluyen, de modo adecuado, cualquier resto o restos fosfato que puedan estar incorporados covalentemente como parte de un compuesto mayor, tal como una proteína o un péptido fosforilados o glicosilados.

- 30 Tal como se ilustra en la sección de los ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que están sustancial o totalmente exentas de agentes tamponantes de fosfato tienen una actuación particularmente buena en los ensayos de estrés, en especial con relación a la agregación, la fragmentación y el desplegamiento de proteínas.

Componentes adicionales opcionales

Tonificante

- 35 La composición farmacéutica líquida de la invención comprende un "modificador de la tonicidad" (o "tonificante") o uno o más tonificantes, de modo adecuado tal como se definen en la presente.

- 40 La inclusión de un tonificante contribuye de modo adecuado (o aumenta) la osmolalidad y la osmolaridad global de la composición. De forma adecuada, un tonificante está presente dentro de la composición en una cantidad o una concentración suficiente para que la composición sea (sustancialmente) isotónica con los fluidos corporales. De modo adecuado, un tonificante está presente dentro de la composición en una cantidad o una concentración suficiente para que la composición tenga una osmolaridad o una osmolalidad dentro de un intervalo definido en la presente.

De modo adecuado, el tonificante o tonificantes son no tamponantes (es decir, no produce o produce poco efecto tamponante). Así, cualquier tonificante de sal metálica es, de modo adecuado, un agente no tamponante.

- 45 La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más tonificantes, aunque preferiblemente solo está presente un único "tonificante" (no obstante de cualquier efecto tonificante impartido a la composición por componentes previstos para que tengan otra función, según se define en la presente).

El tonificante es o comprende cloruro de sodio. En una realización particular, el tonificante es cloruro de sodio. El cloruro de sodio es un estabilizante particularmente ventajoso para su uso junto con un agente tamponante de histidina/sistema de tampón de histidina en formulaciones de adalimumab líquidas.

- 50 El tonificante o tonificantes están presentes a una concentración de entre 40 y 60 mM, de la forma más adecuada de aproximadamente 50 mM. En una realización, el cloruro de sodio está presente a una concentración de 50 mM.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el tonificante o tonificantes (de la forma más

adecuada, cloruro de sodio) a una concentración de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 12 mg/ml, de forma más adecuada de aproximadamente 1,2 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, de forma más adecuada de aproximadamente 1,5 mg/ml a aproximadamente 4,4 mg/ml. En una realización, el tonificante o tonificantes están presentes a una concentración entre 2,7 mg/ml y 3,1 mg/ml, de la forma más adecuada a aproximadamente 2,9 mg/ml. En una realización concreta, el cloruro de sodio está presente a una concentración de aproximadamente 2,9 mg/ml.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el tonificante o tonificantes (de la forma más adecuada, cloruro de sodio) en una proporción molar de tonificante a adalimumab de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 580:1, de forma más adecuada de aproximadamente 60:1 a aproximadamente 290:1, de forma más adecuada de aproximadamente 70:1 a aproximadamente 220:1. En una realización, el tonificante o tonificantes están presentes a una proporción molar de tonificante a adalimumab de aproximadamente 115:1 a aproximadamente 175:1, de la forma más adecuada a aproximadamente 145:1. En una realización, el cloruro de sodio está presente a una proporción molar de cloruro de sodio a adalimumab de aproximadamente 145:1.

Tal como se ilustra en la sección de los ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un tonificante tal como se define en la presente tienen una actuación particularmente buena en los ensayos de estrés, en especial con relación a la agregación, la fragmentación y el desplegamiento de proteínas, que pueden ser indicadores importantes de la estabilidad y la viabilidad del producto de fármaco. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden cloruro de sodio, en particular en el intervalo de cantidad estipulado, tienen una actuación particularmente buena.

Otros parámetros relacionados con la invención

Osmolalidad

De modo adecuado, la osmolalidad de la composición farmacéutica líquida está entre 200 y 400 mOsm/kg, de modo más adecuado entre 220 y 390 mOsm/kg, de modo más adecuado entre 230 y 350 mOsm/kg, de modo más adecuado entre 240 y 340 mOsm/kg, de modo más adecuado entre 260 y 320 mOsm/kg, del modo más adecuado entre 280 y 310 mOsm/kg. De forma adecuada, las concentraciones y cantidades relativas de los diversos componentes de la composición pueden ajustarse juiciosamente para lograr la osmolalidad deseada, y la nueva combinación concreta de componentes permite lograrlo en gran medida sin socavar otros parámetros importantes. Sin embargo, de modo adecuado, las concentraciones y cantidades relativas de los diversos componentes de la composición pueden seleccionarse para optimizar otros parámetros; la presente descripción, incluyendo los ejemplos y los protocolos indicados en ellos, permite a los expertos en la técnica lograr este objetivo y realizar algunos o todos los beneficios de la presente invención.

Temperatura de desplegamiento de las proteínas

De modo adecuado, la temperatura de desplegamiento de las proteínas (medida, de modo adecuado, mediante los protocolos de DSF definidos en la presente) del adalimumab en la composición farmacéutica líquida de la invención es mayor o igual a 65 °C, de modo más adecuado mayor o igual a 70 °C. La nueva combinación de componentes presente en la composición de la invención permite a los expertos en la técnica lograr unas temperaturas de desplegamiento altas, que pueden considerarse deseables desde el punto de vista de la estabilidad térmica.

Parámetros cuando se produce un estrés térmico

De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de agregados (derivados, de modo adecuado, del adalimumab y determinados, de modo adecuado, mediante los protocolos de SE-HPLC definidos en la presente) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40 °C) a lo largo de un periodo de 28 días, de modo adecuado en no más de un factor de 3, de modo adecuado en no más de un factor de 2,5, de modo adecuado en no más de un factor de 2,2.

De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de fragmentos (derivados, de modo adecuado, del adalimumab y medidos, de modo adecuado, mediante los protocolos de Bioanalyzer definidos en la presente) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40 °C) a lo largo de un periodo de 28 días, de modo adecuado en no más de un factor de 3, de modo adecuado en no más de un factor de 2,5, de modo adecuado en no más de un factor de 2,2.

De modo adecuado, la turbidez (medida, de modo adecuado, mediante nefelometría según los protocolos definidos en la presente) de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40 °C) a lo largo de un periodo de 28 días, de modo adecuado en no más de un factor de 1,5, de modo adecuado en no más de un factor de 1,2, y de modo adecuado la

turbidez no aumenta en absoluto.

- 5 De modo adecuado, el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (aumenta o disminuye, aunque en general disminuye) en no más de un 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a un estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40 °C) a lo largo de un periodo de 28 días, de modo adecuado en no más de 0,2 unidades de pH, de modo adecuado en no más de 0,1 unidades de pH, y del modo más adecuado el pH no cambia en absoluto (hasta un decimal).

Parámetros cuando se produce un estrés mecánico

- 10 De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de agregados (derivados, de modo adecuado, del adalimumab y determinados, de modo adecuado, mediante los protocolos de SE-HPLC definidos en la presente) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés mecánico (es decir, se agita según los protocolos indicados en la presente) a lo largo de un periodo de 48 horas, de modo adecuado en no más de un factor de 1,5, de modo adecuado en no más de un factor de 1,2, de modo adecuado en no más de un factor de 1,1.

- 15 De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de fragmentos (derivados, de modo adecuado, del adalimumab y medidos, de modo adecuado, mediante los protocolos de Bioanalyzer definidos en la presente) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés mecánico (es decir, se agita según los protocolos indicados en la presente) a lo largo de un periodo de 48 horas, de modo adecuado en no más de un factor de 1,5, de modo adecuado en no más de un factor de 1,2, de modo adecuado en no más de un factor de 1,1.

- 20 De modo adecuado, la turbidez (medida, de modo adecuado, mediante nefelometría según los protocolos definidos en la presente) de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés mecánico (es decir, se agita según los protocolos indicados en la presente) a lo largo de un periodo de 48 horas, de modo adecuado en no más de un factor de 1,5, de modo adecuado en no más de un factor de 1,2, de modo adecuado en no más de un factor de 1,1, y de modo adecuado la turbidez no aumenta en absoluto.

- 25 De modo adecuado, el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (aumenta o disminuye, aunque en general disminuye) en no más de un 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a un estrés mecánico (es decir, se agita según los protocolos indicados en la presente) a lo largo de un periodo de 48 horas, de modo adecuado en no más de 0,2 unidades de pH, de modo adecuado en no más de 0,1 unidades de pH, y del modo más adecuado el pH no cambia en absoluto (hasta un decimal).

Parámetros cuando se produce un estrés lumínico

- 35 De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de agregados (derivados, de modo adecuado, del adalimumab y determinados, de modo adecuado, mediante los protocolos de SE-HPLC definidos en la presente) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 50 (es decir, 50 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos indicados en la presente, es decir, 7 horas a 765 W/m²), de modo adecuado en no más de un factor de 45, de modo adecuado en no más de un factor de 35, de modo adecuado en no más de un factor de 30.

- 40 De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de fragmentos (derivados, de modo adecuado, del adalimumab y medidos, de modo adecuado, mediante los protocolos de Bioanalyzer definidos en la presente) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos indicados en la presente, es decir, 7 horas a 765 W/m²), de modo adecuado en no más de un factor de 3, de modo adecuado en no más de un factor de 2,5, de modo adecuado en no más de un factor de 2.

- 45 De modo adecuado, la turbidez (medida, de modo adecuado, mediante nefelometría según los protocolos definidos en la presente) de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a un estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos indicados en la presente, es decir, 7 horas a 765 W/m²), de modo adecuado en no más de un factor de 1,5, de modo adecuado en no más de un factor de 1,2, y de modo adecuado la turbidez no aumenta en absoluto.

- 50 De modo adecuado, el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (aumenta o disminuye, aunque en general disminuye) en no más de un 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a un estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos indicados en la presente, es decir, 7 horas a 765 W/m²), de modo adecuado en no más de 0,2 unidades de pH, de modo adecuado en no más de 0,1 unidades de pH, y del modo más adecuado el pH no cambia en absoluto (hasta un decimal).

Parámetros cuando se realizan ciclos de congelación/descongelación

De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de agregados (derivados, de modo adecuado, del adalimumab y determinados, de modo adecuado, mediante los protocolos de SE-HPLC definidos en la presente) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 1,5 (es decir, 1,5 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación (es decir, la composición se congela y se descongela cinco veces según los protocolos indicados en la presente, es decir, de -80 °C a 20 °C cinco veces), de modo adecuado en no más de un factor de 1,2, de modo adecuado en no más de un factor de 1,1, de modo adecuado no se produce (sustancialmente) ningún aumento en la cantidad (o concentración) de los agregados.

- 10 De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de precipitados o partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 25 micrómetros presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación (es decir, la composición se congela y se descongela cinco veces según los protocolos indicados en la presente, es decir, de -80 °C a 20 °C cinco veces), de modo adecuado en no más de un factor de 3, de modo adecuado en no más de un factor de 2,5, de modo adecuado en no más de un factor de 2,2. De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de precipitados o partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 10 micrómetros presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación (es decir, la composición se congela y se descongela cinco veces según los protocolos indicados en la presente, es decir, de -80 °C a 20 °C cinco veces), de modo adecuado en no más de un factor de 3, de modo adecuado en no más de un factor de 2,5, de modo adecuado en no más de un factor de 2,2.

- 25 De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de precipitados o partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 25 micrómetros presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación, de modo adecuado en no más de un factor de 3, de modo adecuado en no más de un factor de 2,5, de modo adecuado en no más de un factor de 2,2. De modo adecuado, la cantidad (o concentración) de precipitados o partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 10 micrómetros presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad con relación a un momento de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación, de modo adecuado en no más de un factor de 3, de modo adecuado en no más de un factor de 2,5, de modo adecuado en no más de un factor de 2,2.

Métodos para estabilizar el anticuerpo

- 35 A la vista de los puntos mencionados anteriormente en esta subsección y de los datos presentados en los ejemplos, en la presente se describe además un método para estabilizar composiciones de adalimumab líquidas (de forma química y/o física opcionalmente con relación a cualquiera o más de uno de los parámetros/propiedades mencionados anteriormente), que comprende mezclar con adalimumab cualquiera de los componentes pertinentes necesarios para formar una composición farmacéutica líquida según se define en la presente. Las diferentes realizaciones requerirán, de modo adecuado, mezclar diferentes combinaciones de componentes, potencialmente en diferentes cantidades, y los expertos en la técnica pueden deducir con facilidad dichas combinaciones y cantidades remitiéndose a la anterior descripción referida a la composición farmacéutica líquida. Estas diferentes combinaciones de componentes pueden estabilizar las composiciones de adalimumab líquidas en diferentes aspectos. Por ejemplo, la mezcla del adalimumab con los componentes mencionados anteriormente para formar una composición farmacéutica líquida según se define en la presente puede estabilizar al adalimumab mediante:

- 45 i) el aumento de la temperatura de desplegamiento de las proteínas del adalimumab;
 ii) la inhibición de la formación de agregados;
 iii) la inhibición de la formación de fragmentos;
 iv) la inhibición de la formación de partículas subvisibles (≤ 25 micrómetros o ≤ 10 micrómetros);
 v) la inhibición de la formación de turbidez;
 50 vi) la inhibición de los cambios en el pH;
 vii) la inhibición de la fotooxidación, y/o
 viii) la reducción de la inestabilidad tras someterse a ciclos de congelación/descongelación.

Así, en la presente también se describe un método para lograr uno, algunos o todos los siguientes beneficios:

- i) el aumento de la temperatura de desplegamiento de las proteínas del adalimumab;
- ii) la inhibición de la formación de agregados;
- iii) la inhibición de la formación de fragmentos;
- iv) la inhibición de la formación de partículas subvisibles (≤ 25 micrómetros o ≤ 10 micrómetros);
- 5 v) la inhibición de la formación de turbidez;
- vi) la inhibición de los cambios en el pH;
- vii) la inhibición de la fotooxidación, y/o
- viii) la reducción de la inestabilidad tras someterse a ciclos de congelación/descongelación:

10 comprendiendo dicho método la fabricación de una composición farmacéutica líquida de adalimumab según se define en la presente.

De forma adecuada, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención tienen una caducidad de al menos 6 meses, de forma adecuada de al menos 12 meses, de forma adecuada de al menos 18 meses, de forma más adecuada de al menos 24 meses. De forma adecuada, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención tienen una caducidad de al menos 6 meses, de forma adecuada de al menos 12 meses, de forma adecuada de al menos 18 meses, de forma más adecuada de al menos 24 meses, a una temperatura de 2-8 °C.

Cómo pueden los expertos en la técnica optimizar las propiedades de estabilidad clave

La nueva combinación de componentes descrita para su uso en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención permite a los expertos en la técnica producir (y juiciosamente afinar) composiciones que muestran unas propiedades comparables o potenciadas con relación a composiciones de la técnica anterior. En particular, la presente descripción proporciona a los expertos en la técnica las herramientas necesarias para optimizar la estabilidad de la formulación y, en particular, para optimizar uno o más de: la inhibición de la agregación, la fragmentación, el desplegamiento de proteínas, la precipitación, la pérdida del pH y la oxidación (en especial la fotooxidación). Además, los expertos en la técnica reciben indicaciones para lograr dichas optimizaciones (variando juiciosamente las composiciones) y para minimizar, durante el proceso, cualquier efecto secundario perjudicial. La presente descripción permite a los expertos en la técnica trabajar a través del alcance de la invención para producir una diversidad de composiciones específicas que muestran unas propiedades comparables o mejoradas con relación a composiciones de la técnica anterior, y esto puede lograrse empleando menos componentes.

Realizaciones concretas

La composición farmacéutica líquida comprende:

- 30 - adalimumab de 45 a aproximadamente 55 mg/ml;
- histidina de 5 a 14 mM (o un sistema de tampón de histidina);
- trehalosa de 190 a 210 mM;
- cloruro de sodio de 40 a 60 mM; y
- agua (para inyección);
- 35 en la que la composición:
 - tiene un pH entre 6,3 y 6,5;
 - está sustancial o totalmente exenta de arginina (de modo adecuado, L-arginina) o comprende arginina en una concentración como máximo de 0,001 mM;
 - está sustancial o totalmente exenta de aminoácidos libres distintos de histidina o comprende uno o más aminoácidos distintos de la histidina en una concentración (colectiva) como máximo de 0,001 mM;
 - está sustancial o totalmente exenta de tensioactivos o comprende uno o más tensioactivos en una concentración (colectiva) como máximo de 0,0001 mM; y/o
 - está sustancial o totalmente exenta de agentes tamponantes de fosfato (por ejemplo, dibifosfato de sodio, bifosfato de disodio) o comprende un sistema de tampón fosfato en una concentración como máximo de 0,001 mM.
- 45 En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende:

- adalimumab 50 mg/ml;
- histidina 10 mM (o un sistema de tampón de histidina);
- trehalosa 200 mM;
- cloruro de sodio 50 mM;

5 - polisorbato 80 1,0 mg/ml; y

- agua (para inyección);

en la que la composición:

- tiene un pH de 6,4;

- está exenta de arginina;

10 · está exenta de aminoácidos libres distintos de histidina;

- está exenta de tensioactivos; y

- está exenta de agentes tamponantes de fosfato/sistemas de tampón fosfato.

