

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 488**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/19** (2006.01)

**A61K 47/10** (2006.01)

**A61K 47/26** (2006.01)

**C07K 16/24** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2014** E 14169753 (2)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016** EP 2946765

54 Título: **Composición farmacéutica líquida**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**09.02.2017**

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 2 600 488 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 novedosa formulación de proteína. En particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica líquida de adalimumab, a un método de producción de la composición, a un kit que incluye la composición, a un envase que incluye la composición, a un método de producción del envase, y a métodos de tratamiento que usan la composición y/o el envase.

**Antecedentes**

10 El tratamiento de las enfermedades autoinmunes relacionadas con el factor alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ , del inglés "Tumour necrosis factor-alpha"), tales como artritis reumatoide, psoriasis y otras enfermedades autoinmunes, se ha alcanzado por el uso de fármacos aprobados por FDA (de sus siglas en inglés) tales como Adalimumab (HUMIRA®, Abbott Corporation). Adalimumab es un anticuerpo monoclonal humano que inhibe la actividad del TNF- $\alpha$  humano para impedirle que active los receptores de TNF, de ese modo regulando a la baja las respuestas inflamatorias asociadas a las enfermedades autoinmunes. Las indicaciones médicas aprobadas para Adalimumab incluyen artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y artritis idiopática juvenil.

20 El Adalimumab generalmente se administra a un paciente por inyección subcutánea y, por tanto, se proporciona en una forma líquida, generalmente en envases tales como viales, jeringas precargadas, o "dispositivos lápiz" precargados. Los dispositivos lápiz comercialmente disponibles (Humira® Pen) generalmente incluyen una jeringa de vidrio prellenada de 1 ml, precargada con 0,8 ml de una formulación estéril de 40 mg de Adalimumab (véase más adelante), con una aguja fijada (o bien de goma natural gris o una versión libre de látex) y una cobertura de aguja. Las formulaciones comerciales (Humira®) de Adalimumab contienen los siguientes ingredientes:

Ingrediente	Cantidad por recipiente (mg) (volumen de relleno = 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
API e hidróxido de sodio	q.b. para ajustar el pH a 5,2	q.b. para ajustar el pH a 5,2

25 Adalimumab, y su método de producción, está descrito en el documento WO97/29131 (BASF) como D2E7, y en otra parte en la técnica.

Aunque la formulación comercial de Adalimumab anteriormente mencionada es estable (al menos de algún modo), el anticuerpo relevante puede ser inestable durante periodos prolongados o bajo condiciones extremas, excluyendo así almacenamiento prolongado de dichas formulaciones. Tal degradación de la formulación puede ser debida a una diversidad de factores, que incluyen:

- 30
- Efectos físicos, tales como:
    - Inhibición inadecuada de la agregación de las moléculas de proteína relevantes (una función supuestamente servida por Tween-80);
    - Inhibición inadecuada de la preparación;
    - Inhibición inadecuada de la adsorción de las moléculas de proteína relevantes en el interfaz de agua y aire en la superficie de contacto de cualquier material de empaquetamiento (una función supuestamente servida por Tween-80);
- 35

- Regulación inadecuada de la presión osmótica (una función supuestamente servida por manitol);
- Efectos químicos, tales como:
  - Regulación inadecuada de la oxidación (una función supuestamente servida por manitol y potencialmente socavada por Tween-80, lo cual puede promover la oxidación de los enlaces dobles);
- 5 ○ Inhibición inadecuada de la fotooxidación;
- Inhibición inadecuada de la hidrólisis de los enlaces éster que conduce a la formación de ácido, aldehído y productos de peróxido, afectando así a la estabilidad del anticuerpo;
- Estabilización inadecuada y mantenimiento del pH;
- Inhibición inadecuada de la fragmentación de proteína;
- 10 ○ Inhibición inadecuada del despliegue de proteína.

Alguno, algunos o todos los factores anteriores pueden conducir a o bien un medicamento inviable (que puede ser inseguro para su uso en los tratamientos médicos) o un medicamento cuya viabilidad es variable e impredecible, especialmente en vista de fuerzas variables (agitación, calor, luz) a las que se pueden exponer los diferentes lotes de medicamento durante la producción, el transporte y almacenamiento.

- 15 En términos de la estabilización física y química de Adalimumab, la serie compleja de componentes dentro de las formulaciones comerciales anteriormente mencionadas parece cumplir con las expectativas de más adelante, especialmente en vista del gran número de componentes. Aunque esta combinación particular de excipientes represente sin duda un “balance delicado” (dada la interacción entre diversos factores técnicos) y fuera el resultado de exhaustiva investigación y desarrollo, en vista del riesgo de escaso rendimiento es cuestionable si tal gran
- 20 número de diferentes excipientes está justificado, especialmente dado que esto inevitablemente aumenta las cargas de procesamiento y coste, los riesgos de toxicidad y los riesgos de interacciones perjudiciales entre los componentes que podrían comprender la formulación. Incluso si el rendimiento total de las formulaciones comerciales no se pudiera superar, una formulación alternativa que tiene rendimiento comparativo pero que contiene pocos componentes representaría un reemplazo altamente deseable para las formulaciones comerciales, al menos
- 25 por las razones anteriormente mencionadas.

Para garantizar el rendimiento clínico reproducible de un producto farmacéutico basado en proteína, tales productos deben mantenerse en una forma estable y consistente con el tiempo. Está bien establecido que las alteraciones moleculares se pueden dar durante toda la fase del proceso de producción, incluyendo durante la producción de la formulación final durante el almacenamiento. Las alteraciones moleculares pueden modificar un atributo de calidad

30 de un producto biofarmacéutico, dando como resultado un cambio indeseable en la identidad, fuerza o pureza del producto. Algunos de tales problemas se citaron anteriormente.

El objetivo principal del desarrollo de la formulación es proporcionar una composición farmacéutica que soportará la estabilidad de una proteína biofarmacéutica durante todas las fases de su producción, almacenamiento, traslado y uso. El desarrollo de la formulación para una proteína biofarmacéutica innovadora, o un anticuerpo monoclonal biosimilar (mAb), es esencial para su seguridad, eficacia clínica y éxito comercial.

35

Por lo tanto, hay una necesidad de la provisión de formulaciones líquidas alternativas o mejoradas de adalimumab. Deseablemente, alguna formulación nueva resolverá al menos uno de los problemas anteriormente mencionados y/o al menos un problema inherente en la técnica anterior, y puede resolver adecuadamente dos o más de dichos problemas. Deseablemente, el(los) problema(s) de la técnica anterior se puede(n) resolver al reducir la complejidad

40 de la formulación.

El documento WO2014/039903 (Coherus Biosciences Inc.) describe composiciones farmacéuticas acuosas adecuadas para almacenamiento a largo plazo de adalimumab.

El documento US 2010/278822 (Fraunhofer Wolfgang et al.) describe nuevas formulaciones de alta concentración de anticuerpos anti-TNF- $\alpha$  humanos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, por ejemplo, adalimumab.

- 45 El documento WO 2013/011076 (Glaxo Group Ltd.) describe novedosas proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente a TNF-alfa. Y particularmente a variantes novedosas de anticuerpos anti-TNF tales como adalimumab que muestran unión aumentada al receptor FcRn y/o semivida aumentada en comparación con adalimumab.

### Compendio de la invención

- 50 Según un primer aspecto de la presente invención se ha proporcionado una composición farmacéutica líquida como se define en las reivindicaciones adjuntas.