Preferiblemente, la composición farmacéutica líquida consiste fundamentalmente en:

- adalimumab 50 mg/ml;

15 - histidina 10 mM (o un sistema de tampón de histidina);

- trehalosa 200 mM;

- cloruro de sodio 50 mM; y

- agua (para inyección);

en la que la composición tiene un pH de 6,4.

20 De modo adecuado, la composición farmacéutica líquida puede ser como se indica en cualquiera de las realizaciones anteriores, excepto que la ausencia o los bajos niveles de un componente o componentes, tales como arginina, aminoácidos, tensioactivos (opcionalmente con la excepción del polisorbato 80), y sistemas/agentes tamponantes de fosfato, en lugar de ser definidos refiriéndose a la concentración o concentración (es decir, molaridad) pueden definirse remitiéndose a las más correspondiente proporciones molares del componente al adalimumab; a las correspondientes proporciones en peso del componente al adalimumab; o a las correspondientes proporciones molares del componente al adalimumab. Los expertos en la técnica deducirán con facilidad para cada componente, a partir de la sección pertinente de esta memoria descriptiva que se relaciona con ese componente específico, cuáles son las proporciones molares y en peso se corresponden con determinadas concentraciones, puesto que en la presente se listan las proporciones molares y en peso pertinentes para que se correspondan, respectivamente, con concentraciones concretas. Por ejemplo, en el caso de la arginina, las concentraciones opcionales "como máximo de 0,1 mM, de forma más adecuada como máximo de 0,01 mM, de la forma más adecuada como máximo de 0,001 mM" se corresponden respectivamente con una proporción molar de arginina a agente tamponante "como máximo de 1:150... de forma más adecuada como máximo de 1:1500, de la forma más adecuada como máximo de 1:15.000", con una "proporción en peso de arginina a adalimumab como máximo de 1:3000... de forma más adecuada como máximo de 1:30.000, de la forma más adecuada como máximo de 1.300.000", y con una proporción molar de arginina a adalimumab "como máximo de 1:3,75... de forma más adecuada como máximo de 1:37,5, y de la forma más adecuada como máximo de 1:375". Las mismas correspondencias se aplican a los aminoácidos, tensioactivos y sistemas/agentes tamponantes de fosfato.

Método de fabricación de una composición farmacéutica líquida

40 En la presente se describe un método para fabricar una composición farmacéutica líquida, de forma adecuada según se define en la presente. El método comprende, de forma adecuada, mezclar juntos, en cualquier orden concreto que se considere apropiado, cualquiera de los componentes pertinentes requeridos para formar una composición farmacéutica líquida según se define en la presente. Los expertos en la técnica pueden remitirse a los ejemplos o a las técnicas conocidas en la técnica para formar composiciones farmacéuticas líquidas (en especial las composiciones para inyección mediante jeringa). Las diferentes realizaciones requerirán, de modo adecuado, diferentes combinaciones de componentes para ser mezclados, potencialmente en diferentes cantidades. Los expertos en la técnica pueden deducir con facilidad estas combinaciones y cantidades remitiéndose a la anterior descripción que se refiere a la composición farmacéutica líquida.

De modo adecuado, el método implica mezclar juntos los componentes pertinentes, de forma adecuada en un diluyente (por ejemplo, agua), de forma adecuada de manera que todos los componentes se disuelvan sustancial o totalmente en el diluyente.

El método puede implicar preparar primero una premezcla (o predisolución) de algunos o todos los componentes (opcionalmente con parte o todo el diluyente) menos el adalimumab, y después el adalimumab puede mezclarse (opcionalmente con parte del diluyente o predisoluto en el diluyente) con la premezcla (o la predisolución) para producir la composición farmacéutica líquida, o una composición a la cual se le añaden después los componentes finales para producir la composición farmacéutica líquida final. De la forma más adecuada, la premezcla contiene todos los componentes, excepto el adalimumab, y opcionalmente también una parte del diluyente (que puede utilizarse para predisolver el adalimumab), de forma adecuada de tal manera que el adalimumab se añade a una mezcla que ofrece una estabilización óptima del adalimumab. De forma adecuada, la premezcla mencionada anteriormente se prepara con el pH deseado para la formulación farmacéutica líquida final.

De modo adecuado, el método implica formar un sistema de tampón, de forma adecuada un sistema de tampón que comprende un agente tamponante según se define en la presente. El sistema de tampón puede formarse de modo adecuado en una premezcla antes de la adición del adalimumab, aunque el sistema de tampón puede formarse opcionalmente estando el adalimumab presente. El sistema de tampón puede formarse simplemente mezclando el agente tamponante (suministrado listo para utilizar) con su conjugado de ácido/base (de modo adecuado en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado; esto puede ser determinado por los expertos de forma teórica o experimental). En el caso de un sistema de tampón de histidina, esto significa mezclar la histidina con una forma de imidazolio de la histidina (por ejemplo, hidrocloreuro de histidina). Como alternativa, el sistema de tampón puede formarse añadiendo un ácido fuerte (por ejemplo, HCl) al agente tamponante (por ejemplo, histidina) para formar *in situ* el conjugado de ácido/base (por ejemplo, la forma de imidazolio de la histidina) al agente tamponante (de nuevo, de modo adecuado en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado). Como alternativa, el sistema de tampón puede formarse añadiendo una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al conjugado de ácido/base del agente tamponante (o al propio agente tamponante, en donde forma dicho conjugado de ácido/base en un equilibrio dinámico, tal como tras su disolución) para formar *in situ* el agente tamponante (de nuevo, de modo adecuado en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado). El pH de la premezcla de la composición farmacéutica líquida final puede ajustarse juiciosamente añadiendo la cantidad requerida de base fuerte o de ácido fuerte, o incluso una cantidad de agente tamponante o conjugado de ácido/base.

En ciertas realizaciones, el agente tamponante y/o sistema de tampón se preforma como una mezcla por separado, y el sistema de tampón se traslada a un precursor de la composición farmacéutica líquida (que comprende algunos o todos los componentes, excepto el agente tamponante y/o el sistema de tampón, de modo adecuado comprende adalimumab y potencialmente solo adalimumab) mediante un intercambio de tampón (por ejemplo, empleando una diafiltración hasta que se alcancen las concentraciones o la osmolalidad pertinentes). Después pueden añadirse otros excipientes si es necesario para producir la composición farmacéutica líquida final. El pH puede ajustarse una vez o antes de que todos los componentes estén presentes.

Cualquiera, algunos o todos los componentes pueden predisolverse o premezclarse con un diluyente antes de mezclar con otros componentes.

La composición farmacéutica líquida final puede filtrarse, de forma adecuada para eliminar la materia en partículas. De forma adecuada, la filtración se realiza a través de filtros con un tamaño igual o menor que 1 μm , de modo adecuado de 0,22 μm . De modo adecuado, la filtración se realiza a través de filtros de PES o de filtros de PVDF, de modo adecuado con filtros de PES de 0,22 μm .

En la presente también se describe una composición farmacéutica líquida que puede obtenerse mediante, obtenerse con u obtenerse directamente a través del método de fabricación descrito en la presente.

Dispositivo de transporte de fármacos

La presente invención proporciona un dispositivo de transporte de fármacos que comprende una composición farmacéutica líquida según se define en la presente. De forma adecuada, el dispositivo de transporte de fármacos comprende una cámara dentro de la cual reside la composición farmacéutica. De modo adecuado, el dispositivo de transporte de fármacos es estéril.

El dispositivo de transporte de fármacos puede ser un vial, una ampolla, una jeringa, una pluma de inyección (por ejemplo, que incorpora fundamentalmente una jeringa) o una bolsa intravenosa. De la forma más adecuada, el dispositivo de transporte de fármacos es una jeringa, de modo adecuado una pluma de inyección. De forma adecuada, la jeringa es una jeringa de vidrio. De forma adecuada, la jeringa comprende una aguja, de forma adecuada una aguja 29G de 1,27 cm.

En la presente también se describe un método para fabricar un dispositivo de transporte de fármacos, de modo adecuado tal como se define en la presente, comprendiendo dicho método incorporar una composición farmacéutica

líquida según se define en la presente dentro de un dispositivo de transporte de fármacos. Esta fabricación generalmente implica cargar la composición farmacéutica líquida según se define en la presente en una jeringa, de forma adecuada a través de una aguja fijada a ella. La aguja después puede retirarse, reemplazarse o puede permanecer.

- 5 En la presente también se describe un dispositivo de transporte de fármacos que puede obtenerse mediante, obtenerse con u obtenerse directamente a través de un método de fabricación descrito en la presente.

Envase

- 10 En la presente también se describe un envase que comprende una composición farmacéutica líquida según se define en la presente. De modo adecuado, el envase comprende un dispositivo de transporte de fármacos según se define en la presente, de modo adecuado una pluralidad de dispositivos de transporte de fármacos. El envase puede comprender cualquier recipiente adecuado para contener uno o más dispositivos de transporte de fármacos.

- 15 En la presente también se describe un método para fabricar un envase, comprendiendo dicho método incorporar una composición farmacéutica líquida según se define en la presente, dentro de un envase. De modo adecuado, esto se consigue incorporando dicha composición farmacéutica líquida dentro de uno o más dispositivos de transporte de fármacos y después incorporando dicho uno o más dispositivos de transporte de fármacos precargados en un recipiente presente dentro del envase.

En la presente también se describe un envase que puede obtenerse mediante, obtenerse con u obtenerse directamente a través de un método de fabricación descrito en la presente.

Kit de partes

- 20 En la presente también se describe un kit de partes que comprende un dispositivo de transporte de fármacos (sin la composición farmacéutica líquida incorporada en él), una composición farmacéutica líquida según se define en la presente (opcionalmente contenida en un envase o recipiente distinto), y opcionalmente un conjunto de instrucciones con directrices sobre la administración (por ejemplo, subcutánea) de la composición farmacéutica líquida. El usuario después puede rellenar el dispositivo de transporte de fármacos con la composición farmacéutica líquida (que puede proporcionarse en un vial o una ampolla o similares) antes de la administración.
- 25

Usos de la composición farmacéutica líquida y métodos de tratamiento

- 30 En la presente también se describe un método para tratar una enfermedad o un trastorno médico; una composición farmacéutica líquida para su uso en terapia; un uso de una composición farmacéutica líquida para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno; un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α); una composición farmacéutica líquida para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α); un uso de una composición farmacéutica líquida para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α); un método para tratar la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave y/o la artritis idiopática juvenil; una composición farmacéutica líquida para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave y/o la artritis idiopática juvenil; y un uso de una composición farmacéutica líquida para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave y/o la artritis idiopática juvenil; según se define en la presente.
- 35
- 40

- 45 Las composiciones farmacéuticas líquidas definidas en la presente pueden utilizarse para tratar una cualquiera o más de las enfermedades o trastornos médicos mencionados anteriormente. En una realización concreta, las composiciones farmacéuticas líquidas se emplean para tratar la artritis reumatoide, de forma adecuada la enfermedad de Crohn y la psoriasis.

Las composiciones farmacéuticas líquidas se administran de forma adecuada por vía parenteral, de forma adecuada mediante una inyección subcutánea.

Ejemplos

- 50 Se seleccionó una diversidad de formulaciones (dentro y fuera del alcance de las formulaciones reivindicadas en la presente) según se describe a continuación para que la invención pueda comprenderse mejor. Los expertos en la técnica sabrán cuáles son las formulaciones que se encuentran dentro de las formulaciones reivindicadas en la presente, y cuáles son las formulaciones que actúan como comparación eficaz.

Materiales y equipo

Se emplearon los siguientes materiales para la preparación de las formulaciones descritas en los siguientes ejemplos:

Ingrediente
Adalimumab DS
Monohidrocloruro de arginina
Ácido aspártico
Ácido cítrico monohidrato
Fosfato de sodio dibásico dihidrato
Histidina
Hidrocloruro de lisina
Manitol
Fosfato de sodio monobásico dihidrato
Poloxámero 188
Polisorbato 80
Cloruro de sodio
Citrato de sodio
Disolución de hidróxido de sodio al 30%
Trehalosa dihidrato
WFI

- 5 Se emplearon los siguientes materiales y equipo desechable en los ejemplos y en los experimentos de selección posteriores.

Artículo	Código	Suministrador
Tubos Eppendorf (0,5 ml, 1,5 ml, 2,0 ml)	NA	Eppendorf
Falcon	tubos de polipropileno 352096 (15 ml), 352070 (50 ml)	Becton Dickinson
Unidad de filtro de membrana de PES (0,22 µm)	membrana de PES MillexGP Express REF SLGP033RS	Millipore
Botellas de PETG	3420-1000, 3420-0500, 2019-0250, 3420-0125, 3420-0060, 2019-0030	Nalgene

Se emplearon los siguientes envases en los ejemplos y en los experimentos de selección posteriores.

Artículo	Código	Suministrador
Vial de vidrio de tipo I DIN2R	0212060.6112 11200000A	Nuova Ompi
Tapón de 1 ml	S2-F451 RSV; D 21-7S RB2-40	Daikyo Seiko, LTD
Caperuza abatible de 13 mm	12000350	MS-A

Se empleó el siguiente equipo en los ejemplos y en los experimentos de selección posteriores.

Artículo	Mod.	Fabricante
Balanza analítica	AX205, PG2002-S	Mettler Toledo
Instrumento Xenon de sobremesa	Suntest CPS+	Atlas
Pipetas calibradas	P20, P100, P200, P1000	Gilson
HPLC	Alliance	Waters
iCE280	Fast IEF Analyzer	Convergent Bioscience
Osmómetro	Osmomat 303/D	Gonotec
PCR	7500 Fast Real-Time	AB Applied Biosystem
pH-metro	Seven Multi	Mettler Toledo
Refrigeradores	+2-8 °C	Angelantoni
Software Design Expert	ver. 7.1.5	Stat-Ease, Inc.
Cabinas termostáticas	+25 °C, +40 °C	Angelantoni
Turbidímetro	2100AN IS	Hack Lange
Espectrofotómetro de UV	Lambda 35	Perkin Elmer

Técnicas analíticas y protocolos

- 5 Se emplearon los siguientes métodos de protocolos analíticos en los ejemplos y en los experimentos de selección posteriores, por las razones indicadas en la siguiente tabla:

Método n.º	Método analítico	Alcance del ensayo
1	Bioanalyzer	pureza
2	DSF	temperatura de desplegamiento
3	iCE280	perfil de isoformas
4	OD	contenido en proteínas
5	SE-HPLC	determinación de agregados
6	nefelometría	turbidez
7	osmolalidad	osmolalidad de la disolución
8	pH	determinación del pH
9	partículas subvisibles	recuento de partículas

Los protocolos individuales para cada uno de los anteriores métodos analíticos se describen a su vez a continuación, y las referencias en los ejemplos y los experimentos de selección a cualquiera de estos métodos analíticos emplean estos protocolos.

10 1. Pureza - Bioanalyzer

Se empleó un Bioanalyzer 2100. Los protocolos pueden encontrarse en el manual de instrucciones pertinente. Sin embargo, los protocolos se han refinado aún más como se indica a continuación.

Disoluciones:

Mezcla de tinte-gel (disolución de tinción):

- 5 Se añaden 25 µl de concentrado de tinte 230plus a un tubo de matriz de gel de proteínas 230plus. Se agita en vórtice y se centrifuga el tubo durante 15 segundos. Se traslada a un filtro de centrifuga y se centrifuga a 2500 rpm durante al menos 20 min. La disolución está lista para utilizar. Se conserva la disolución a $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ durante no más de 4 semanas.

Disolución de destinción:

Se pipetea 650 µl de matriz de gel en un filtro de centrifuga. Se centrifuga a 2500 rpm durante al menos 25 min. Se conserva la disolución a $+5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ durante no más de 4 semanas.

- 10 Tampón de muestra:

Se recomienda dividir los 200 µl del tampón de muestra en partes alícuotas de 25 µl y descongelar las partes alícuotas para cada chip. Se conserva la disolución madre del tampón de muestra y las partes alícuotas a -20 °C durante un periodo no más largo que la fecha de caducidad proporcionada por el suministrador.

Disolución madre de maleimida:

- 15 Se disuelven 23,4 g de maleimida en 1 ml de agua MilliQ (0,24 M). Se agita en vórtice la disolución. Después se diluye la disolución 1:4 con agua MilliQ (por ejemplo, 50 µl de disolución madre + 150 µl de MilliQ). La concentración final de la disolución de maleimida diluida es de 60 mM (puesto que no aún existen datos disponibles acerca de la estabilidad de esta disolución, esta debe prepararse en fresco ante de comenzar cada sesión analítica).

Disolución de OTf:

- 20 Para el análisis de las muestras de adalimumab, la disolución reductora debe prepararse con DTT 1 M; por tanto, se disuelven 154,0 mg de DTT en 1 ml de agua MilliQ.

Disolución no reductora:

Se añade 1 µl de agua MilliQ a una parte alícuota del tampón de muestra (25 µl) y se agita en vórtice durante 5 segundos. Se emplea la disolución no reductora dentro del día de su preparación.

- 25 Disolución reductora:

Se añade 1 µl de la correspondiente disolución de DTf a una parte alícuota del tampón de muestra (25 µl) y se agita en vórtice durante 5 segundos. Se emplea la disolución reductora dentro del día de su preparación.

Preparación de las muestras:

- Las muestras se analizan a una concentración que varía entre 2,4-3 mg/ml.
- 30 - Si es necesario, las muestras pueden diluirse hasta la concentración diana empleando agua MilliQ.

Las muestras se preparan según la guía del kit de reactivos empleando los tampones de muestra reductor y no reductor según las instrucciones de la guía del kit de reactivos y que también se mencionaron anteriormente. Se recomienda fervientemente emplear, de modo diferente al indicado en la guía, unos volúmenes más grandes para lograr unos resultados reproducibles y precisos. A continuación se indica un ejemplo para preparar la escalera y las muestras:

35

Disolución de preparación de muestras en condiciones reductoras y no reductoras

Reactivo	Volumen (μl)	Volumen total (μl)
Muestra diluida a 3 mg/ml	3 μl	6 μl
Tampón de muestra (reductor o no reductor)	2 μl	
Disolución de maleimida	1 μl	
Las muestras deben mezclarse (mediante vórtice) y centrifugarse. Todas las muestras y la escalera se calientan durante 5 minutos a 70 °C.		

Agua MilliQ	84 µl	90 µl
Se mezcla en vórtice y se centrifuga. Se cargan 6 µl de la muestra y de la escalera.		

Nota 1: Para las IPC cuya concentración esté entre 2,4 mg/ml y 3,0 mg/ml, la preparación de las muestras sigue la tabla anterior, pero se calcula el volumen de agua MilliQ añadida después del calentamiento de la muestra para alcanzar una concentración final de proteínas de 0,1 mg/ml.

- 5 A continuación se indica un ejemplo de la preparación de la muestra para una muestra que tenga una concentración de entre 2,4 y 3,0 mg/ml:

Disolución de preparación de muestras en condiciones reductoras y no reductoras

Reactivo	Volumen (μl)	Volumen total (μl)
Muestra (2,6 mg/ml)	3 μl	6 μl
Tampón de muestra (reductor o no reductor)	2 μl	
Disolución de maleimida	1 μl	
Las muestras deben mezclarse (mediante vórtice) y centrifugarse. Todas las muestras y la escalera se calientan durante 5 minutos a 70 °C.		
Agua MilliQ	72 μl	78 μl
Se mezcla en vórtice y se centrifuga. Se cargan 6 μl de la muestra y de la escalera.		

- 10 Nota 2: Deben cargarse todos los pocillos. Si el número de muestras es menor que los pocillos disponibles, los pocillos vacíos pueden emplearse para otros duplicados o muestras en blanco.

Preparación del sistema y del chip:

- Para limpiar la disolución antes y después de un análisis, se rellena el "limpiador de electrodos" con agua MilliQ 600IIL y se coloca en el Bioanalyzer Agilent 2100, se cierra la tapa y se deja que el sistema termine. No son necesarias más medidas.

- 15 - Se ajusta la placa base de la estación de cebado del chip en la posición "A" y la jeringa se fija en su posición intermedia.

Preparación del chip

Preparación del sistema
Se inserta un nuevo chip de proteínas en la estación de cebado.
Se pipetea 12 µl de la mezcla del gel-tinte en el pocillo marcado como G (arriba a la derecha).
Se ajusta el émbolo a 1 ml y se cierra la estación de cebado del chip.
Se presiona el émbolo hasta que el clip lo sujete.
Se esperan 60 segundos y después se libera el clip.
Se esperan 5 segundos y se extrae lentamente el émbolo hasta la marca de 1 ml.
Se abre la estación de cebado del chip.
Se retira la disolución en este pocillo.
Se pipetea 12 µl de la mezcla del gel-tinte en el pocillo marcado como G (arriba a la derecha) y en todos los pocillos restantes marcados como G.
Se pipetea 12 µl de la disolución de destinción en el pocillo marcado como DS.

Carga de la escalera y la muestra:

- Se trasladan 6 µl de cada muestra a un pocillo de muestras y también 6 µl de la escalera al pocillo correspondiente, que se indica claramente con el símbolo de una escalera.

Se coloca el chip en el Bioanalyzer Agilent 2100 y se comienza el análisis en 5 minutos.

5 Ejemplo de un conjunto de muestras

Pocillo	Muestra	Cantidad (µl)
1	Blanco	6
2	Blanco	6
3	Muestra desconocida 1 rep 1	6
4	Muestra desconocida 1 rep 2	6
5	Muestra desconocida 2 rep 1	6
6	Muestra desconocida 2 rep 2	6
7	Muestra desconocida 3 rep 1	6
8	Muestra desconocida 3 rep 2	6
9	Material de referencia actual rep 1	6
10	Material de referencia actual rep 2	6
Escalera	Escalera	6

Análisis de los datos y evaluación de los resultados:

Para obtener los resultados deben ejecutarse las siguientes operaciones mínimas.

- Colocar el chip en el punto específico y cerrar la tapa.

10 - En el contexto del instrumento seleccionar Ensayo-Electroforesis-Proteína-Proteína 230 Plus.

- Pinchar INICIAR para comenzar el análisis, que se completa en 30 minutos.

- Los datos brutos se muestran pinchando en “Análisis de los datos”, en donde se listan todos los experimentos realizados ese día. Se pincha en el experimento de interés y se selecciona.

- El gel generado en el experimento elegido se abre automáticamente.

15 - Los datos pueden mostrarse como un electroferograma o una imagen de tipo gel.

Se incluye información detallada con respecto a la integración de los picos en el electroferograma (para obtener los datos de pureza) en el manual del programa informático. El sistema genera automáticamente la pureza de una muestra mediante integración automática pero, si es necesario, puede aplicarse la integración manual.

Resultados:

20 En la condición no reductora, los resultados se indican como porcentaje de pureza, y porcentaje de LMW (suma de los picos antes del monómero).

En la condición reductora, los resultados se indican como porcentaje de pureza, como la suma de la cadena pesada y la cadena ligera.

Los valores de peso molecular indicativo se ofrecen en la siguiente tabla:

Peso molecular indicativo del adalimumab

Condición	Resultados	KDa
no reductora	monómero	151
reductora	LC	27
	HC	58

2. Temperatura de desplegamiento - DSF

La DSF (fluorimetría de barrido diferencial) se realizó como sigue.

- 5 Se añadieron 2 microlitros de Sypro Orange (tinte de gel de proteínas Orange, cod. S6650, Life Technologies) previamente diluidos en 500 veces con agua para inyección, a 20 microlitros de disolución del producto de fármaco. Después de la adición de Sypro Orange, las disoluciones de DP (preparación por triplicado) se introdujeron en placas de 96 pocillos (MicroAmp Fast 96-W Reaction Plate 0,1 ml, cod. 4346907). Las placas después se sellaron con una cubierta protectora transparente (MicroAmp Optical Adhesive Film, cod. 4311971) y después se sometieron a una centrifugación para eliminar las burbujas de aire. Las placas después se insertan en el sistema de PCR 7500 Fast Real-Time AB Applied Biosystem y se realiza un barrido para los perfiles de emisión a unas temperaturas desde la temperatura ambiente hasta 90-100 °C. La dependencia de la intensidad de la emisión de fluorescencia de la temperatura es una curva que generalmente muestra un punto de inversión/discontinuidad en la temperatura de desnaturalización, un parámetro que se emplea para comparar las diferentes composiciones.

15 3. Perfil de isoformas - iCE280

- cIEF por iCE280 (perfil de isoformas): Después de la purificación y la eliminación de las sales con una centrifugación en dispositivos de centrifugación Amicon Ultra-4 (punto de corte 10 kDa), las muestras se prediluyeron hasta la concentración de 5,0 mg/ml con agua purificada. Entonces se realizó una segunda dilución hasta 1,0 mg/ml con una disolución compuesta de: metilcelulosa, Pharmalyte 5-8 (GE Healthcare), Pharmalyte 8-10,5 (GE Healthcare), 20 marcador de bajo pI 7.05 (Protein Simple), marcador de alto pI 9,50 (Protein Simple) y agua purificada. Tras la dilución, las muestras se centrifugaron a 10000 rpm durante 3 minutos. Después se realizó una etapa de centrifugación adicional (2 minutos a 7000 rpm) en 150 microlitros de cada muestra trasladada en insertos de vidrio. El cIEF (enfoque isoeléctrico capilar) se realizó con el sistema iCE280 en Protein Simple, empleando cartuchos capilares Fc con un revestimiento ID de 100 micrómetros y una longitud total de 50 nm (n.º de catálogo 101700/101701 de Protein Simple). La separación de las diversas isoformas se realiza empleando hidróxido de sodio 100 mM (en metilcelulosa al 0,1%) como disolución catódica y ácido o-fosfórico 80 mM (en metilcelulosa al 0,1%) como disolución anódica. El electroferograma se adquiere a 280 nm a lo largo de unos tiempos de preenfoco y de enfoque de 1 y 6 minutos, respectivamente, a un voltaje de 1500 V (preenfoco) y 3000 V (enfoco).

4. Contenido en proteínas - OD

- 30 Las mediciones de OD (contenido en proteínas) se realizaron en muestras que inicialmente se habían diluido gravimétricamente (se realizaron diluciones independientes por triplicado) con el tampón pertinente o placebo a partir de una concentración de partida de aproximadamente 10 mg/ml. Las disoluciones diluidas se ensayaron para la absorbancia a 280 y 320 en cubeta de cuarzo de longitud de paso de 0,1 cm, a la temperatura ambiente, con un espectrofotómetro de doble haz (Lambda35 de Perkin Elmer). Se empleó el valor de 1,35 como el coeficiente de extinción molar del adalimumab.

5. Determinación de los agregados - SE-HPLC

- Las muestras se diluyeron con DPBS 1X hasta una concentración de 0,5 ml y se inyectaron (volumen de inyección de 20 microlitros) en una columna con gel Column TSK Super SW3000 4,6 mm ID X30,0 cm, cod. 18675 de Tosho, manteniendo unas condiciones isocráticas (fase móvil: fosfato de sodio 50 mM + perclorato de sodio 0,4 M, pH 6,3 ± 0,1). La detección con UV se realizó a 214 nm con un caudal de 0,35 ml. La duración de cada ensayo analítico fue de 15 minutos. Antes de los análisis, las muestras se mantuvieron a 2-8 °C en el automuestreador del sistema HPLC de Waters Alliance empleado para este ensayo.

6. Turbidez - nefelometría

- 45 La turbidez se analizó mediante mediciones nefelométricas (efectos basado en el efecto de difusión de la luz provocado por las partículas con unas dimensiones generalmente < 1 micrómetro) realizadas con un turbidímetro 2100AN IS Turbidimeter de Hach a temperatura ambiente. Se colocaron cantidades mínimas de 3 ml de disolución en cubetas de vidrio de volumen reducido y se ensayó el efecto difusor después de la calibración anterior del instrumento con una serie de disoluciones patrón (0,1-7500 NTU).

7. Determinación de la osmolalidad - osmolalidad

La osmolalidad se midió basándose en las características crioscópicas de las disoluciones. Los ensayos se realizaron con un Osmomat 030-D de Gonotech sometiendo 50 microlitros de la muestra a una congelación. La temperatura de congelación depende de la osmolalidad de la disolución (es decir, de la presencia de agentes disueltos, tales como sales, azúcares, otras especies iónicas y no iónicas, etc.).

8. Determinación del pH - pH

El pH se determinó empleando mediciones potenciométricas realizadas a temperatura ambiente con pH-metros Mettler Toledo Seven Multi.

9. Recuento de partículas - partículas subvisibles

- 10 Las muestras se diluyeron en 5 veces con agua purificada hasta un volumen final de 25 ml. Se determinó el número de partículas a temperatura ambiente mediante PAMAS SVSS de Aminstruments recogiendo cuatro pruebas independientes y promediando los resultados para cada respectiva fracción dimensional de interés.

Ejemplo 1: Formulaciones para la primera selección de formulaciones

- 15 En la siguiente tabla 1 se muestra el primer conjunto de formulaciones (a menudo indicadas en la presente como formulaciones DoE1).

Tabla 1 - Lista de formulaciones DoE1 para posteriores experimentos de selección 1

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante
18	25	histidina	6,0	trehalosa dihidrato (200 mM)
19	50	histidina	6,0	hidrocloruro de lisina (100 mM)
20	100	histidina	6,0	manitol (200 mM)
21	50	histidina	6,2	hidrocloruro de lisina (100 mM)
22	50	histidina	6,2	monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
23	75	histidina	6,2	trehalosa dihidrato (200 mM)
24	25	histidina	6,4	manitol (200 mM)
25	100	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)

Las formulaciones de la tabla 1 se fabricaron comenzando a partir de un material de DS sin tensioactivos preformulado.

- 20 Una parte alícuota del DS se diafiltró con tampón histidina 10 mM a pH 6,0 hasta que se obtuvo un intercambio de volumen en tres veces con el tampón. Después se añadieron los excipientes necesarios a los materiales de DS con intercambio de tampón y el pH se ajustó hasta el pH diana mediante la adición de una disolución diluida de hidróxido de sodio. Cada formulación se filtró a través de filtros de PES de 0,22 µm.

- 25 En la tabla 2 se indican los resultados en términos de recuperación del material y osmolalidad para los tres materiales de DS con intercambio de tampón.

Tabla 2 - Recuperación y osmolalidad de los materiales de DS después del intercambio de tampón

				Después del intercambio				
Tampón	Volumen de inicio de DS (ml)	Conc. de inicio de DS (mg/ml)	Proteína tratada (mg)	Volumen final (ml)	Conc. final (mg/ml)	Proteína recuperada (mg)	Recuperación (%)	Osmolalidad (mOsm/kg)
histidina	200	63,3	12660	200	56,9	11380	90	23

Se produjo una buena recuperación para el sistema de tampón de histidina ($\leq 90\%$). Los valores de osmolalidad indican el grado satisfactorio de intercambio de tampón alcanzado con un mínimo residual de especies que

proceden del DS originario.

Ejemplo 2: Formulaciones para la segunda selección de formulaciones

En la siguiente tabla 3 se muestra el segundo conjunto de formulaciones (a menudo indicadas en la presente como formulaciones DoE2) (derivadas de la tabla 4 que aparece después de esta).

- 5 Tabla 1 - Lista de formulaciones DoE2 para los posteriores experimentos de selección 2 (las formulaciones se derivan de las presentadas en la tabla 4 con el tensioactivo extra indicado)

Formulaciones	Concentración de polisorbato 80 (mg/ml)		
	0	0,5	1
forma 7 (derivada de la forma C, tabla 4)	X	-	-
forma 8 (derivada de la forma C, tabla 4)	-	X	-
forma 9 (derivada de la forma C, tabla 4)	-	-	X

Tabla 4 - Prototipo de formulación que deriva de la selección de DoE1

Forma	Sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante
C	100	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)

- 10 Las formulaciones DoE2 (tabla 3) se fabricaron comenzando a partir de un material de DS sin tensioactivos preformulado.

Tres partes alícuotas del DS se diafiltraron hasta que se obtuvo un intercambio de volumen en tres veces. Después se añadieron los excipientes necesarios a los materiales de DS con intercambio de tampón y el pH se ajustó hasta el pH diana mediante la adición de una disolución diluida de hidróxido de sodio. Cada formulación se filtró a través de
15 filtros de PES de 0,22 µm.

En la tabla 5 se indican los resultados en términos de osmolalidad y turbidez para los materiales de DS con intercambio de tampón.

Los valores de la osmolalidad (≤ 40 mOsm/kg) indican el grado satisfactorio de intercambio de tampón alcanzado con un mínimo residual de especies que proceden del DS originario.