También se describe en la presente memoria un envase (por ejemplo, jeringa prellenada, lápiz, bolsa intravenosa, o un envase/recipiente que contiene cualquiera de lo anteriormente mencionado) que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria.

5 Según un aspecto adicional de la presente invención se ha proporcionado un dispositivo de administración de fármaco (por ejemplo, jeringa o lápiz prellenado, o bolsa intravenosa) que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria.

10 También se describe en la presente memoria un kit de partes que comprende un dispositivo de administración de fármaco, una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria (opcionalmente contenida en un envase o recipiente), y opcionalmente un conjunto de instrucciones con orientaciones con respecto a la administración (por ejemplo, subcutánea) de la composición farmacéutica líquida.

15 También se describe en la presente memoria un método de producción de una composición farmacéutica líquida, comprendiendo el método mezclar juntos adalimumab; un agente tampón de acetato (o un sistema tampón de acetato); un estabilizador de azúcar; y opcionalmente uno cualquiera o más componentes adicionales definidos en la presente memoria en relación con una composición farmacéutica líquida, opcionalmente en cualquier cantidad, concentración o forma estipulada; y ajustando opcionalmente uno cualquiera o más parámetros dados en la presente memoria en relación con una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, pH, osmolalidad).

También se describe en la presente memoria una composición farmacéutica líquida obtenible por, obtenida por, o directamente obtenida por un método de producción de una composición farmacéutica líquida como se describe en la presente memoria.

20 También se describe en la presente memoria un método de producción de un envase o un dispositivo de administración de fármaco, comprendiendo el método la incorporación de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria dentro de un envase o un dispositivo de administración de fármaco.

25 También se describe en la presente memoria un envase o dispositivo de administración de fármaco obtenible por, obtenido por, o directamente obtenido por un método de producción de un envase o un dispositivo de administración de fármaco como se define en la presente memoria.

También se describe en la presente memoria un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno médico en un paciente en necesidad de tal tratamiento, comprendiendo dicho método la administración a dicho paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria.

30 También se describe en la presente memoria una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria para su uso en terapia.

También se describe en la presente memoria un uso de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria en la producción de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno.

35 También se describe en la presente memoria un método de tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor alfa de necrosis tumoral en un paciente en necesidad de tal tratamiento, comprendiendo dicho método la administración a dicho paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria.

También se describe en la presente memoria una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor alfa (TNF- $\alpha$ ) de necrosis tumoral.

40 También se describe en la presente memoria un uso de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria en la producción de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor alfa (TNF- $\alpha$ ) de necrosis tumoral.

45 También se define en la presente memoria un método de tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil en un paciente en necesidad de tal tratamiento, comprendiendo dicho método la administración a dicho paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria.

50 Según un aspecto adicional de la presente invención se ha proporcionado una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil.

También se describe en la presente memoria un uso de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria en la producción de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis

idiopática juvenil.

Algunas características, incluyendo las características opcionales, adecuadas y preferidas, descritas en relación con cualquier aspecto particular de la invención también puede ser características, incluyendo características opcionales, adecuadas y preferidas, de cualquier otro aspecto de la presente invención.

## 5 Breve descripción de los dibujos

Para un mejor entendimiento de la invención, y para mostrar cómo realizaciones de la misma son puestas en práctica, ahora se hace referencia, a modo de ejemplo, a los siguientes gráficos, en los cuales:

10 La Figura 1 es un gráfico de barras que muestra el contenido de proteína (mg/ml), determinado por DO, de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 4 semanas (barras rojas) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

15 La Figura 2 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras verdes) como 4 semanas (barras naranjas) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

La Figura 3 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bionalizador, de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras negras, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rosas) como 4 semanas (barras azul claro) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

20 La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la temperatura de despliegue (°C), determinada por DSF, de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras).

25 La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras rojas, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras verdes) como 4 semanas (barras púrpuras) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

30 La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bionalizador, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

35 La Figura 8 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del(de los) pico(s) del grupo ácido, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

40 La Figura 9 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

45 La Figura 10 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 24 horas (barras rojas) como 48 horas (barras verdes) de agitarse mecánicamente (agitación) la(s) formulación(formulaciones).

La Figura 11 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bionalizador, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 24 horas (barras rojas) como 48 horas (barras verdes) de agitarse mecánicamente (agitación) la(s) formulación(formulaciones).

50 La Figura 12 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 24 horas (barras rojas) como 48 horas (barras verdes) de agitarse mecánicamente (agitación) la(s) formulación(formulaciones).

La Figura 13 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las

formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

5 La Figura 14 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bionalizador, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

10 La Figura 15 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

La Figura 16 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del(de los) pico(s) del grupo ácido, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

15 La Figura 17 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

20 La Figura 18 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→ temperatura ambiente).

La Figura 19 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del(de los) pico(s) del grupo ácido, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→ temperatura ambiente).

25 La Figura 20 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→ temperatura ambiente).

30 La Figura 21 es un gráfico de barras que muestra la concentración numérica (nº/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor que o igual a 10 micras, determinada por análisis de recuento de partícula subvisible, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→ temperatura ambiente).

35 La Figura 22 es un gráfico de barras que muestra la concentración numérica (nº/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor que o igual a 25 micras, determinada por análisis de recuento de partícula subvisible, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→ temperatura ambiente).

### Descripción detallada de la invención

#### Definiciones

Al menos que se indique lo contrario, los siguientes términos usados en la memoria y las reivindicaciones tienen los siguientes significados expuestos a continuación.

40 Las referencias en la presente memoria a “adalimumab” incluyen la sustancia farmacéutica originadora (como la comercialmente disponible), adalimumab como se define en el documento WO97/29131 (BASF) (particularmente D2E7 en el mismo) y en alguna parte más en la técnica, y también sus biosimilares. El D2E7 del documento WO97/29131 “tiene un dominio CDR3 de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y un dominio CDR3 de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4”.

45 Preferiblemente, el anticuerpo D2E7 tiene una región variable de la cadena ligera (LCVR, del inglés “Light Chain Variable Region”) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una región variable de la cadena pesada (HCVR, del inglés “Heavy Chain Variable Region”) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. El documento WO97/29131 da detalles de cada uno de estos listados de secuencia. Las referencias en la presente memoria a “adalimumab” pueden incluir biosimilares que, por ejemplo, pueden compartir al menos 75 %,

50 adecuadamente al menos 80 %, adecuadamente al menos 85 %, adecuadamente al menos 90 %, adecuadamente al menos 95 %, adecuadamente al menos 96 %, adecuadamente al menos 97 %, adecuadamente al menos 98 % o los más adecuadamente al menos 99 % de identidad de secuencia de proteína con una cualquiera de las secuencias de proteína descritas en o bien el documento WO97/29131 (especialmente en relación con D2E7) o en otra parte en relación a “adalimumab”. Alternativamente o adicionalmente, las referencias en la presente memoria a

55 “adalimumab” pueden incluir biosimilares que presentan al menos 75 %, adecuadamente al menos 80 %,

adecuadamente al menos 85 %, adecuadamente al menos 90 %, adecuadamente al menos 95 %, adecuadamente al menos 96 %, adecuadamente al menos 97 %, adecuadamente al menos 98 % o lo más adecuadamente al menos 99 % de homología de secuencia de proteína con una cualquiera de las secuencias de proteína descritas en o bien el documento WO97/29131 (especialmente en relación a D2E7) o en otra parte en relación a “adalimumab”.