- 20 Tabla 5 - Osmolalidad y turbidez de los materiales de DS después del intercambio de tampón

Tampón	Turbidez (NTU)	Osmolalidad (mOsm/kg)
histidina	50	26

Ejemplo 3: Formulaciones comparativas para la primera y la segunda selección

Para fines de comparación y de control, se prepararon u obtuvieron tres formulaciones de referencia, que incluyen Ref-1 (composición de Humira® fabricada por el solicitante); Ref-2 (RMP US - producto de fármaco comercial de Humira® de EEUU); y Ref-3 (RMP UE - producto de fármaco comercial de Humira® de la Unión Europea). Todas estas formulaciones de referencia presentan la composición que se indica en la tabla 6.

25 Tabla 6 - Composición de Humira DP

Ingrediente	Cantidad por recipiente (mg) (volumen de llenado = 0,8 ml)	Cantidad (mg/ml)
Adalimumab	40	50
Ácido cítrico monohidrato	1,04	1,3
Fosfato de sodio dibásico deshidrato	1,22	1,53

Manitol	9,6	12
Fosfato de sodio monobásico deshidrato	0,69	0,86
Polisorbato 80	0,8	1
Cloruro de sodio	4,93	6,16
Citrato de sodio	0,24	0,3
WFI e hidróxido de sodio	c.s. hasta ajustar el pH a 5,2	c.s. hasta ajustar el pH a 5,2

Selección

5 Una primera selección de formulaciones (DoE1) condujo a la identificación de diversos factores (por ejemplo, pH, presencia de NaCl, tipo de excipiente) responsables de la estabilidad de las proteínas y, en último término, a la selección de formulaciones que van a ser buscadas en una segunda selección (DoE2), que busca afinar las formulaciones y evaluar la forma en que los tensioactivos, tales como polisorbato 80, afectan a la estabilidad de la proteína.

10 Cada una de las dos selecciones implica diversos ensayos analíticos, tal como se definió en la presente anteriormente e indicado en la presente a continuación, sobre una gama de formulaciones diferentes que fueron expuestas a cantidades variables de estrés térmico, mecánico y lumínico a lo largo de periodos de tiempo prolongados (por ejemplo, 1 mes). Estas selecciones de formulaciones permitieron recolectar una cantidad significativa de datos, que proporcionaron unos conocimientos sorprendentes y valiosos que permiten el desarrollo de nuevas formulaciones ventajosas.

Los resultados de las dos selecciones de formulaciones se presentan a continuación.

15 Experimento de selección 1: Análisis y selección de las formulaciones del ejemplo 1 frente a las formulaciones comparativas del ejemplo 3

Una selección de DoE preliminar (etapa 1) evaluó el efecto que ejerce la fuerza iónica (proporcionada por NaCl), el pH y diferentes estabilizantes sobre la proteína en el desarrollo de los estudios de estabilidad a corto plazo.

Se aplicó un diseño estadístico D-Optimal de superficie de respuesta. Se consideraron tres factores:

- 20 - fuerza iónica (determinada por la concentración de NaCl, que varía en el intervalo de 25 mM-100 mM y se ajustó como un factor numérico),
- se investigó el pH (intervalo 4,6-6,4) tamponado por histidina;
- estabilizante/excipiente (factor categórico que comprende varios niveles: hidrocloreuro de lisina, arginina + ácido aspártico, manitol, trehalosa dihidrato).

25 Estas formulaciones se fabricaron, tal como se describió en el anterior ejemplo 1, comenzando a partir de DS sin polisorbato 80 y, por tanto, sin tensioactivo.

La siguiente tabla 7 resume las formulaciones ensayadas dentro de esta selección. Además de las 8 formulaciones propuestas, también se han analizado dos controles como comparadores:

- producto de fármaco comercial Humira DP (formulado como en el anterior ejemplo 3)
- 30 - sustancia fármaco de MS DS formulada como Humira comercial DP (formulada como en el anterior ejemplo 3)

Tabla 7 - Lista de formulaciones DoE1 (etapa 1) seleccionadas a través de condiciones de estrés térmico (estabilidad a 40 °C) y determinación de alta capacidad de procesamiento de la temperatura de desplegamiento de las proteínas (DSF)

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante
18	25	histidina	6,0	trehalosa dihidrato (200 mM)
19	50	histidina	6,0	hidrocloreuro de lisina (100 mM)
20	100	histidina	6,0	manitol (200 mM)

21	50	histidina	6,2	hidrocloruro de lisina (100 mM)
22	50	histidina	6,2	monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
23	75	histidina	6,2	trehalosa dihidrato (200 mM)
24	25	histidina	6,4	manitol (200 mM)
25	100	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)
Ref-1 (MS)	Composición de Humira (formulación fabricada con la sustancia fármaco de MS) - ejemplo 3			
Ref-2 (RMP MS)	Humira comercial DP (EEUU) - ejemplo 3			
Ref-3 (RMP UE)	Humira comercial DP (UE) - ejemplo 3			

Las formulaciones se ensayaron según el plan indicado en la tabla 8. Se consideró un estrés térmico de hasta un mes a 40 °C. La evaluación de alta capacidad de procesamiento realizada con la técnica DSF (dirigida a una selección rápida basada en la determinación de la temperatura de desplegamiento de las proteínas) se realizó en T0.

Tabla 8 - Panel de ensayos analíticos realizados en formulaciones DoE preliminares (etapa 1): condiciones de estrés térmico de un mes a 40 °C

Acelerado (40 °C)		Tiempo de estabilidad (semanas)		
Métodos	Ensayo	0	2 semanas	4 semanas
OD	contenido	x	-	x
SE-HPLC	agregados	x	x	x
Bioanalyzer	pureza	x	x	x
pH	pH	x	x	x
Osmolalidad	osmolalidad	x	-	-
DSF	temp. de desplegamiento	x	-	-

1.1 Selección de la osmolalidad

En la tabla 9 se indica la osmolalidad de las formulaciones DoE1 compuestas comenzando a partir de los materiales de DS con intercambio de tampón (pár. 5.1.1).

La mayoría de las formulaciones presentaron una osmolalidad en el intervalo de 250-400 mOsm/kg, mientras que se observaron unos valores ligeramente mayores en las concentraciones mayores de cloruro de sodio.

Tabla 9 - Osmolalidad (mOsm/kg) registrada en el momento 0 para las formulaciones de selección DoE1

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante	Tiempo 0
18	25	histidina	6,0	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,324
19	50	histidina	6,0	hidrocloruro de lisina (100 mM)	0,317
20	100	histidina	6,0	manitol (200 mM)	0,458
21	50	histidina	6,2	hidrocloruro de lisina (100 mM)	0,317
22	50	histidina	6,2	monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	0,307

23	75	histidina	6,2	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,434
24	25	histidina	6,4	manitol (200 mM)	0,307
25	100	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,496
					0,374
					NA
					0,310

1.2 Contenido en proteínas (OD)

Se determinó el contenido en proteínas de las formulaciones DoE1 en el momento 0 y después de un mes a 40 °C.

- 5 La figura 1 es un diagrama de barras que muestra el contenido en proteínas (mg/ml) de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un momento de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 4 semanas (barras rojas) de la formulación o formulaciones calentadas a 40 °C.

Los resultados presentados en la figura 1 indican que no se produjeron cambios significativos a lo largo del tiempo. Se descubrió que todas las concentraciones estaban en línea con la diana de 50 mg/ml.

10 1.3 Agregación (SE-HPLC)

- 15 La figura 2 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un momento de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras verdes) y de 4 semanas (barras naranjas) de la formulación o formulaciones calentadas a 40 °C. Los agregados totales observados mediante SE-HPLC frente a la estabilidad a 40 °C se representan gráficamente en la figura 2. Se observaron unos aumentos mínimos en la agregación en todas las formulaciones. Sin embargo, incluso después de un mes, todos los niveles de agregación sumaron menos del 1%.

1.4 Fragmentación (Bioanalyzer)

- 20 La figura 3 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un momento de inicio arbitrario (barras azul oscuro, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rosas) y de 4 semanas (barras azul claro) de la formulación o formulaciones calentadas a 40 °C.

- 25 En la figura 3 se indica la variación de los fragmentos a lo largo del tiempo, según se determina mediante un Bioanalyzer. Las formulaciones con un pH más ácido tienden a presentar unas velocidades de fragmentación más rápidas. Además, la presencia de aminoácidos en este intervalo de pH puede empeorar considerablemente el perfil de estabilidad.

A pH > 6,0 y en presencia de azúcar/poliol, todas las fórmulas, incluyendo las referencias, son comparables (fragmentación menor que 1% después de un mes a 40 °C).

- 30 Se descubrió que el cloruro de sodio no era un factor crítico para la estabilidad en el intervalo de 25-100 mM.

1.5 Selección de pH

La tabla 10 muestra el pH de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un momento de inicio arbitrario (tiempo = 0) y después de 2 semanas y de 4 semanas de la formulación o formulaciones calentadas a 40 °C.

- 35 Como puede observarse en la tabla 10, no se observaron desviaciones del pH diana.

Tabla 10 - pH de las formulaciones de selección DoE1 determinado con respecto a la estabilidad a 40 °C

					Tiempo de estabilidad		
Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante	Tiempo 0	2 semanas 40 °C	4 semanas 40 °C
18	25	histidina	6,0	trehalosa dihidrato (200 mM)	6,0	5,9	6,0
19	50	histidina	6,0	hidrocloruro de lisina (100 mM)	6,0	6,0	6,0
20	100	histidina	6,0	manitol (200 mM)	6,0	6,0	6,0
21	50	histidina	6,2	hidrocloruro de lisina (100 mM)	6,2	6,2	6,2
22	50	histidina	6,2	monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	6,2	6,2	6,2
23	75	histidina	6,2	trehalosa dihidrato (200 mM)	6,3	6,2	6,2
24	25	histidina	6,4	manitol (200 mM)	6,4	6,4	6,4
25	100	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	6,4	6,4	6,4
					5,2	5,2	5,2
					5,3	5,3	5,3
					5,3	5,3	5,3

1.6 Temperatura de desplegamiento (DSF)

El DSF es un método de alta capacidad de procesamiento que se dirige a la determinación de la temperatura de desplegamiento de proteínas en virtud de aumentar las interacciones con sondas fluorescentes a medida que se aplican temperaturas crecientes a las muestras. Cuando la proteína comienza a desplegarse expondrá progresivamente zonas hidrófobas al disolvente que atraen a las sondas fluorescentes que pasan de un estado libre en disolución (no fluorescente) al estado unido (a través de interacciones hidrófobas) con la proteína, aumentando con ello el grado de la señal fluorescente.

A partir de la evaluación de la señal fluorescente es posible determinar el punto medio de las curvas sigmoideas, que indica el punto de transición de cada formulación. Se supone que cuanto más alto sea el punto de transición, más alta será la resistencia de la fórmula al estrés térmico.

Los resultados de la evaluación realizada en las formulaciones de selección DoE1 se indican en la figura 4. La figura 4 es un diagrama de barras que muestra la temperatura de desplegamiento (°C), determinada mediante DSF, de las formulaciones DoE1 (del ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas).

La temperatura de desplegamiento de las tres formulaciones de referencia es 71-72 °C. Pocas formulaciones, aparte de las referencias, mostraron unas temperaturas de desplegamiento mayores que 70 °C, pero aquellas que sí las mostraron incluyen las formulaciones 23, 24 y 25 (formulaciones en tampón de histidina a pH 6,2-6,4 en presencia de trehalosa dihidrato o D-manitol a concentraciones variables de cloruro de sodio).

Por tanto, este ensayo confirma los resultados previamente obtenidos para la fragmentación mediante el Bioanalyzer: los polioles/azúcares pueden afectar positivamente a la estabilidad térmica de la proteína, en especial a pH ≥ 6,2, mientras que el cloruro de sodio no parece afectar significativamente a su comportamiento.

1.7 Cambio en el perfil de isoformas frente a RMP

Se ensayó el perfil de isoformas de la fórmula de selección DoE 25 después de 10-11 semanas a 40 °C y se comparó con muestras de referencia.

Los datos, en términos de pico principal y variaciones de la agrupación ácida, se indican en la tabla 11.

Se obtuvieron variaciones comparables para las cuatro muestras ensayadas, aunque la formulación 25 (en histidina) mostró una actuación ligeramente mejor.

Tabla 11 - Perfil de isoformas mediante iCE280 de las formulaciones más prometedoras procedentes de la selección de DoE 1 y referencias

Principal			
ID	Tiempo 0	10 semanas (40 °C)	11 semanas (40 °C)
DoE1-25	56,5	-	42,2
Ref-1 (MS)	55,8	38,5	-
Ref-3 RMP (UE)	56,5	40,7	-
Ref-2 RMP (EEUU)	56,8	40,6	-

Agrupación ácida			
ID	Tiempo 0	10 semanas (40 °C)	11 semanas (40 °C)
DoE1-25	19,5	-	36,9
Ref-1 (MS)	19,8	40,5	-
Ref-3 RMP (UE)	19,5	38,9	-
Ref-2 RMP (EEUU)	20,2	39,8	-

5 Conclusión del experimento de selección 1

Los resultados obtenidos de los ensayos con el Bioanalyzer y DSF se evaluaron de forma combinada mediante el modelo ANOVA para superficies de respuesta para determinar las mejores composiciones que probablemente puedan garantizar la mayor estabilidad térmica para la proteína.

- 10 La lista de las composiciones recomendadas se indica en la tabla 12, que también compara las actuaciones de las formulaciones de prototipos resultantes con Humira RMP, en términos de cambio en la temperatura de desplegamiento y en la fragmentación a lo largo de un mes a 40 °C.

La formulación C se corresponde con la formulación DoE1 25 y se indican los datos reales.

Comparando estas fórmulas con RMP puede concluirse que el comportamiento de estas formulaciones de prototipos en respuesta al estrés térmico es comparable con el observado para el RMP.

- 15 Tabla 12 - Resultado de los experimentos de DoE1: composiciones recomendadas para la segunda selección

Forma	Sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante
C	100	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)

- 20 De forma algo inesperada, las formulaciones que contenían trehalosa dihidrato como el único estabilizante tuvieron una actuación extremadamente buena, en especial en términos de inhibición de la fragmentación, inhibición del desplegamiento y mantenimiento del pH. Estas formulaciones basadas en trehalosa también mostraron una buena actuación en términos de agregación y precipitación. El hecho de que la trehalosa sea un candidato tan fuerte como estabilizante, en especial utilizada por sí sola, es extremadamente prometedor a la vista de sus propiedades antioxidantes, que podrían impartir una mayor estabilidad química a largo plazo (en especial frente a la oxidación y/o la fotooxidación) a las formulaciones de adalimumab. Además, el hecho de que la trehalosa pueda utilizarse por sí sola y, aun así, siga mostrando una excelente actuación, se considera especialmente alentador y abre el camino a
- 25 formulaciones menos complejas que emplean menos componentes; esto, a su vez, reduciría el procesamiento y los costes asociados con la producción del fármaco de adalimumab pertinente. Así, estas formulaciones basadas en trehalosa se llevaron a una segunda ronda de experimentos de selección para ajustar aún más las formulaciones.

Experimento de selección 2: Análisis y selección de las formulaciones del ejemplo 2 frente a las formulaciones comparativas del ejemplo 3

- 30 Se identificó un prototipo de formulación procedente de la selección previa (tabla 12). Puesto que la etapa previa se

realizó sin ningún tensioactivo añadido, la segunda etapa se dirigió a seleccionar una serie de niveles de tensioactivo de polisorbato 80 mezclado (intervalo: 0-1 mg/ml) para evaluar si la adición de un tensioactivo resulta necesaria para favorecer la estabilidad de la proteína.

- 5 La tabla 3 (ejemplo 2) resume el diseño de esta segunda etapa del estudio y lista las formulaciones (formulaciones DeE2) ensayadas en este segundo ejercicio de selección.

Generalmente, se ha observado que los tensioactivos contrastan la agregación inducida por un estrés mecánico y, por tanto, se realizaron ensayos de estrés por agitación para evaluar cómo afecta el polisorbato 80 a la estabilidad de las proteínas y su respuesta a la agitación.

- 10 Al igual que en la etapa 1, también se evaluaron las composiciones de referencia descritas en el ejemplo 3 para proporcionar una línea de base para el desarrollo de una nueva formulación.

La lista completa de análisis realizados en este bloque de formulaciones se indica en la tabla 13. En esta segunda selección, las respectivas formulaciones fueron expuestas a tres tipos diferentes de estrés, térmico, mecánico y lumínico.

- 15 Tabla 13 - Panel de ensayos analíticos realizados en formulaciones DoE2 (etapa 2): condiciones de estrés térmico durante un mes a 40 °C (A), estrés por agitación a 200 rpm (B) y exposición a la luz según ICH Q1B (C)

A. Estrés térmico a 40 °C				
Acelerado (40 °C)		Tiempo de estabilidad (semanas)		
Métodos	Ensayo	0	2 semanas	4 semanas
OD	contenido	x	-	x
iCE280	isoformas	x	x	x
SE-HPLC	agregados	x	x	x
Bioanalyzer	pureza	x	x	x
pH	pH	x	x	x
Osmolalidad	osmolalidad	x	-	-
Nefelometría	turbidez	x	x	x
DSF	temp. de desplegamiento	x	-	-

B. Condiciones de estrés por agitación				
Estrés de agitación (200 rpm)		Tiempo de estabilidad (semanas)		
Métodos	Ensayo	0	2 semanas	4 semanas
OD	contenido	x	-	-
SE-HPLC	agregados	x	x	x
Bioanalyzer	pureza	x	x	x
pH	pH	x	x	x
Nefelometría	turbidez	x	x	x

C. Exposición a la luz, 7 horas de exposición a 765 W/m² (ICH Q1B)			
Exposición a la luz		Muestra	
Métodos	Ensayo	Tiempo 0	Expuesta
OD	contenido	x	-
iCE280	isoformas	x	x
SE-HPLC	agregados	x	x
Bioanalyzer	pureza	x	x
pH	pH	x	x
Nefelometría	turbidez	x	x

Los ensayos de estrés térmico se realizaron simplemente calentando una muestra de las formulaciones pertinentes a la temperatura estipulada durante la cantidad de tiempo estipulado (generalmente 2 semanas o 4 semanas/1 mes).

- 5 Los ensayos de estrés mecánico se realizaron simplemente agitando de modo mecánico una muestra de las formulaciones pertinentes a temperatura ambiente a 200 rpm durante el periodo de tiempo estipulado (generalmente 24 horas o 48 horas).

- 10 Los ensayos de estrés lumínico se realizaron simplemente exponiendo una muestra de las formulaciones pertinentes a una luz de 765 W/m² (según las directrices de ICH Q1B de la Agencia Europea del Medicamento con relación a los ensayos de fotoestabilidad de nuevas sustancias activas y productos medicinales) durante 7 horas.

2.1 Osmolalidad

- 15 La osmolalidad de las formulaciones de selección DoE2 se indica en la tabla 14. Los valores, incluidos en el intervalo de 378-401 mOsm/kg, están probablemente sobreestimados debido a la presencia de trehalosa dihidrato, que puede conducir a un pequeño aumento en la viscosidad que afecta al punto crioscópico de las disoluciones y, por tanto, a la osmolalidad. Esto se confirmó por medio de mediciones con relación a otras formulaciones de ensayo, que fueron diluidas en 3 veces con WFI antes del ensayo de la osmolalidad para disminuir la viscosidad: la verdadera osmolalidad de todas estas formulaciones es < 350 mOsm/kg.

Tabla 14 - Osmolalidad de las formulaciones de selección DoE2 (ensayadas sin diluir)

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante	Conc. de tensioactivo (polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0
DoE2-7	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0	381
DoE2-8	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	381
DoE2-9	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	1	378

- 20 2.2 Contenido en proteínas (OD)

El contenido en proteínas de todas las formulaciones DoE2 en el momento 0 se encontraba en línea con la concentración diana de proteínas de 50 mg/ml (tabla 15).

Tabla 15 - Contenido en proteínas (OD) de las formulaciones de selección DoE2 (ensayadas sin diluir)

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante	Conc. de tensioactivo (polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0
DoE2-7	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0	49,9
DoE2-8	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	50,2
DoE2-9	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	1	50,4

2.3 Agregados con estrés térmico (SE-HPLC)

5 Las variaciones en los agregados totales mediante SE-HPLC se presentan en la figura 5. La figura 5 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un punto de inicio arbitrario (barras rojas, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras moradas) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

10 Se observaron cambios mínimos en todas las formulaciones, siendo la cantidad total de agregados después de un mes a 40 °C menor que 1%.

Las actuaciones de las formulaciones de selección DoE2 fueron comparables/ligeramente mejores que las de los materiales de RMP.

2.4 Fragmentación con estrés térmico (Bioanalyzer)

15 Las variaciones en los fragmentos determinadas mediante un Bioanalyzer se presentan en la figura 6. La figura 6 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

20 La formulación DoE2-7 (sin polisorbato 80) sufre un aumento coherente en los fragmentos, mientras que las otras dos, en presencia de tensioactivo, resultaron comparables a los materiales de RMP. Considerando los datos disponibles de los experimentos DoE1 sobre la formulación n.º 25 (comparable a la forma 7 de DoE2), puede concluirse que la mayor degradación de DoE2-7 puede atribuirse a una posible contaminación de la muestra.

2.5 Perfil de isoformas con estrés térmico (iCE280)

25 El pico principal y los cambios en la agrupación ácida de las tres formulaciones a lo largo de un mes a 40 °C se indican en las figuras 7 y 8, respectivamente.

La figura 7 es un diagrama de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

30 La figura 8 es un diagrama de barras que muestra el perfil de las isoformas del pico o picos de la agrupación ácida, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

35 Los mayores cambios se observan en DoE2-7 (aproximadamente 15% en el pico principal), pero esto puede derivarse de una posible contaminación de la muestra, tal como se indicó previamente.

Estos resultados confirman las pruebas experimentales que ya fueron indicadas por iCE280 sobre las formulaciones de prototipos (que resultan de la primera selección): las formulaciones en histidina presentan unas velocidades de degradación comparables, en términos de perfil de isoformas, a RMP.

40 Los resultados, en términos de la agrupación ácida, están en línea con las observaciones realizadas para el pico principal.

2.6 Selección de pH con estrés térmico

La variación en el pH de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) a lo largo de un periodo de tiempo durante el cual

las formulaciones se calientan a 40 °C se muestra en la tabla 16.

Se observaron disminuciones en el pH en DoE2-7, tal como se muestra en la tabla 16. Esto puede derivarse de posibles contaminaciones/proliferación de bacterias en las muestras.

Tabla 16 - Selección DoE2: pH (estrés térmico a 40 °C)

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante	Conc. de tensioactivo (polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	2 semanas (40 °C)	4 semanas (40 °C)
DoE2-7	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0	6,4	4,3	4,3
DoE2-8	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	6,4	6,4	6,4
DoE2-9	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	1	6,4	6,4	6,4

5

2.7 Turbidez con estrés térmico (nefelometría)

La figura 9 es un diagrama de barras que muestra la turbidez, determinada mediante nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han calentado a 40 °C.

10

La turbidez de las tres formulaciones, en el momento 0, está en el intervalo de las disoluciones generalmente opalescentes (6-18 NTU). Con respecto a los materiales de DS originarios, con una turbidez típica de 19-52 NTU, las disoluciones DP, después de una filtración aséptica, fueron considerablemente aclaradas.

De manera importante, los valores de turbidez de Humira RMP normalmente son de aproximadamente 10 NTU, en línea con las fórmulas de los inventores.

15

2.8 Agregados con estrés mecánico (SE-HPLC)

La figura 10 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han agitado de modo mecánico.

20

Las variaciones en los agregados totales mediante SE-HPLC se presentan en la figura 10.

Se observaron cambios mínimos (+0,1%) para todas las formulaciones en tampón de histidina.

2.9 Fragmentación con estrés mecánico (Bioanalyzer)

La figura 11 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han agitado de modo mecánico.

25

Las variaciones en los fragmentos determinadas por un Bioanalyzer se presentan en la figura 11. Se observaron cambios mínimos, siendo todos los valores registrados igual o menores que 0,5%.

Después de 48 horas de agitación a temperatura ambiente, todas las muestras presentaron una fragmentación en el intervalo de 0,2-0,4%. No se observó ninguna tendencia hacia un aumento en la fragmentación después de la agitación mecánica.

30

2.10 Selección de pH con estrés mecánico

La variación en el pH de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) a lo largo de un periodo de tiempo durante el cual las formulaciones se agitan de modo mecánico se muestra en la tabla 17. No se observaron cambios.

35

Tabla 17 - Selección DoE2: pH (agitación mecánica)

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante	Conc. de tensioactivo (polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	2 semanas (40 °C)	4 semanas (40 °C)
DoE2-7	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0	6,4	6,5	6,5
DoE2-8	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	6,4	6,4	6,4
DoE2-9	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	1	6,4	6,4	6,4

2.11 Turbidez con estrés mecánico (nefelometría)

- 5 La figura 12 es un diagrama de barras que muestra la turbidez, determinada mediante nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo = 0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se han agitado de modo mecánico. No se observaron cambios.

2.12 Agregados con estrés lumínico (SE-HPLC)

- 10 La figura 13 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

- 15 También se realizaron comparaciones con muestras de Humira (de EEUU y UE) tratadas bajo las mismas condiciones. En el RMP, la agregación aumenta hasta 9-15% tras la exposición a la luz (en el momento 0, los agregados son menores que 1%). Todas las formulaciones DoE2 presentan unos aumentos menores o comparables y, por tanto, una resistencia mejor/similar al estrés térmico. Dicho con más detalle:

formulaciones en tampón de histidina: 5,8→9,2% de agregados totales tras la exposición a la luz

2.13 Fragmentación con estrés lumínico (Bioanalyzer)

- 20 La figura 14 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de fragmentación, determinado mediante un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

Se indican unos aumentos mínimos (+0,3% como máximo, después de la exposición). Todas las cantidades de fragmentación están muy por debajo de 1% después de una exposición durante 7 horas (figura 14).

2.14 Perfil de isoformas con estrés lumínico (iCE280)

- 25 La figura 15 es un diagrama de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

- 30 La figura 16 es un diagrama de barras que muestra el perfil de las isoformas del pico o picos de la agrupación ácida, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas).

- 35 En el Humira RMP, la exposición a la luz determina unos efectos significativos: de forma importante, se observan unas disminuciones en la abundancia del pico principal (aproximadamente -9%) y un aumento concurrente en la agrupación ácida (hasta +15%), relacionados con el fenómeno de la fotooxidación.

Se descubrió que las fórmulas en histidina fueron más susceptibles a la degradación que resulta de la exposición a la luz que el RMP: las disminuciones en la abundancia del pico principal son -11,4% (DoE2-7) o incluso mayor (aproximadamente -18% para los otros), y los aumentos en la agrupación ácida llegaron a +27%.

- 40 La histidina es susceptible a la oxidación, que deriva de una intensa exposición a la luz, y los productos de la degradación (generalmente peroxidasas) liberados por los polisorbato bajo condiciones de estrés. Por tanto, polisorbato 80 + histidina es una combinación que puede crear una mayor inestabilidad bajo un estrés lumínico.

Para aclarar aún más el impacto del tensioactivo y determinar si es necesario a evitar la degradación de las proteínas/formación de partículas tras los ciclos de congelación-descongelación, se realizaron experimentos

especializados que indicaron que el polisorbato 80 no aporta ningún valor añadido. Esto podría conducir, en último término, a una formulación de apoyo sin tensioactivo en histidina.

2.15 Turbidez con estrés lumínico (nefelometría)

5 La figura 17 es un diagrama de barras que muestra la turbidez, determinada mediante nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo = 0) y después de una exposición durante 7 horas a una luz de 765 W/m² (barras rojas). Fundamentalmente no se observaron cambios.

2.16 Selección de pH con estrés lumínico

10 La variación en el pH de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), a lo largo de un periodo de tiempo en el que las formulaciones se exponen durante 7 horas a una luz de 765 W/m² se muestra en la tabla 18. No se observaron cambios.

Tabla 18 - Selección DoE2: pH (exposición a la luz)

Forma n.º	Conc. de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizante	Conc. de tensioactivo (polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	Después de la exposición
DoE2-7	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0	6,4	6,5
DoE2-8	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	6,4	6,5
DoE2-9	50	histidina	6,4	trehalosa dihidrato (200 mM)	1	6,4	6,5

2.17 Efecto del tensioactivo sobre los ciclos de congelación-descongelación

15 Los perfiles de isoformas, los agregados y las partículas subvisibles de las tres formulaciones DoE2 se determinaron ante y después de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente) para evaluar si el tensioactivo ejerce algún impacto.

La figura 18 es un diagrama de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

20 La figura 19 es un diagrama de barras que muestra el perfil de las isoformas del pico o picos de la agrupación ácida, determinado mediante análisis de iCE280, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

25 La figura 20 es un diagrama de barras que muestra el porcentaje de agregación, determinado mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan formulaciones de HUMIRA® comparativas) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

30 La figura 21 es un diagrama de barras que muestra la concentración del número (n.º/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 10 micrómetros, según se determina mediante un análisis de recuento de partículas subvisibles, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

La figura 22 es un diagrama de barras que muestra la concentración del número (n.º/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor o igual a 25 micrómetros, según se determina mediante un análisis de recuento de partículas subvisibles, de las formulaciones DoE2 (del ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo = 0) y después m² (barras rojas) cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente).

35 No se observaron cambios en las isoformas y los agregados (figuras 18-20) tras la congelación-descongelación, mientras que se indican cambios mínimos, no críticos (figuras 21-22) en las partículas subvisibles, que se descubrió que no estaban relacionados con la presencia del tensioactivo. Es muy probable que el mayor recuento de partículas en DoE2-8 esté relacionado con la preparación de las muestras.

40 Por tanto, la adición del tensioactivo no aporta ningún valor añadido si se desea prevenir la formación de partículas y agregados/degradación de las proteínas durante los ciclos de congelación-descongelación. Esto indica la eficacia de las nuevas formulaciones, independientemente del tensioactivo.

Conclusión del experimento de selección 2

Basándose en los datos recogidos, con respecto al estrés térmico, mecánico y lumínico, puede llegarse a la siguiente conclusión:

En las formulaciones en tampón de histidina 10 mM a pH 6,4 (DoE2-7, DoE2-8, DoE2-9):

- tras un estrés térmico, se indican actuaciones comparables a Humira.

5 - se produce un aumento mínimo en la agregación tras la agitación mecánica.

- aumenta la degradación y el cambio en el perfil de isoformas con respecto a Humira, debido a la susceptibilidad de la histidina a la luz y a los productos de la degradación procedentes del polisorbato 80. La formulación sin polisorbato 80 en este grupo (DoE2-7) aún es ligeramente peor que RMP, pero es considerablemente mejor que las otras en histidina + polisorbato 80 (0,5 o 1,0 mg/ml).

10 Se ha evaluado la presencia de polisorbato 80 para evaluar su eficacia y función como protector para la proteína (protección frente a la congelación-descongelación). Después de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C → temperatura ambiente), se observó que el tensioactivo no aporta ningún valor añadido, y la recomendación es avanzar a DoE2-7, que no lleva tensioactivo (adalimumab 50 mg/ml, trehalosa dihidrato 200 mM, cloruro de sodio 50 mM en histidina 10 mM, pH 6,4).

15 Basándose en el trabajo de selección realizado con diferentes formulaciones que varían en tampón/pH, estabilizante, cantidad de agente de isotonicidad (NaCl) y nivel de tensioactivo (polisorbato 80), se ha concluido que la mejor composición, que muestra unas características comparables e incluso mejores con respecto a Humira bajo diferentes condiciones de estrés (térmico, mecánico, lumínico) es:

Ingrediente	Cantidad (mg/ml)
Adalimumab	50
Histidina (anhidra)	1,55*
Trehalosa dihidrato	75,67**
Cloruro de sodio	2,92***
WFI e hidróxido de sodio	c.s hasta ajustar el pH a 6,4

* se corresponde con histidina 10 mM; ** se corresponde con 200 mM; *** se corresponde con 50 mM

20 Estas formulaciones pueden incorporarse con facilidad dentro de jeringas de vidrio precargadas con agujas 29G de 1,27 cm.

Abreviaturas

DoE: diseño de experimento

DP: producto de fármaco

25 DS: sustancia fármaco

DSF: fluorimetría de barrido diferencial

OD: densidad óptica

PES: poliétersulfona

rpm: rondas por minuto

30 TA: temperatura ambiente

SE-HPLC: cromatografía líquida de alta resolución de exclusión molecular

SMI: resumen de las instrucciones de fabricación

SOP: procedimiento de ejecución convencional

WI: instrucciones de trabajo

35

REIVINDICACIONES

1.- Una composición farmacéutica líquida que comprende:

- adalimumab de 45 a 55 mg/ml;
- histidina de 5 a 14 mM (o un sistema de tampón de histidina);

- 5 - trehalosa de 190 a 210 mM;
- cloruro de sodio de 40 a 60 mM;
- agua (para inyección);

en la que la composición:

- tiene un pH entre 6,3 y 6,5;
- 10 · no comprende arginina o comprende arginina en una concentración máxima de 0,001 mM;
- no comprende aminoácidos distintos de la histidina o comprende uno o más aminoácidos distintos de la histidina en una concentración (colectiva) máxima de 0,001 mM;
 - no comprende tensioactivos o comprende uno o más tensioactivos en una concentración (colectiva) máxima de 0,0001 mM; y/o
- 15 · no comprende agentes tamponantes de fosfato o comprende un sistema de tampón fosfato en una concentración máxima de 0,001 mM.