5 Alternativamente o de manera adicional, un biosimilar puede tener un perfil de glicosilación (ligeramente) diferente, incluso si la secuencia de proteína es básicamente la misma o diferente hasta el punto anteriormente especificado.

El término “biosimilar” (también conocido como composiciones biológicas relacionadas) es bien conocido en la técnica, y el experto apreciará fácilmente cuando una sustancia farmacéutica se considerará un biosimilar de adalimumab. Además, tales “biosimilares” necesitarán ser aprobados oficialmente como “biosimilar” para la comercialización antes de que dicho “biosimilar” se venda en el mercado libre. El término “biosimilar” generalmente se usa para describir posteriores versiones (generalmente a partir de una fuente diferente) de “productos biofarmacéuticos innovadores” (“compuestos biológicos” cuya sustancia farmacéutica está hecha por organismos vivos o derivada de un organismo vivo o por ADN recombinante o metodologías de expresión genética controlada) que previamente han sido oficialmente autorizados para comercialización. Puesto que los compuestos biológicos tienen un alto grado de complejidad molecular, y generalmente son sensibles a cambios en los procesos de producción (por ejemplo, si se usan líneas celulares diferentes en su producción), y puesto que posteriores fabricantes relacionados generalmente no tienen acceso al clon molecular originadora, banco celular, conocimiento con respecto al proceso de fermentación y purificación, ni a la propia sustancia farmacéutica activa (solamente el medicamento comercializado innovador), cualquier “biosimilar” es poco probable que sea exactamente el mismo que el medicamento innovador.

10  
15  
20

Con el fin de diversos cálculos molares (por ejemplo, para relaciones molares entre adalimumab y otro componente de la composición farmacéutica líquida de la invención) el peso molecular de adalimumab se puede tomar que es 144.190,3 g/mol (peso molecular de referencia) en base a detalles descritos en la base de datos CAS para el N° CAS 331731-18-1, Adalimumab, cuando las fórmulas moleculares se toman como  $C_{6428}H_{9912}N_{1694}O_{1987}S_{46}$ . Por lo tanto, una composición farmacéutica líquida que contiene 50 mg/ml de adalimumab se puede considerar una solución 0,347 mM (o 347  $\mu$ M) de adalimumab. No tiene la intención de ser de ningún modo limitante respecto a la naturaleza de ningún biosimilar de adalimumab cubierto por el alcance de la presente invención, ni al nivel de glicosilación, cualquiera de los cuales puede afectar al peso molecular actual. Sin embargo, cuando un biosimilar tiene un peso molecular diferente, el peso molecular de referencia anteriormente mencionado se debería usar adecuadamente con el fin de valorar si tal biosimilar cae o no dentro del alcance de alguna definición molar estipulada dentro de esta memoria. Por tanto, el número de moles en un peso conocido de dicho biosimilar se debería calcular, justo con el fin de esta invención, usando el anterior peso molecular de referencia.

25  
30

En la presente memoria, el término “tampón” o “solución tampón” se refiere a una solución generalmente acuosa que comprende una mezcla de un ácido (normalmente un ácido débil, por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, forma de imidazol de histidina) y su base conjugada (por ejemplo, una sal de acetato o citrato, por ejemplo, acetato de sodio, citrato de sodio, o histidina) o alternativamente una mezcla de una base (normalmente una base débil, por ejemplo histidina) y su ácido conjugado (por ejemplo, sal de histidina protonada). El pH de una “solución tampón” cambiará solamente muy ligeramente tras la adición de una cantidad pequeña de ácido o base fuerte debido al “efecto tampón” impartido por el “agente tampón”.

35

En la presente memoria, “un sistema tampón” comprende uno o más agentes tampón y/o un conjugado(s) ácido/base del(de los) mismo(s), y más adecuadamente comprende uno o más agente(s) tampón y un conjugado(s) ácido/base de los mismos, y lo más adecuadamente comprende un agente tampón solamente y un conjugado ácido/base del(de los) mismo(s). Al menos que se indique lo contrario, cualquier concentración estipulada en la presente memoria en relación a un “sistema tampón” (es decir, una concentración tampón) se refiere adecuadamente a la concentración combinada del(de los) agente(s) tampón y/o conjugado(s) ácido/base del(de los) mismo(s). En otras palabras, las concentraciones estipuladas en la presente memoria en relación con un “sistema tampón” adecuadamente se refiere a la concentración combinada de todas las especies tampón relevantes (es decir, las especies en equilibrio dinámico una con otra, por ejemplo, acetato/ácido acético). Por lo tanto, una concentración dada de un sistema tampón de acetato generalmente se refiere a la concentración combinada de acetato (o sal(es) de acetato, por ejemplo, acetato de sodio) y ácido acético. El pH total de la composición que comprende el sistema tampón relevante generalmente es un reflejo de la concentración de equilibrio de cada una de las especies tampón relevantes (es decir, el balance del(de los) agente(s) tampón y conjugado(s) ácido/base).

40  
45  
50

En la presente memoria, el término “agente tampón” se refiere a un componente ácido o base (normalmente un ácido débil o base débil) de un tampón o solución tampón. Un agente tampón ayuda a mantener el pH de una solución dada a o cerca de un valor predeterminado, y los agentes tampón generalmente se eligen para complementar el valor predeterminado. Un agente tampón adecuadamente es un compuesto sencillo que da lugar a un efecto tampón deseado, especialmente cuando dicho agente tampón se mezcla con (y adecuadamente es capaz de intercambiar protones con) una cantidad apropiada (dependiendo del pH predeterminado deseado) de su correspondiente “conjugado ácido/base”, o si la cantidad requerida de su correspondiente “conjugado ácido/base” está formada *in situ* – esto se puede alcanzar añadiendo ácido o base fuerte hasta que se alcance el pH requerido. A modo de ejemplo:

55  
60

- 5 • Un “agente tampón” de acetato adecuadamente es una sal de acetato, por ejemplo, acetato de sodio, adecuadamente mezclada con su conjugado ácido/base, ácido acético. Tal sistema tampón se puede formar simplemente mezclando una cantidad dada de acetato de sodio con una cantidad dada de ácido acético. Alternativamente, sin embargo, tal tampón se puede formar añadiendo una cantidad dada de una base, adecuadamente una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido acético hasta que se alcance el pH deseado (y, por tanto, el balance deseado de acetato de sodio /ácido acético). En la presente memoria, excepto cuando se indica lo contrario, cualquier concentración dada en relación con un tampón de acetato o agente tampón de acetato adecuadamente se refiere a la concentración combinada del(de los) agente(s) tampón (por ejemplo, acetato de sodio) y/o conjugado(s) ácido/base del(de los) mismo(s) (por ejemplo, ácido acético). El experto fácilmente es capaz de calcular tales concentraciones. Tales concentraciones se pueden calcular en referencia a las concentraciones combinadas del(de los) agente(s) tampón y conjugado(s) ácido/base, cuando un sistema tampón se forma simplemente mezclando juntos el(los) agente(s) tampón y el(los) conjugado(s) ácido/base. Alternativamente, cuando se forma un sistema tampón mezclando o bien el(los) agente(s) tampón o el(los) conjugado(s) ácido/base con un ajustador de pH (por ejemplo, ácido fuerte o base fuerte) para producir una mezcla de cada, adecuadamente tales concentraciones se pueden calcular en referencia a las cantidades/concentraciones de partida del(de los) agente(s) tampón o conjugado(s) ácido/base respectivamente. Por ejemplo, cuando un sistema tampón se forma usando una cantidad/concentración conocida de ácido acético que se mezcla con un ajustador de pH (por ejemplo, hidróxido de sodio) hasta que se alcance el pH deseado, la concentración del sistema tampón se puede calcular en referencia a la cantidad inicial del ácido acético.
- 20 En la presente memoria, un “conjugado ácido/base” se refiere al ácido conjugado o a la base conjugada (cualquiera que sea relevante a un pH particular – generalmente el ácido conjugado en el contexto de la presente invención) de un “agente tampón” particular. El conjugado ácido/base de un agente tampón de acetato (por ejemplo, acetato de sodio) es adecuadamente ácido acético.
- 25 En la presente memoria, el término “especies tampón” se refiere a las especies particulares (excluyendo cualquier contraión o contracatión asociado – es decir, ignorar los iones de sodio para los sistemas de acetato de sodio/ácido acético) de un sistema tampón dado que están en equilibrio dinámico (e intercambio de protones) uno con otro. Por ejemplo, aniones de acetato y ácido acético juntos constituyen las “especies tampón de acetato” de un “sistema tampón de acetato”.
- 30 Puesto que de alguna manera es difícil definir las cantidades (sean absolutas o relativas) de un sistema tampón en referencia al peso (puesto que el peso total dependerá del pH deseado, el cual afectará a la cantidad de contraiones presentes), en la presente memoria las cantidades basadas en peso, en su lugar, pueden estar determinadas en referencia al peso teórico de las “especies tampón” relevantes. Al menos dos especies están presentes en cualquier conjunto dado de “especies tampón” (en cantidades relativas que solamente se pueden determinar en referencia al pH), cada una con un peso molecular diferente (que normalmente difiere por justo 1). Por lo tanto, para posibilitar cálculos y referencias de peso viables, para el fin de esta memoria, el peso de cualquier conjunto dado de “especies tampón” se dan como un peso teórico en base a justo una de las especies tampón, principalmente la más ácida de las especies tampón (es decir, la forma más protonada a cualquier pH dado). Por tanto, el peso de un conjunto dado de “especies tampón” se indica como el peso de los equivalentes de especies de ácido. A modo de ejemplo, en un sistema tampón de acetato las especies tampón de acetato pueden consistir en aniones de acetato (ignorar los contracaciones) y ácido acético. Por lo tanto, el peso de las “especies tampón” se calcula como si el ácido acético fuera la única especie presente en el sistema tampón (aunque el acetato esté claramente presente junto al ácido acético). Por tanto, cualquier referencia a un peso o relación de peso que implique una “especie tampón de acetato” adecuadamente se refiere al peso teórico de equivalentes de ácido acético dentro del sistema tampón. Por lo tanto, cuando se forma una composición añadiendo un ajustador de pH (por ejemplo, hidróxido de sodio) para una cantidad fijada de ácido acético, se puede considerar que el peso original de ácido acético es el peso de la “especie tampón” sin tener en cuenta el último pH. Alternativamente, si se conoce la concentración (es decir, la molaridad) de un sistema tampón, esto se puede convertir en un peso de “especie tampón” en referencia al peso molecular de la forma más ácida de las especies tampón relevantes (por ejemplo, ácido acético), e ignorar el hecho de que los aniones de acetato también están presentes.
- 50 Al menos que se indique lo contrario, las referencias en la presente memoria a un “aminoácido” o “aminoácidos”, sean específicas (por ejemplo, arginina, histidina) o generales (por ejemplo, cualquier aminoácido), en el contexto de su presencia o de otra manera dentro de las composiciones (especialmente composiciones líquidas farmacéuticas de la invención) se refieren al(a los) correspondiente(s) aminoácido(s) libre(s) (sin tener en cuenta su estado de protonación y/o forma de sal, aunque las cantidades de consistencia se calculan adecuadamente en referencia a los aminoácidos libres por sí). Esto puede incluir adecuadamente aminoácidos naturales y/o artificiales. Al menos que se indique lo contrario, tales referencias no tienen la intención de referirse a residuo(s) de aminoácidos covalentemente incorporado(s) como parte de un compuesto mayor (en lugar de una composición que comprende múltiples compuestos), tal como péptido o proteína (donde se enlazan tales residuos de aminoácidos por enlaces peptídicos). Por lo tanto, aunque adalimumab, como proteína, contiene residuos de aminoácidos, no se considera que comprenda ningún “aminoácido libre”. A modo de ejemplo, una composición definida como que es “libre de arginina” no contiene ninguna arginina libre, pero aún puede incluir una o más proteínas (por ejemplo, adalimumab) que ellas mismas comprenden residuos de arginina.

Al menos que se indique lo contrario, las referencias en la presente memoria a uno cualquiera o más “aminoácidos” sean específicas o generales, se refieren adecuadamente a los L-estereoisómeros o un racemato de los mismos, lo más adecuadamente L-aminoácidos.

5 El término “básicamente libre”, cuando se usa en relación con un componente dado de una composición (por ejemplo, “una composición farmacéutica líquida básicamente libre de arginina”), se refiere a una composición a la cual esencialmente no se ha añadido ninguno de dicho componente. Tal como se ha explicado anteriormente, tales referencias no tienen relación con la presencia de residuo(s) de aminoácidos dentro de una estructura de proteína. Cuando una composición es “básicamente libre” de un componente dado, dicha composición comprende adecuadamente no más de 0,001 %p de dicho componente, adecuadamente no más de 0,0001 %p de dicho componente, adecuadamente no más de 0,00001 %p, adecuadamente no más de 0,000001 %p del mismo, lo más adecuadamente no más de 0,0001 partes por billón (en peso).

15 El término “completamente libre”, cuando se usa en relación con un componente dado de una composición (por ejemplo, “una composición farmacéutica líquida básicamente libre de arginina”), se refiere a una composición que no contiene nada de dicho componente. Tal como se ha explicado anteriormente, tales referencias no tienen relación con la presencia de residuo(s) de aminoácidos dentro de una estructura de proteína.

20 En la presente memoria, en el contexto de la presente memoria, un “ácido fuerte” es adecuadamente uno que tiene un  $pK_a$  de -1,0 o menos, mientras que un “ácido débil” es adecuadamente uno que tiene un  $pK_a$  de 2,0 o más. En la presente memoria, en el contexto de la presente memoria, una “base fuerte” adecuadamente es una cuyo ácido conjugado tiene una  $pK_a$  de 12 o superior (adecuadamente 14 o superior), mientras que una “base débil” es adecuadamente una cuyo “ácido conjugado” tiene una  $pK_a$  de 10 o menos.

25 En la presente memoria, un “estabilizador” se refiere a un componente que facilita el mantenimiento de la integridad estructural del biofármaco, particularmente durante la congelación y/o liofilización y/o almacenamiento (especialmente cuando se expone a condiciones extremas). Este efecto estabilizador puede surgir por una diversidad de razones, aunque generalmente tales estabilizadores pueden actuar como osmolitos que mitigan la desnaturalización de la proteína. Estabilizadores normales incluyen aminoácidos (es decir, aminoácidos libres no parte de un péptido o proteína – por ejemplo, glicina, arginina, histidina, ácido aspártico, lisina) y estabilizadores de azúcar, tales como 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 incluyan un estabilizador, al menos uno de los cuales es un estabilizador de azúcar (es decir, o bien un poliol de azúcar o un disacárido). Lo más adecuadamente al menos un estabilizador de azúcar es un azúcar no reductor (es un poliol de azúcar o un disacárido).