2.- La composición farmacéutica líquida de la reivindicación 1, en la que la composición comprende:

- adalimumab 50 mg/ml;
- histidina 10 mM (o un sistema de tampón de histidina);

- 20 - trehalosa 200 mM;
- cloruro de sodio 50 mM;
- polisorbato 80 1,0 mg/ml; y
- agua (para inyección);

en la que la composición:

- 25 · tiene un pH de 6,4;
- no comprende arginina;
 - no comprende aminoácidos distintos de la histidina;
 - no comprende tensioactivos; y
 - no comprende agente tamponantes de fosfato/sistemas de tampón fosfato.

30 3.- La composición farmacéutica líquida de la reivindicación 1, en la que la composición comprende:

- adalimumab 50 mg/ml;
- histidina 10 mM (o un sistema de tampón de histidina);
- trehalosa 200 mM;
- cloruro de sodio 50 mM; y

- 35 - agua (para inyección);

en la que la composición:

- tiene un pH de 6,4.

4.- La composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la osmolalidad

de la composición está entre 220 y 390 mOsm/kg.

5.- La composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la temperatura de desplegamiento de las proteínas del adalimumab en una composición farmacéutica líquida es mayor o igual a 70 °C.

- 5 6.- Un dispositivo de transporte de fármacos que comprende una composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

7.- El dispositivo de transporte de fármacos de la reivindicación 6, en el que el dispositivo de transporte de fármacos es un vial, una ampolla, una jeringa, una pluma de inyección o una bolsa intravenosa que comprende la composición farmacéutica líquida.

- 10 8.- Una composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, la artritis psoriática, la espondilitis anquilosante, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la psoriasis crónica de moderada a grave y/o la artritis idiopática juvenil.

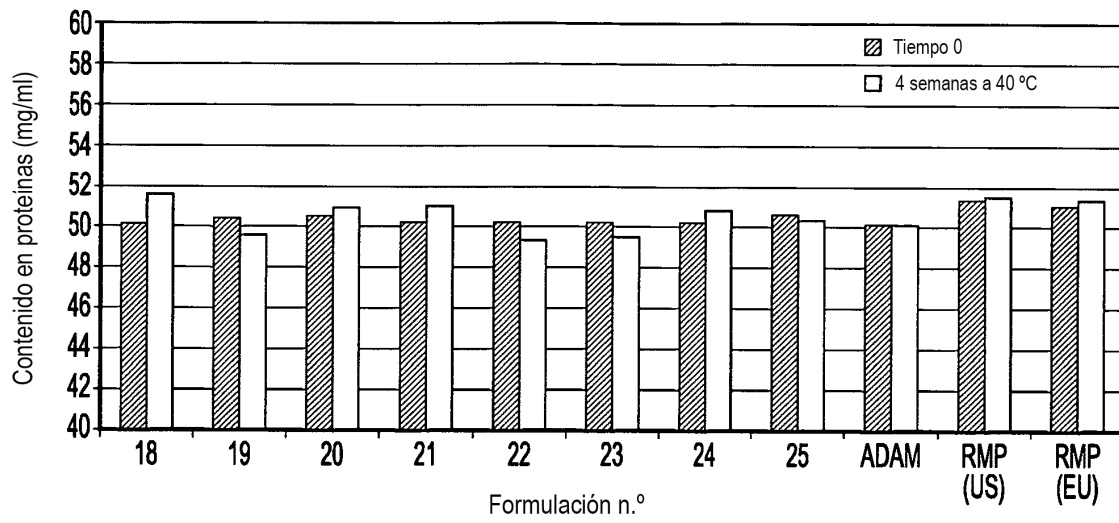


FIG. 1

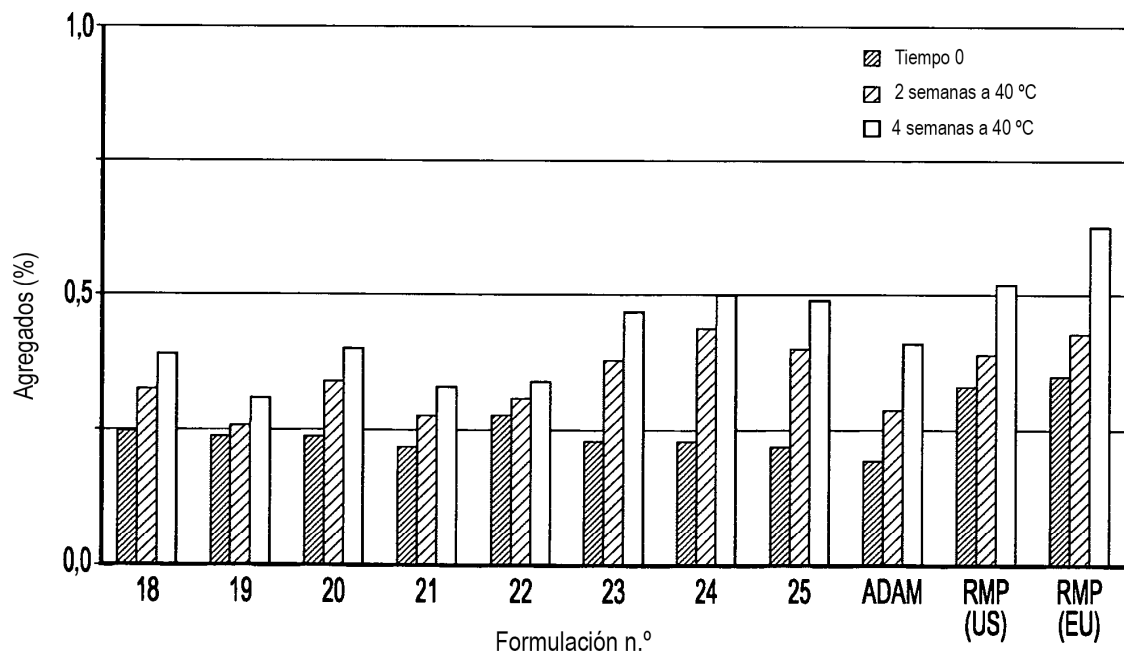


FIG. 2

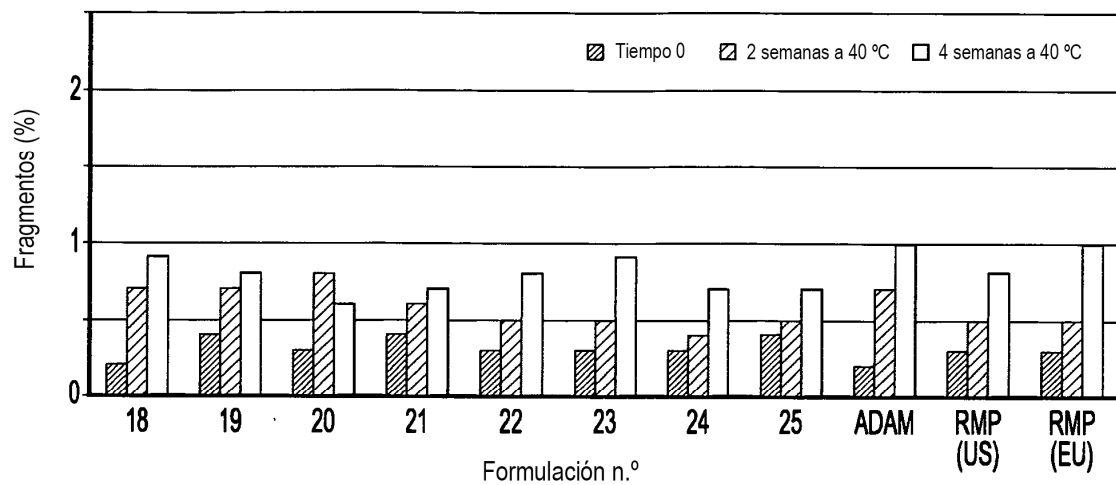


FIG. 3

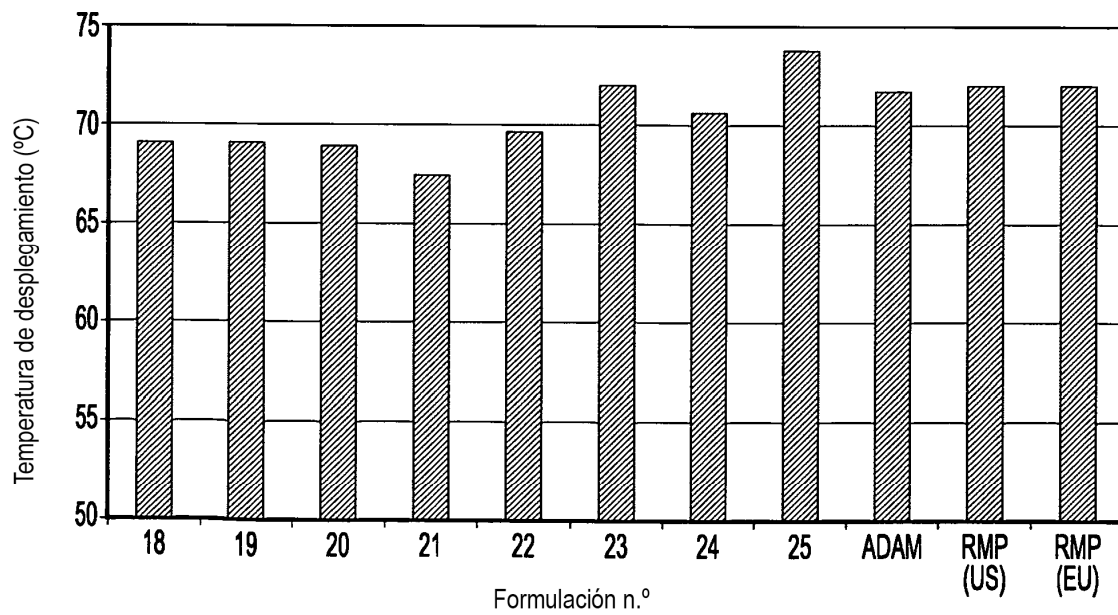


FIG. 4

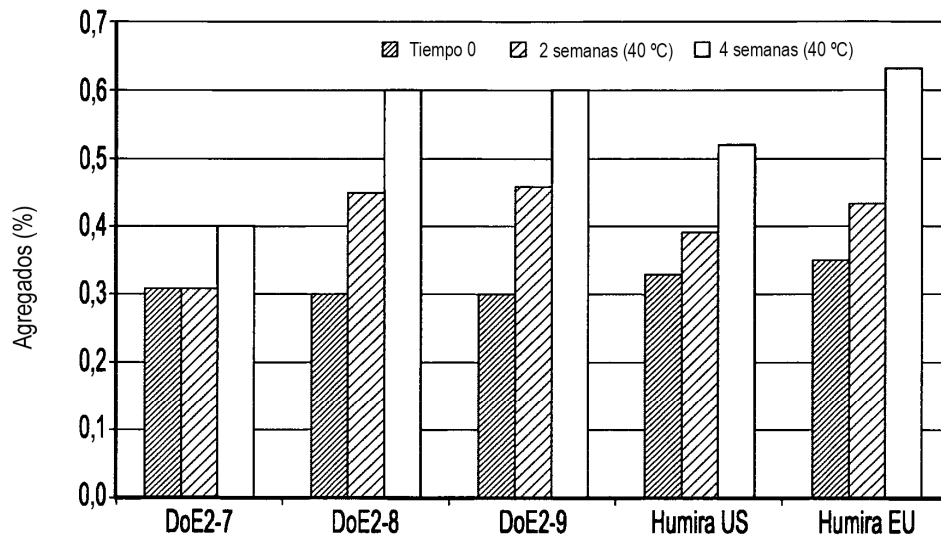


FIG. 5

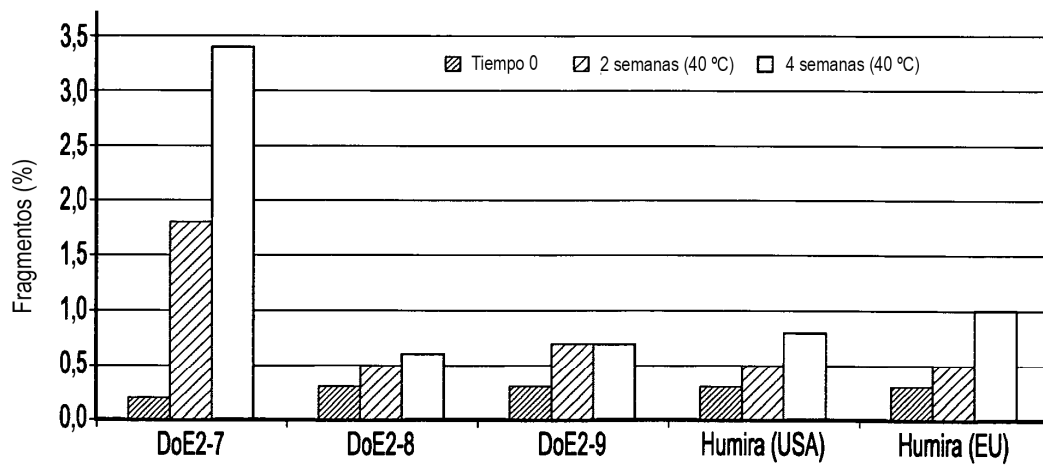


FIG. 6

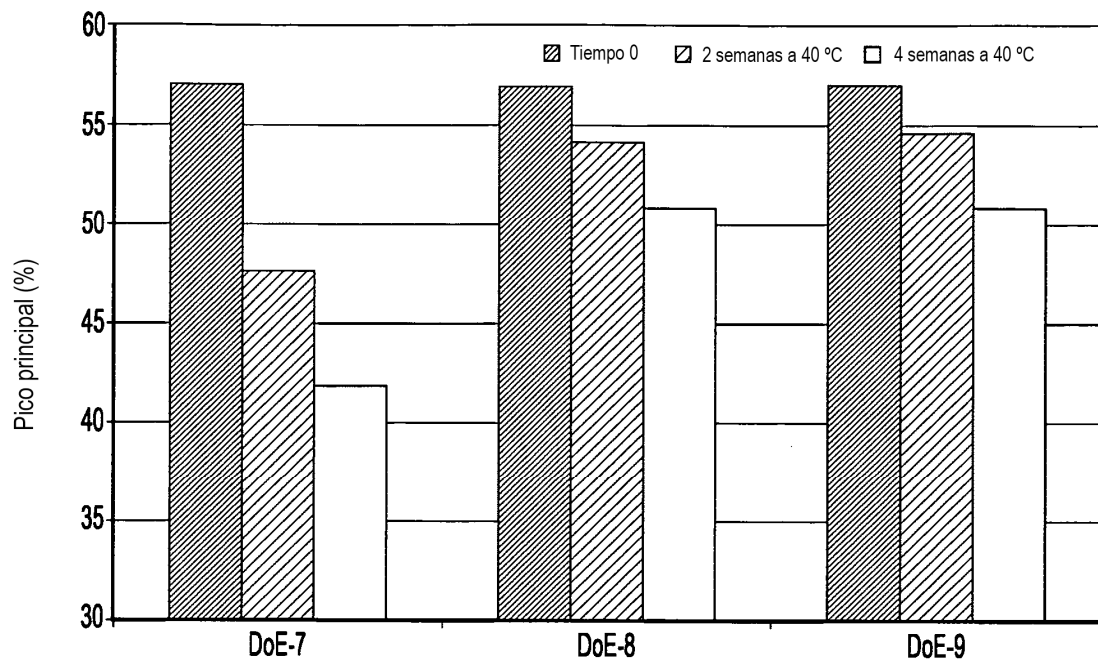


FIG. 7

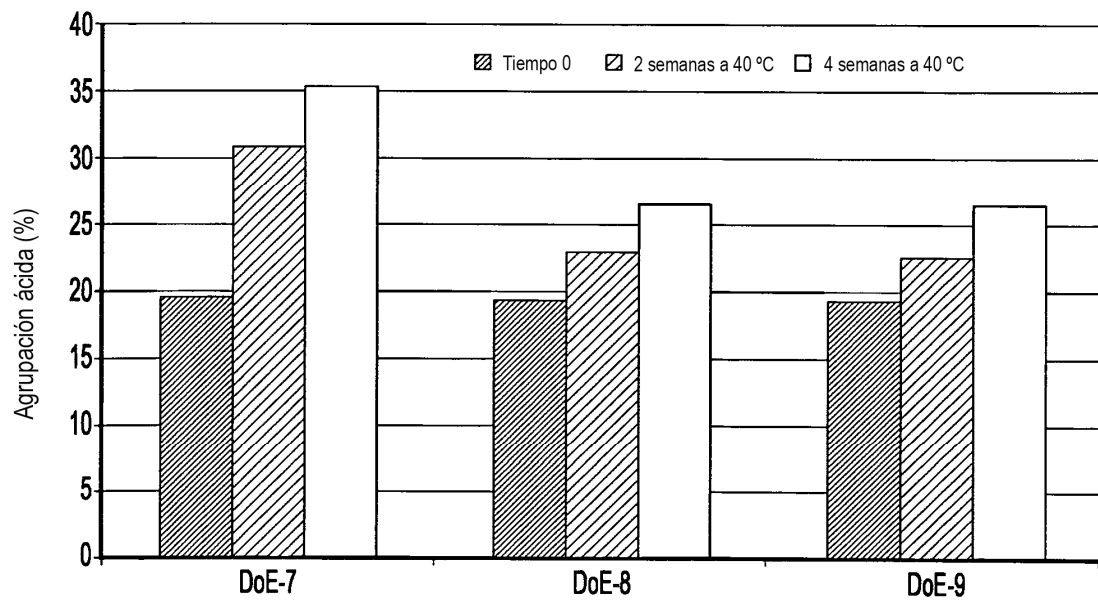


FIG. 8

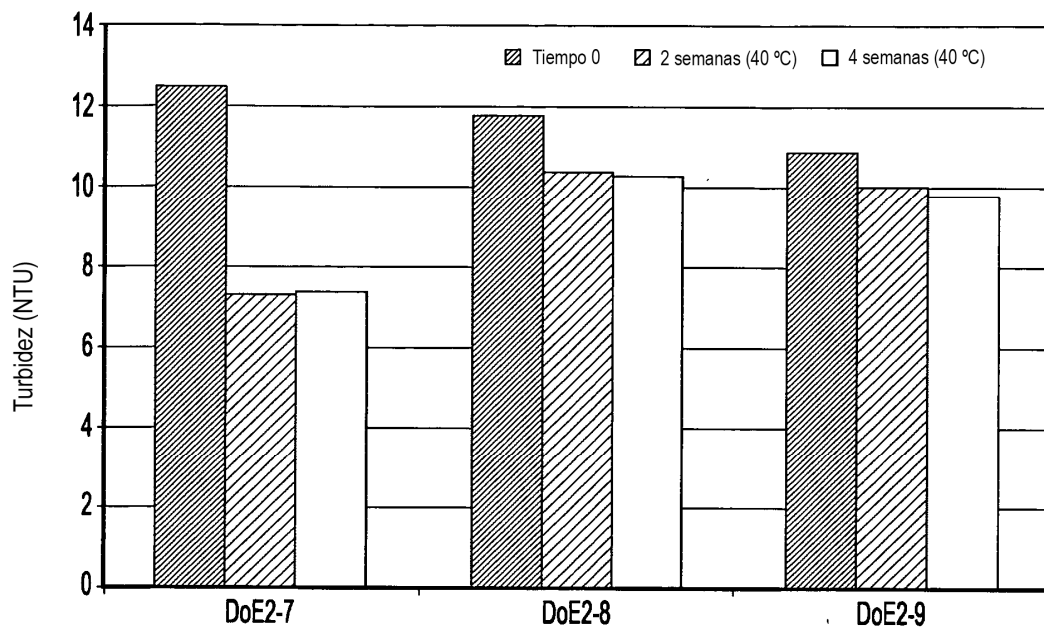


FIG. 9

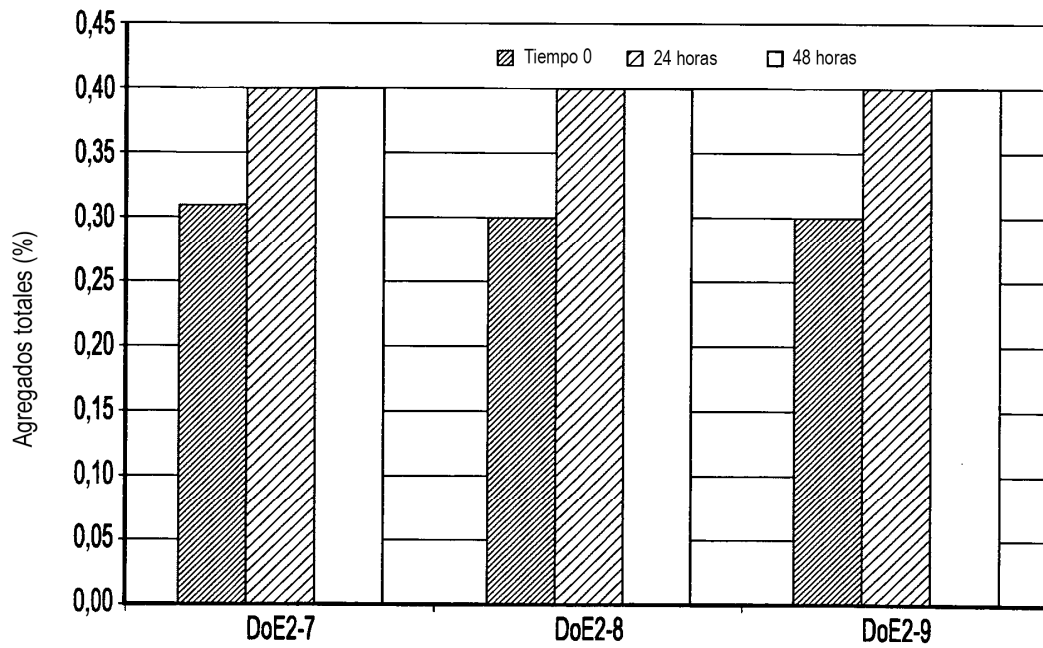


FIG. 10

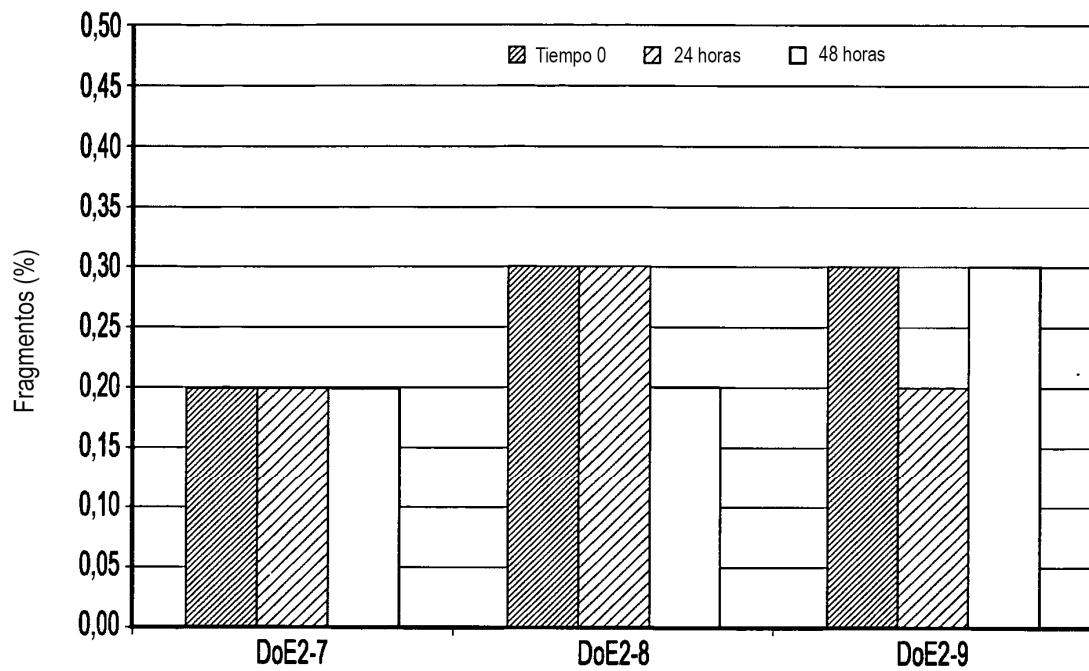


FIG. 11