30 En la presente memoria, un “azúcar no reductor” generalmente es un azúcar sin ningún resto de aldehído o sin la capacidad de formar un resto de aldehído (por ejemplo, por isomerismo).

35 En la presente memoria, un “modificador de tonicidad” o “tonificador” se refiere a un reactivo cuya inclusión dentro de una composición contribuye adecuadamente a (o aumenta) la osmolalidad y la osmolaridad total de la composición. Adecuadamente, un tonificador, como se usa en la presente memoria incluye un agente que funciona para dar una solución similar en características osmóticas a fluidos fisiológicos.

40 En la presente memoria, las referencias a cantidades específicas de un componente dado de una composición, especialmente un agente tampón, estabilizador, aminoácido, tensioactivo, o tonificador, adecuadamente se refieren a las cantidades de la forma anhidra pura del componente relevante (o composiciones formadas usando dichas cantidades de la forma anhidra pura), aunque tal componente se puede usar en una forma no anhidra cuando se forma la composición.

45 Las cantidades de alguna forma no anhidra correspondiente (por ejemplo, monohidratos, dihidratos, etc.) fácilmente se puede calcular simplemente usando el multiplicador apropiado. Por ejemplo, al menos que se indique lo contrario (de acuerdo con los Ejemplos, donde las cantidades se refieren a trehalosa dihidrato), las cantidades estipuladas en relación con trehalosa se refiere a la forma anhidra de trehalosa (o composiciones formadas usando las cantidades/concentraciones estipuladas de trehalosa anhidra), la cual tiene un peso molecular de 342,296 g/mol, para calcular la correspondiente cantidad de trehalosa dihidrato necesaria para formar la misma composición (se debería añadir menos agua) si es necesario para multiplicar la cantidad estipulada por 378,33/342,296, puesto que 50 378,33 es el peso molecular de trehalosa dihidrato. El experto fácilmente entenderá cómo ajustar juiciosamente la cantidad de diluyente/agua dependiendo de la forma de los componentes usados, para derivar las concentraciones objetivo.

55 En la presente memoria, el término “composición farmacéutica” se refiere a una formulación de un activo farmacéutico que da la actividad biológica del principio activo terapéuticamente eficaz, pero que no incluye otros ingredientes que son obviamente tóxicos a un sujeto al cual se intenta administrar la formulación.

En la presente memoria, el término “estable” generalmente se refiere a la estabilidad fisiológica y/o estabilidad química y/o estabilidad biológica de un componente, generalmente un activo o composición del mismo, durante la conservación/almacenamiento.

- Hay que apreciar que las referencias a “tratar” o “tratamiento” incluyen profilaxis, así como el alivio de los síntomas establecidos de una afección. Por lo tanto, “tratar” o “tratamiento” de una enfermedad, trastorno o afección incluye: (1) prevenir o retrasar la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad, trastorno o afección que se desarrolla en un humano que puede padecer o puede estar predispuesto a la enfermedad, trastorno o afección pero no experimenta aún o retrasar los síntomas clínicos o subclínicos de la enfermedad, trastorno o afección, (2) inhibir la enfermedad, trastorno o afección, es decir, detener, reducir o retrasar el desarrollo de la enfermedad o una recaída de la misma (en caso de tratamiento de mantenimiento) o al menos un síntoma clínico o subclínico de la misma, o (3) aliviar o atenuar la enfermedad, es decir, causar regresión de la enfermedad, trastorno o afección o al menos de sus síntomas clínicos o subclínicos-
- 5
- 10 En el contexto de la presente invención, una “cantidad terapéuticamente eficaz” o “cantidad eficaz” del anticuerpo significa una cantidad que es eficaz, cuando se administra a un mamífero para tratar una enfermedad o trastorno, en aspecto profiláctico y terapéutico y el anticuerpo es eficaz en el tratamiento de las enfermedades de interés.
- La “cantidad terapéuticamente eficaz” variará dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad y la edad, peso, etc., del mamífero a tratar.
- 15 El término “TNF- $\alpha$  humano” se refiere a la citoquina humana que existe en una forma secretada de 17 kD y una forma asociada a membrana de 26 kD, y en una forma biológicamente activa, TNF- $\alpha$  se podría observar como un trímero de molécula de 17 kD covalentemente enlazada. Su estructura específica se puede encontrar en Pennica, D. et al. (1984) *Nature* 312:724-729; Davis, J.M. et al. (1987) *Biochemistry* 26, 1.322-1.326; y Jones, E. Y. et al. (1989) *Nature* 338:225-228.
- 20 El término “anticuerpo humano recombinante” tiene la intención de incluir un anticuerpo humano, preparado, expresado, producido o aislado usando un método recombinante.
- En la presente memoria, las cantidades estipuladas para los componente e ingredientes, sean específicas en términos de “partes”, ppm (partes por millón), porcentajes (% , por ejemplo, %p), o relaciones, tienen la intención de ser en peso, al menos que se indique lo contrario.
- 25 Cuando la cantidad o la concentración de un componente particular de una composición dada está especificada como porcentaje en peso (%p o %p/p), dicho porcentaje en peso se refiere al porcentaje de dicho componente por peso relativo al peso total de la composición como una unidad total. Los expertos en la técnica entenderán que la suma de los porcentajes en peso de todos los componentes de una composición (esté o no especificada) será un total del 100 %p. Sin embargo, cuando no se enumeran todos los componentes (por ejemplo, cuando las composiciones se dice que “comprenden” uno o más componentes particulares), el balance del porcentaje en peso se puede hacer opcionalmente hasta 100 %p mediante ingredientes no especificados (por ejemplo, un diluyente, tal como agua, u otros aditivos no esenciales pero adecuados).
- 30
- En la presente memoria, al menos que se indique lo contrario, el término “partes” (por ejemplo, partes por peso, ppp) cuando se usa en relación con ingredientes/componentes múltiples, se refiere a relaciones relativas entre dichos ingredientes/componentes múltiples. Expresar las relaciones molares o de peso de dos, tres o más componentes da lugar al mismo efecto (por ejemplo, una relación molar de “x”, “y” y “z” es  $x_1:y_1:z_1$  respectivamente, o un intervalo de  $x_1-x_2:y_1-y_2:z_1-z_2$ ). Aunque en muchas realizaciones las cantidades de los componentes individuales dentro de una composición se pueden dar como un valor de “%p”, en realizaciones alternativas alguno o todos tales valores %p se pueden convertir en partes por peso (o relaciones relativas) para definir una composición de componente múltiple.
- 35
- 40 Esto es así porque las relaciones relativas entre los componentes con frecuencia son más importantes que las concentraciones absolutas de los mismos en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención. Cuando una composición que comprende ingredientes múltiples está descrita en términos de partes por peso solo (es decir, indicar solamente las relaciones relativas de los ingredientes), no es necesario estipular las cantidades o concentraciones absolutas de dichos ingredientes (sea en total o individualmente) porque las ventajas de la invención pueden resultar de las relaciones relativas de los ingredientes respectivos más que de sus cantidades o concentraciones absolutas. Sin embargo, en ciertas realizaciones, tales composiciones consisten esencialmente en o consisten en los ingredientes estipulados y un diluyente (por ejemplo, agua).
- 45
- Cuando se dice que una composición comprende una pluralidad de ingredientes estipulados (opcionalmente en cantidades estipuladas de concentraciones), dicha composición opcionalmente puede incluir ingredientes adicionales a parte de los estipulados. Sin embargo, en ciertas realizaciones, una composición que se dice que comprende una pluralidad de ingredientes estipulados puede, de hecho, consistir esencialmente en o consistir en todos los ingredientes estipulados.
- 50
- En la presente memoria, cuando se dice que una composición “consiste esencialmente en” un componente particular, dicha composición comprende adecuadamente al menos 70 %p de dicho componente, adecuadamente al menos 90 %p del mismo, adecuadamente al menos 95 %p del mismo, lo más adecuadamente al menos 99 %p del mismo. Adecuadamente, una composición que se dice que “consiste esencialmente en” un componente particular consiste en dicho componente excepto una o más trazas de impurezas.
- 55
- En la presente memoria, el término “tamaño de partícula” o “tamaño de poro” se refiere respectivamente a la longitud

de la dimensión más larga de una partícula o poro dado. Ambos tamaños se pueden medir usando un analizador de tamaño de partícula por láser y/o microscopios electrónicos (por ejemplo, microscopio electrónico de efecto túnel, TEM, o microscopio electrónico de barrido, SEM). El recuento de partícula (para cualquier tamaño dado) se puede obtener usando los protocolos y el equipo citados en los Ejemplos, los cuales se refieren al recuento de partícula de partículas subvisibles.

#### Composición Farmacéutica Líquida

La presente invención proporciona una composición farmacéutica líquida como se define en las reivindicaciones adjuntas. De manera ventajosa, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas líquidas alternativas y mejoradas, las cuales generalmente presentan mejor estabilidad y viabilidad que aquellas de la técnica anterior. Tal como se ilustra en la presente memoria (véase los Ejemplos), las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente invención tienen características comparables o mejoradas cuando se comparan con las formulaciones convencionales de adalimumab, por ejemplo, la formulación Humira® comercialmente disponible, cuando se somete a diferentes condiciones extremas (térmicas, mecánicas y lumínicas). Su rendimiento generalmente también es comparable o mejor que muchas otras formulaciones comparativas que se sometieron al mismo ensayo bajo condiciones extremas ("stress testing"). Puesto que estas condiciones extremas son altamente representativas de la clase de estrés a la que se somete tales formulaciones durante la producción, transporte y almacenamiento, proporcionan un excelente indicio de las ventajas de la invención. Ese buen rendimiento de la estabilidad que se puede alcanzar usando formulaciones menos complejas con menos excipientes se consideró sorprendente en vista de las enseñanzas generales de la técnica anterior.

#### Adalimumab

Adalimumab, que está comercialmente disponible en formulaciones Humira®, y su método de producción, está descrito en el documento WO97/29131 (BASF) como D2E7, y en otra parte en la técnica. Se describe como que tiene "un dominio CDR3 de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 3 y un dominio CDR3 de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4" (el documento WO97/29131). Además, el anticuerpo D2E7 se describe como que tiene una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 (documento WO97/29131).

Las indicaciones médicas y la función de Adalimumab, se dilucidaron anteriormente.

En el contexto de la invención "adalimumab" incluye biosimilares, como se definió anteriormente, y el experto fácilmente apreciará el alcance del término "adalimumab" en el contexto de la invención.

La composición farmacéutica líquida comprende adalimumab a una concentración de entre aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mg/ml. En una realización, el adalimumab está presente a una concentración de aproximadamente 50 mg/ml.

#### Tampón, agente tampón y pH

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida es una solución tamponada cuyo pH se estabiliza mediante un agente tampón (o un sistema tampón), adecuadamente en combinación con un conjugado ácido/base del agente tampón. Por lo tanto, la composición farmacéutica líquida adecuadamente comprende un agente tampón como se define en la presente memoria. Preferiblemente, la composición farmacéutica líquida comprende además un conjugado ácido/base, en donde dicho conjugado ácido/base corresponde al ácido conjugado o a la base conjugada del agente tampón, dependiendo de si el agente tampón es en sí mismo una base o un ácido respectivamente. Colectivamente, el agente tampón y su conjugado ácido/base puede ser considerado un "sistema tampón". Por tanto, la composición farmacéutica líquida comprende adecuadamente un "sistema tampón" (que comprende adecuadamente un agente(s) tampón y un conjugado(s) ácido/base del(de los) mismo(s)), y cualquier concentración estipulada en relación con el sistema tampón generalmente se refiere a las concentraciones combinadas del(de los) agente(s) tampón y algún conjugado(s) ácido/base del(de los) mismo(s). Cualquier "sistema tampón" adecuadamente comprende un ácido débil y una base débil (véase las definiciones anteriores).

El agente tampón es acetato de sodio.

La composición farmacéutica líquida comprende un conjugado ácido/base del agente tampón, lo más adecuadamente ácido acético como el ácido conjugado de una sal de acetato. La combinación del agente tampón y su conjugado ácido/base constituye un sistema tampón. Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el agente tampón y su correspondiente conjugado ácido/base, adecuadamente de manera que juntos el agente tampón y su conjugado ácido/base están presentes a un nivel (es decir, cantidad o concentración absoluta) y en una cantidad relativa (o concentración) suficiente para proporcionar el pH deseado para la composición. El sistema tampón se puede formar simplemente mezclando el agente tampón con su conjugado ácido/base o se puede formar alternativamente mezclando un ácido o base con o bien el agente tampón o su conjugado ácido/base para formar *in situ* la mezcla deseada del agente tampón y el conjugado ácido/base. Por ejemplo, el sistema tampón se puede formar simplemente mezclando el agente tampón de acetato (por ejemplo, acetato de sodio) con su

5 conjugado ácido/base (es decir, ácido acético), adecuadamente en una proporción apropiada para facilitar el pH deseado. Alternativamente, el sistema tampón se puede formar añadiendo una base (por ejemplo, hidróxido de sodio) al conjugado ácido/base (es decir, ácido acético) del agente tampón de acetato, adecuadamente en una cantidad apropiada para facilitar el pH deseado y la mezcla del agente tampón (por ejemplo, acetato de sodio) y el correspondiente conjugado ácido/base (es decir, ácido acético). Alternativamente, se puede emplear cualquiera de los métodos de formación del sistema tampón, y el pH se puede ajustar juiciosamente o bien añadiendo más ácido (adecuadamente ácido fuerte, tal como HCl) o más base (adecuadamente base fuerte, tal como hidróxido de sodio).

El sistema tampón es un sistema tampón de acetato que comprende una sal de acetato y ácido acético.

10 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende como mucho un agente tampón. Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende como mucho un sistema tampón.

La composición farmacéutica líquida tiene un pH entre 5,1 y 5,3. En una realización particular, la composición farmacéutica líquida tiene un pH de aproximadamente 5,2.

15 El sistema tampón está presente a una concentración de entre 5 y 14 mM, lo más adecuadamente aproximadamente 10 mM. En una realización, el sistema tampón está presente a una concentración de 10 mM. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende un sistema tampón de ácido acético/acetato de sodio a una concentración de 10 mM. Esto incluye cuando el(los) "agente(s) tampón" (por ejemplo, acetato de sodio) se forma(n) por la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del(de los) agente(s) tampón (por ejemplo, ácido acético).

20 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende las especies tampón (adecuadamente especies tampón de acetato) a una concentración de aproximadamente 0,120 mg/ml a aproximadamente 3,0 mg/ml. En una realización, las especies tampón están presentes a una concentración de entre 0,30 mg/ml y 0,84 mg/ml, lo más adecuadamente aproximadamente 0,60 mg/ml. Esto incluye cuando el "agente tampón" (por ejemplo, acetato de sodio) se forma por la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del agente tampón (por ejemplo, ácido acético).