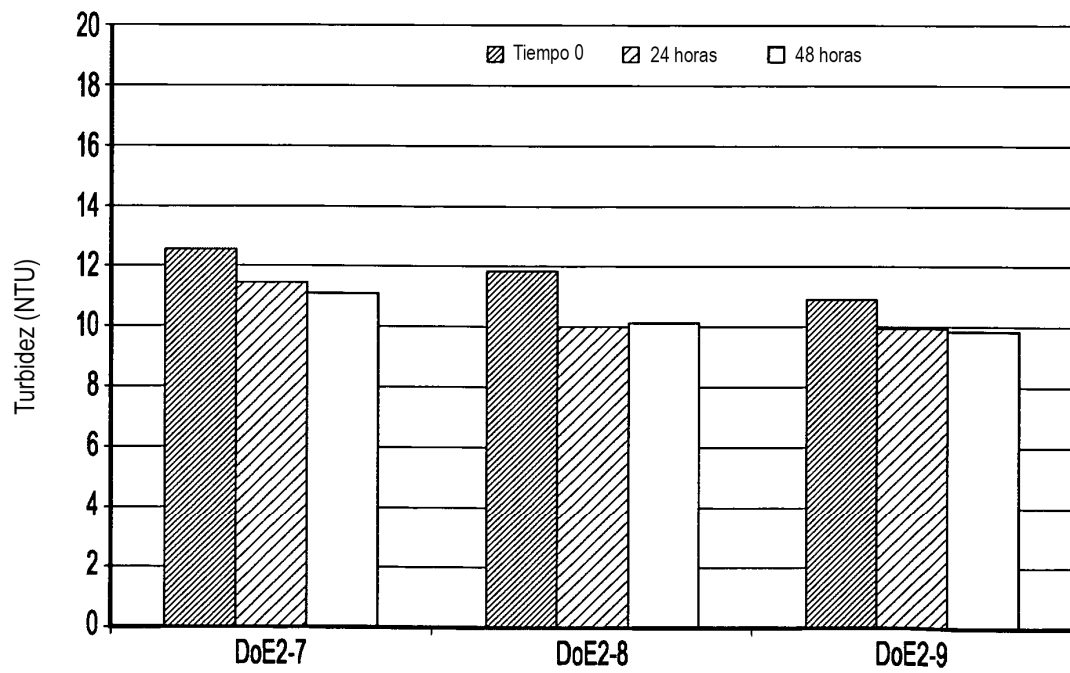


FIG. 12

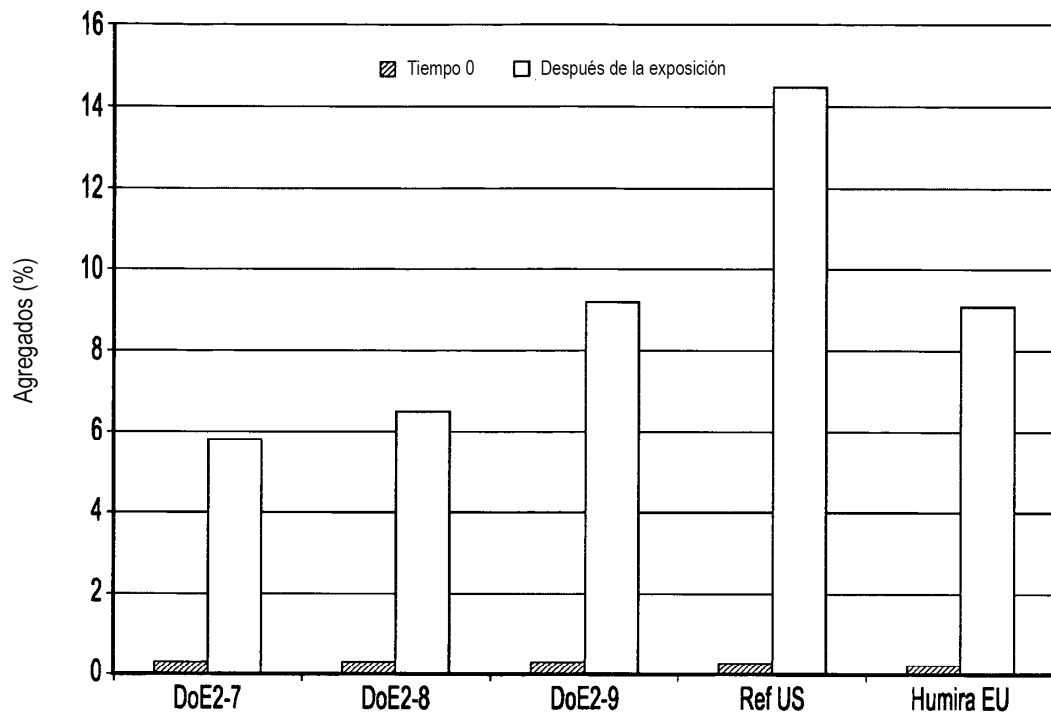


FIG. 13

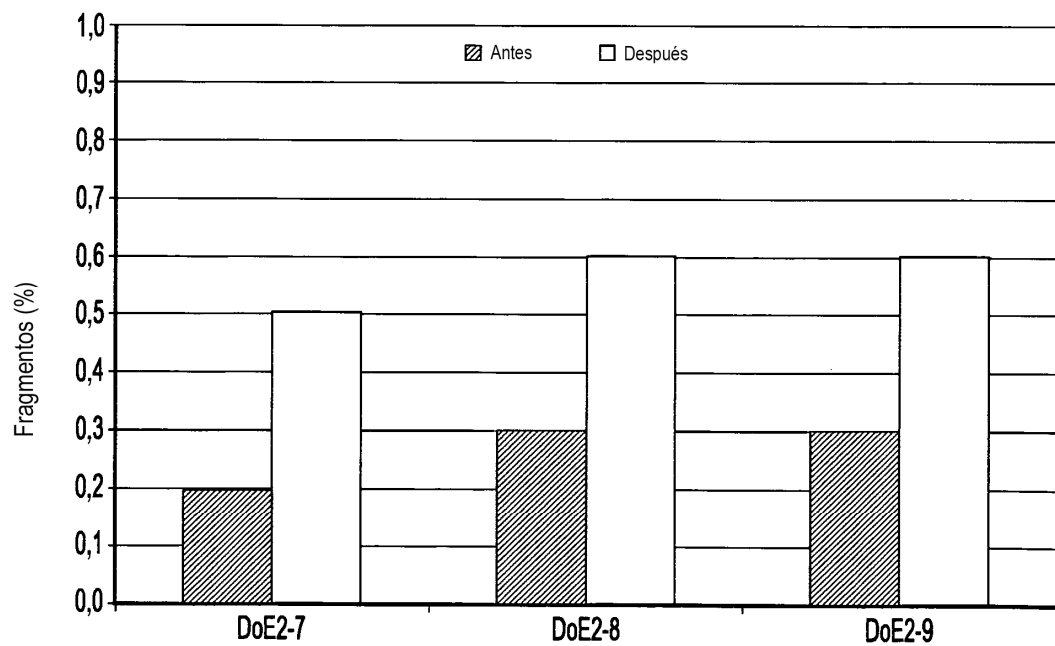


FIG. 14

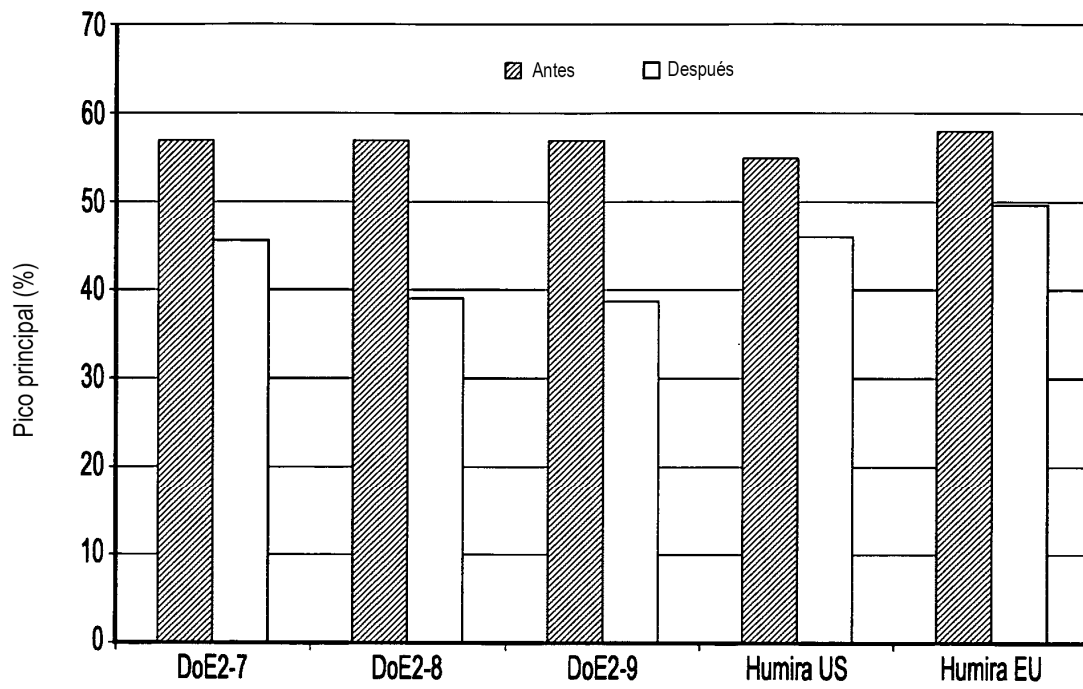


FIG. 15

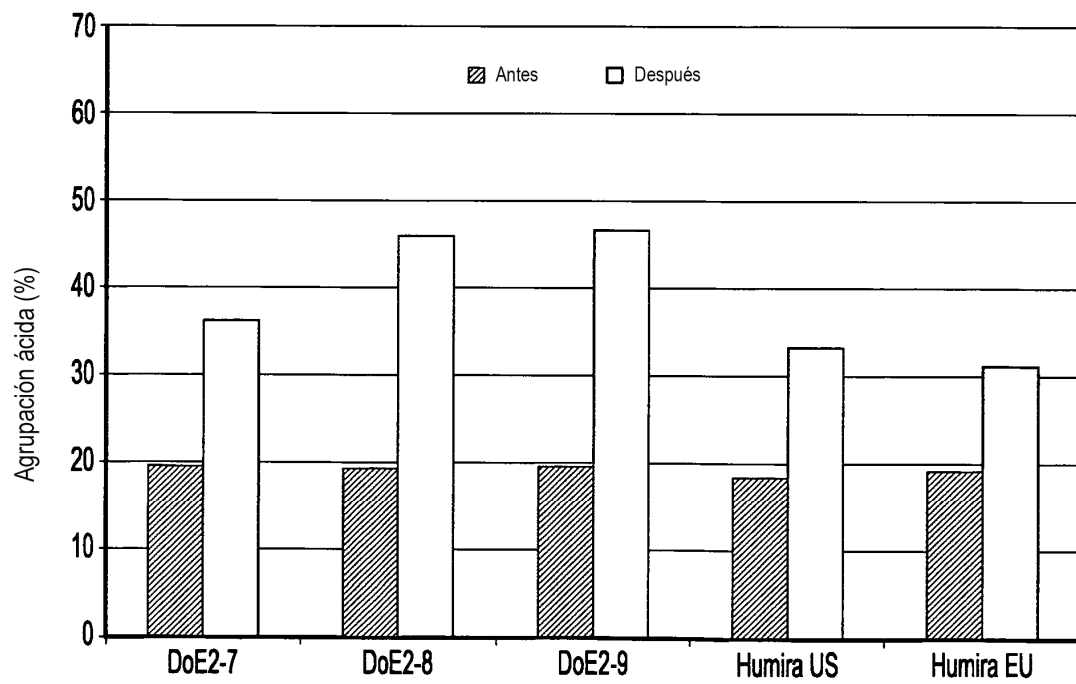


FIG. 16

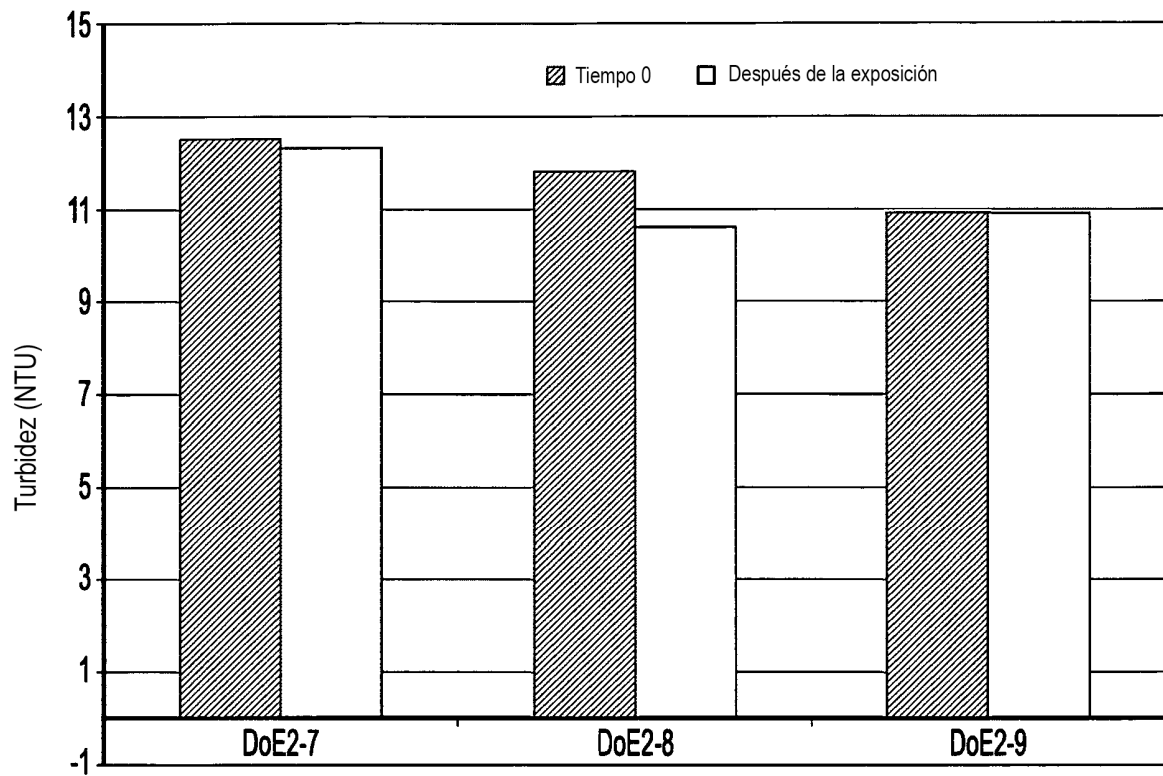


FIG. 17

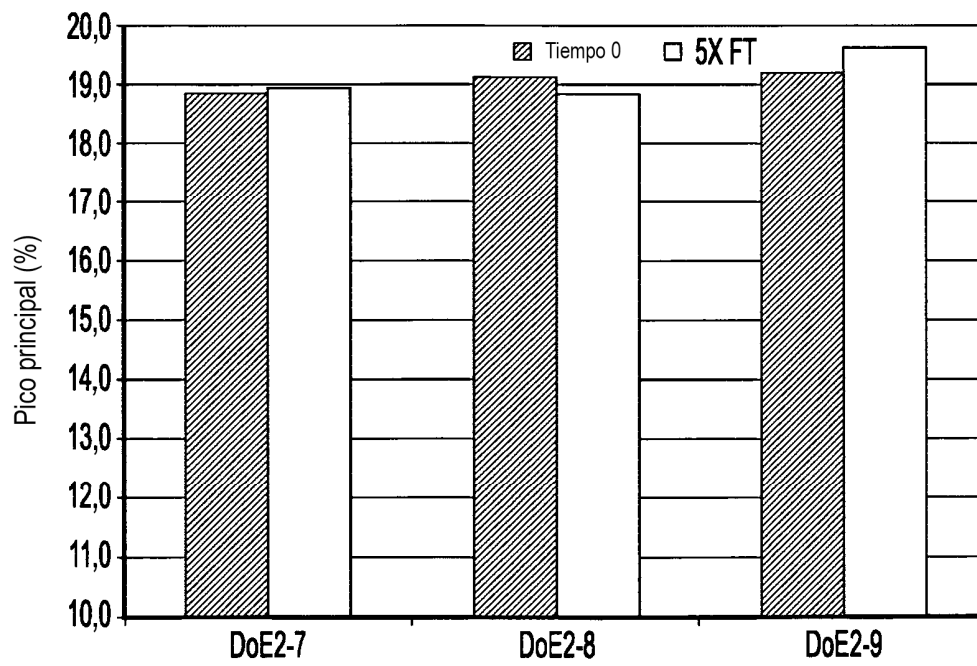


FIG. 18

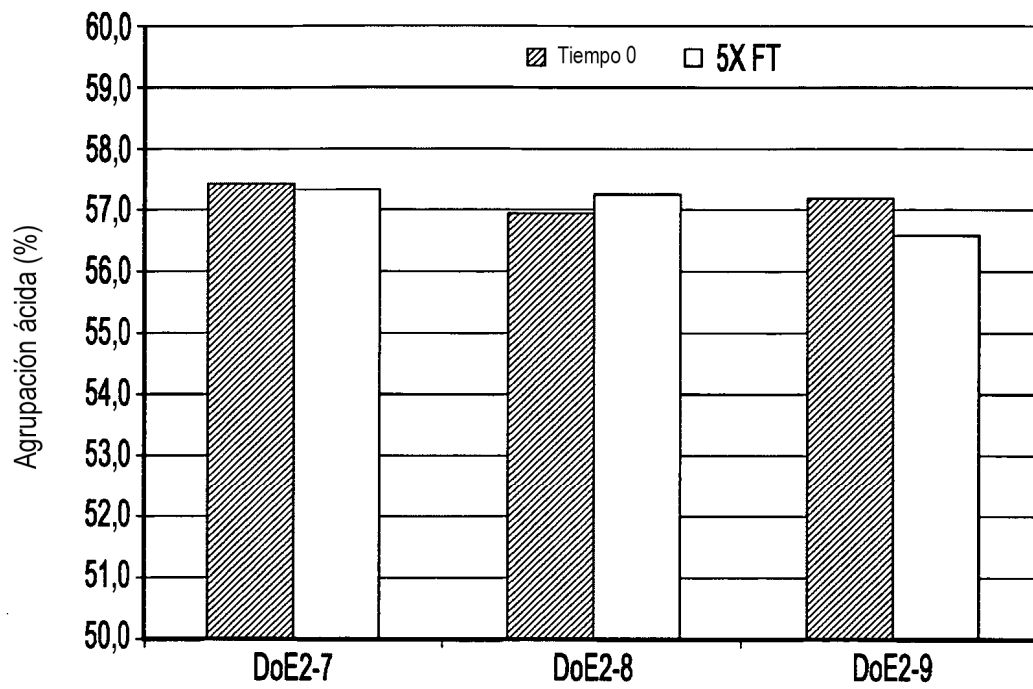


FIG. 19

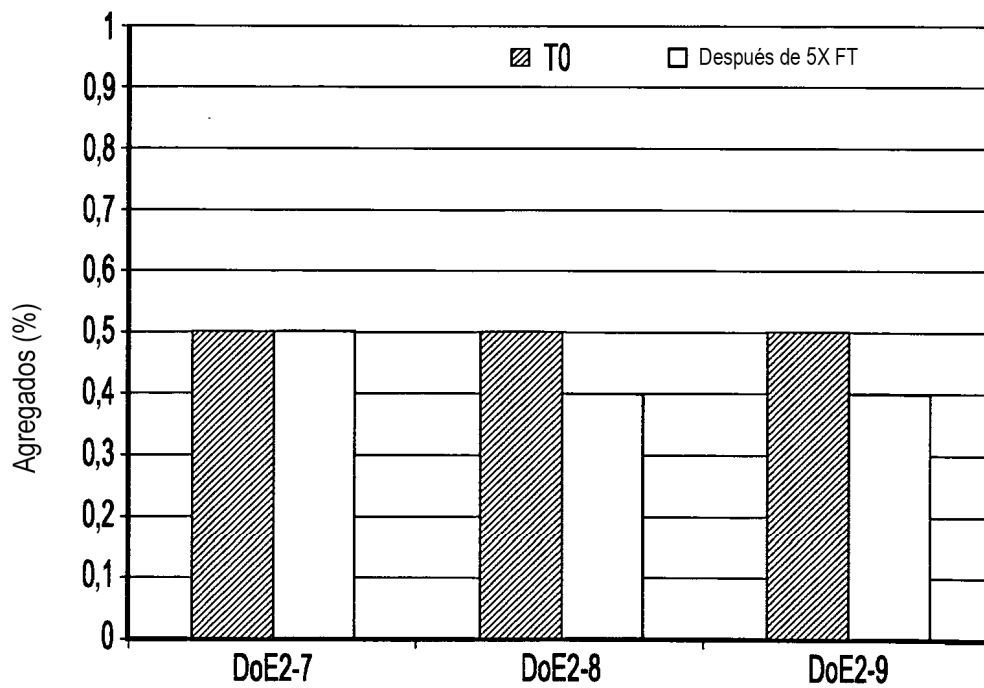


FIG. 20

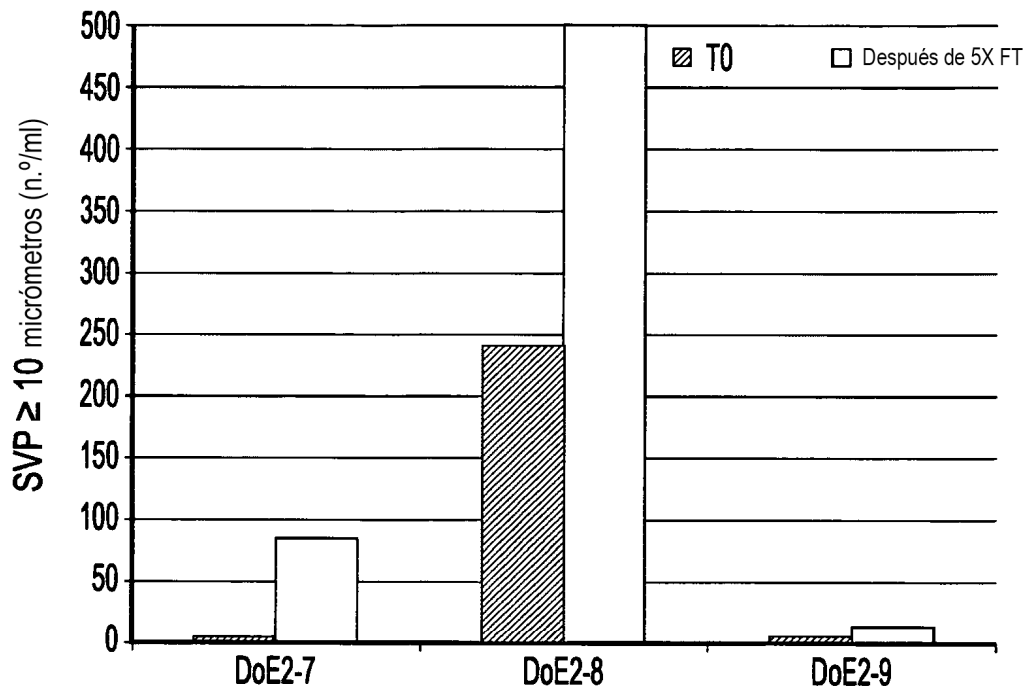


FIG. 21

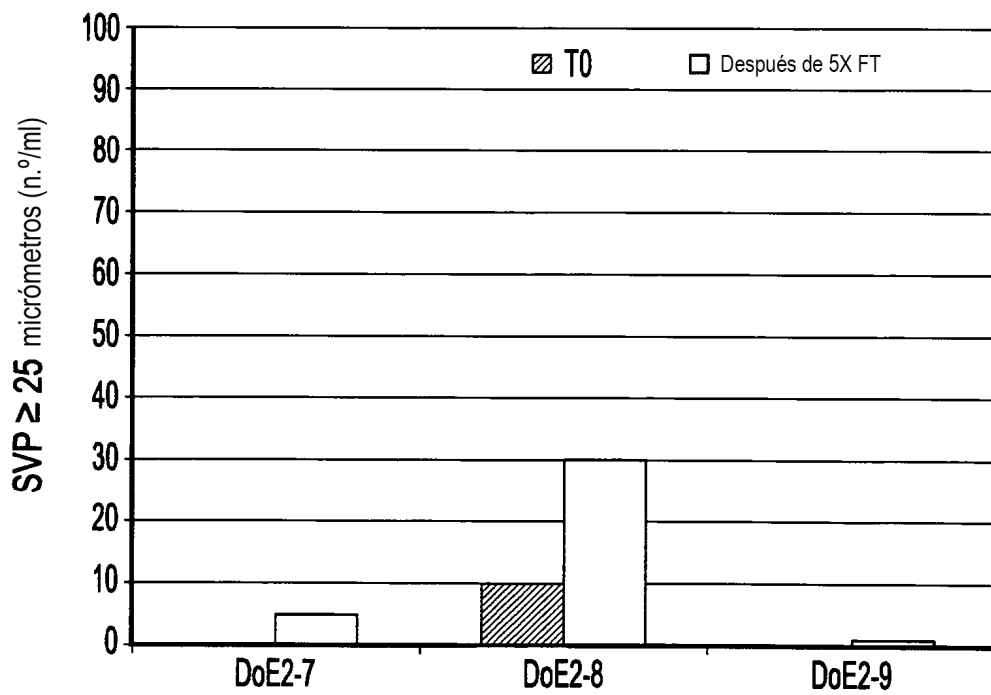


FIG. 22