25 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el sistema tampón (adecuadamente el sistema tampón de acetato) en una relación molar de sistema tampón y adalimumab de desde aproximadamente 5:1 a aproximadamente 145:1. En una realización, el sistema tampón está presente en una relación molar de sistema tampón y adalimumab de desde aproximadamente 14:1 a aproximadamente 40:1, lo más adecuadamente aproximadamente 29:1. En una realización, el sistema tampón está presente a una concentración de 29:1. Esto incluye cuando el(los) "agente(s) tampón" (por ejemplo, acetato de sodio) se forma(n) por la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del agente tampón (por ejemplo, ácido acético).

30 Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un sistema tampón de acetato funcionan particularmente bien en ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con la fragmentación y el despliegue de proteína, los cuales pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del medicamento. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas cuyo sistema tampón de acetato mantiene un pH 5,2 constante funcionan particularmente bien.

Estabilizador de azúcar

40 La composición farmacéutica líquida comprende un estabilizador, en particular un estabilizador de azúcar. Adecuadamente, tal componente facilita el mantenimiento de la integridad estructural del biofármaco, particularmente durante la congelación y/o liofilización y/o almacenamiento (especialmente cuando se expone a condiciones extremas).

La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más estabilizadores de azúcar, aunque en realizaciones preferidas solamente está presente un único estabilizador de azúcar.

45 El estabilizador de azúcar es trehalosa. La trehalosa es un estabilizador de azúcar particularmente ventajoso para el uso junto con sistema tampón/agente tampón de acetato en formulaciones de adalimumab líquidas.

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende como mucho un estabilizador de azúcar, adecuadamente como mucho un poliol de azúcar y/o disacárido. Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende trehalosa como el único estabilizador de azúcar.

50 Adecuadamente la trehalosa usada para formar la composición farmacéutica líquida es trehalosa dihidrato, aunque adecuadamente cualquier cantidad estipulada en relación con trehalosa (al menos que se indique lo contrario – como se hace en los Ejemplos) pertenecen a trehalosa anhidra pura. Tales cantidades se pueden convertir a una cantidad de trehalosa dihidrato aplicando un multiplicador apropiado. Además, con el fin de valorar si una formulación dada cae dentro del alcance de alguna de las definiciones de cantidad de trehalosa dadas en la presente memoria, una cantidad de trehalosa dihidrato fácilmente se puede convertir en una correspondiente cantidad de trehalosa anhidra pura (con un número igual de moles) por la aplicación de dicho multiplicador al revés.

55

Este principio se puede adoptar para cualquier componente estabilizador de azúcar. Las concentraciones, cuando se dan como concentración molar, serán por supuesto las mismas sin tener en cuenta el estado de hidratación del estabilizador de azúcar.

5 El(los) estabilizador(es) de azúcar está(n) presente(s) a una concentración de entre 190 y 210 mM, lo más adecuadamente aproximadamente 200 mM. En una realización, la trehalosa está presente a una concentración de 200 mM.

10 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el(los) estabilizador(es) de azúcar (lo más adecuadamente trehalosa) a una concentración de desde aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 140 mg/ml, más adecuadamente desde aproximadamente 35 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml, más adecuadamente desde aproximadamente 45 mg/ml a aproximadamente 80 mg/ml. En una realización, el(los) estabilizador(es) de azúcar está(n) presente(s) a una concentración de entre 65 mg/ml y 72 mg/ml, lo más adecuadamente aproximadamente 68 mg/ml. En una realización particular, la trehalosa está presente a una concentración de aproximadamente 68 mg/ml (que iguala a aproximadamente 75,7 mg/ml de trehalosa dihidrato).

15 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el(los) estabilizador(es) de azúcar (lo más adecuadamente trehalosa) en una relación molar de estabilizador(es) de azúcar y adalimumab de desde aproximadamente 145:1 a aproximadamente 1150:1, más adecuadamente desde aproximadamente 290:1 a aproximadamente 860:1, más adecuadamente desde aproximadamente 430:1 a aproximadamente 720:1. En una realización, el(los) estabilizador(es) de azúcar está(n) presente(s) a una relación molar de estabilizador(es) de azúcar y adalimumab de desde aproximadamente 550:1 a aproximadamente 605:1, lo más adecuadamente  
20 aproximadamente 576:1. En una realización, trehalosa está presente a una relación molar de trehalosa y adalimumab de aproximadamente 576:1.

25 Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un estabilizador de azúcar como se define en la presente memoria funcionan particularmente bien en los ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con agregación, fragmentación y despliegue de proteína, los cuales pueden ser indicadores importantes de la estabilidad y viabilidad del medicamento. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden trehalosa como el estabilizador de azúcar funcionan particularmente bien.

#### Diluyente

30 Las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención pueden incluir uno cualquiera o más diluyentes farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos. Sin embargo, lo más adecuadamente la composición farmacéutica líquida es una composición farmacéutica acuosa. Lo más adecuadamente el diluyente es agua, y adecuadamente solo agua. El agua es adecuadamente agua para la inyección (API).

35 Adecuadamente el diluyente puede constituir el balance de los ingredientes en cualquier composición farmacéutica líquida, por ejemplo, de manera que los porcentajes en peso hacen un total de 100 %. Adecuadamente cualquier concentración dada en la presente memoria en relación con cualquier componente de la composición farmacéutica líquida representa concentraciones de dicho componente en (y adecuadamente disuelto en) el diluyente en mezcla con algún otro componente.

La composición farmacéutica líquida de la invención es adecuadamente una solución, y es adecuadamente (básicamente o completamente) libre de particulados o precipitados.

40 Componentes ausentes o en bajo nivel

#### Poca/no arginina

La composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de arginina (adecuadamente L-arginina) o comprende arginina en una concentración de como mucho 0,001 mM.

45 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de arginina o comprende arginina en una relación molar de arginina y sistema tampón de como mucho 1:150 (es decir, menos que o igual a un mol de arginina por cada 150 moles de sistema tampón), más adecuadamente como mucho 1:1.500, lo más adecuadamente como mucho 1:15.000.

50 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de arginina o comprende arginina en una relación en peso de arginina y adalimumab de como mucho 1:3.000 (es decir, menos que o igual a una parte por peso de arginina por cada 3.000 partes por peso de adalimumab), más adecuadamente como mucho 1:30.000, lo más adecuadamente como mucho 1:300.000.

Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de arginina o comprende arginina en una relación molar de arginina y adalimumab de como mucho 1:3,75 (es decir, menos que o igual a un mol de arginina por cada 3,75 moles de adalimumab), más adecuadamente como mucho 1:37,5, lo más

adecuadamente como mucho 1:375.

Tal como se explica en la presente memoria, tales referencias a “arginina” en el contexto de su presencia o de otra manera dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a el(los) correspondiente(s) aminoácido(s) libre(s) y no a residuo(s) de aminoácido covalentemente incorporado(s) como parte de un compuesto mayor, tal como un péptido o proteína.

5

Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (básicamente o completamente) excluyen arginina funcionan particularmente bien en ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con agregación, fragmentación y despliegue de proteína.

Pocos/No aminoácidos

10 La composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una concentración (colectiva) de como mucho 0,001 mM.

La composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una relación molar (colectiva) de aminoácido(s) y sistema tampón de como mucho 1:15.000.

15 La composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una relación en peso (colectiva) de aminoácido(s) y adalimumab de como mucho 1:300.000.

La composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una relación molar (colectiva) de aminoácido(s) y adalimumab de como mucho 1:375.

20 Tal como se explica en la presente memoria, tales referencias a “aminoácidos” en el contexto de su presencia o de otra manera dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a el(los) correspondiente(s) aminoácido(s) libre(s) y no a residuo(s) de aminoácido covalentemente incorporado(s) como parte de un compuesto mayor, tal como un péptido o proteína.

25 Adecuadamente, los aminoácidos referidos en esta sección (y considerados o bien ausentes o presentes en bajas cantidades) pueden ser aminoácidos naturales y/o artificiales, aunque son preferiblemente aminoácidos naturales. En particular, las composiciones farmacéuticas líquidas son o bien (básicamente o completamente) libres de aminoácidos seleccionados del grupo que incluye: arginina, lisina, ácido aspártico e histidina; o comprenden uno o más de los aminoácidos anteriormente mencionados en una cantidad, concentración, relación molar, o relación en peso como se definió anteriormente en relación con los “aminoácido(s)”.

30 Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (básicamente o completamente) excluyen aminoácidos o ciertos aminoácidos, como se definió anteriormente, funcionan particularmente bien en los ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con agregación, fragmentación y despliegue de proteína.

Pocos/no tensioactivos

35 La composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos (sean catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) a excepción de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitano) o comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo polisorbato 80) en una concentración (colectiva) de 0,0001 mM.

40 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos (sean catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) a excepción de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitano) o comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo polisorbato 80) en una relación molar (colectiva) de tensioactivo(s) y sistema tampón de como mucho 1:10, más adecuadamente como mucho 1:100, lo más adecuadamente como mucho 1:1.000, más adecuadamente como mucho 1:10.000, adecuadamente como mucho 1:100.000.

45 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos (sean catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) a excepción de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitano) o comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo polisorbato 80) en una relación en peso (colectiva) de tensioactivo(s) y adalimumab de como mucho 1:50 (es decir menos que o igual a una parte por peso de tensioactivo(s) para cada 50 partes por peso de adalimumab), más adecuadamente como mucho 1:500, más adecuadamente como mucho 1:5.000, más adecuadamente como mucho 1:50.000, adecuadamente como mucho 1:500.000.

50

Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos (sean catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos) a excepción de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitano) o comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo polisorbato 80) en una relación molar

(colectiva) de tensioactivo(s) y adalimumab de como mucho 3:1, más adecuadamente como mucho 0,3:1, más adecuadamente 0,003:1, más adecuadamente 0,0003:1, adecuadamente 0,00003:1.

5 Adecuadamente, los tensioactivos referidos en esta sección (y considerados o bien ausentes o presentes en bajas cantidades) pueden ser tensioactivos catiónicos, aniónicos, anfóteros o no iónicos. Adecuadamente, los tensioactivos referidos en esta sección (y considerados o bien ausentes o presentes en bajas cantidades) incluyen tensioactivos catiónicos, aniónicos y anfóteros, pero excluyen polisorbato 80. Por lo tanto, la composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos catiónicos, aniónicos o anfóteros o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, relación molar o relación en peso de como mucho lo estipulado en cualquiera de los párrafos precedentes de esta subsección en relación con "tensioactivo(s)" más generalmente.

La composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos no iónicos a excepción opcional de polisorbato 80 o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, relación molar, o relación en peso de como mucho lo estipulado en cualquiera de los párrafos precedentes de esta subsección en relación con "tensioactivo(s)" más generalmente.

15 La composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos de polisorbato a excepción opcional de polisorbato 80 o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, relación molar, o relación en peso de como mucho lo estipulado en cualquiera de los párrafos precedentes de esta subsección en relación con "tensioactivo(s)" más generalmente.

20 La composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de tensioactivos polisorbato 20 (también conocido como Tween 20 – monolaurato de polioxietileno (20) sorbitano) o comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, relación molar, o relación en peso de como mucho el estipulado en cualquiera de los párrafos precedentes de esta subsección en relación con "tensioactivo(s)" más generalmente.

25 Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que excluyen (básicamente o completamente) ciertos tensioactivos, como se definió anteriormente, funcionan particularmente bien en ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con agregación, fragmentación y despliegue de proteína.

Poco/No fosfato

30 La composición farmacéutica líquida o bien es (básicamente o completamente) libre de agentes tampón de fosfato (por ejemplo, dihidrógeno fosfato de sodio, hidrógeno fosfato de disodio) o comprende un sistema tampón de fosfato en una concentración de como mucho 0,001 mM.

35 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de agentes tampón de fosfato (por ejemplo, dihidrógeno fosfato de sodio, hidrógeno fosfato de disodio) o comprende un sistema tampón de fosfato en una relación molar de sistema tampón de fosfato y algún sistema tampón de no fosfato presente de como mucho 1:150 (es decir menos que o igual a un mol de agente tampón de fosfato por cada 150 moles de sistema tampón de no fosfato presente), más adecuadamente como mucho 1:1.500, lo más adecuadamente como mucho 1:15.000.

40 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida o bien es libre (básicamente o completamente) de agentes tampón de fosfato o comprende un sistema tampón de fosfato en una relación molar de sistema tampón de fosfato y adalimumab de como mucho 1:3,75 (es decir menos que o igual a un mol del sistema tampón de fosfato por cada 3,75 moles de adalimumab), más adecuadamente como mucho 1:37,5, lo más adecuadamente como mucho 1:375.

45 Las referencias a "agentes tampón de fosfato" en el contexto de su presencia o de otra manera dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a cualquier sal de fosfato en cualquier forma o estado de protonación, incluyendo fosfato, monohidrógeno fosfato, y dihidrógeno fosfato. Sin embargo, excluye adecuadamente cualquier resto o residuo de fosfato que se puede incorporar de manera covalente como parte de un compuesto mayor, tal como un péptido o proteína fosforilada o glicosilada.

Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que excluyen (básicamente o completamente) agentes tampón de fosfato funcionan particularmente bien en ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con agregación, fragmentación y despliegue de proteína.

50 Componentes adicionales opcionales

Tonificador

La composición farmacéutica líquida de la invención comprende un "modificador de tonicidad" (o "tonificador") o uno o más tonificadores, adecuadamente como se define en la presente memoria.

La inclusión de un tonificador contribuye adecuadamente a (o aumenta) la osmolalidad y la osmolaridad total de la

composición. Adecuadamente un tonificador está presente dentro de la composición en una cantidad o concentración suficiente para que la composición sea (básicamente) isotónica con fluidos corporales. Adecuadamente un tonificador está presente dentro de la composición en una cantidad o concentración suficiente para que la composición tenga una osmolaridad o osmolalidad dentro de un intervalo definido en la presente memoria.

5 Adecuadamente, el(los) tonificador(es) no es(son) tampón(tampones) (es decir, da(n) lugar a efecto tampón pequeño o no efecto).

La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más tonificadores, aunque preferiblemente solamente un único "tonificador" como tal está presente (a pesar de cualquier efecto de tonificación impartido a la composición por componentes destinados a servir otra función como se define en la presente memoria).

10 El tonificador es o comprende cloruro de sodio. En una realización particular, el tonificador es cloruro de sodio. El cloruro de sodio es un estabilizador particularmente ventajoso para su uso junto con un agente tampón/sistema tampón de acetato en formulaciones de adalimumab líquidas.

15 El(los) tonificador(es) está(n) presente(s) a una concentración de entre 40 y 60 mM, lo más adecuadamente aproximadamente 50 mM. En una realización, el cloruro de sodio está presente a una concentración de 50 mM.

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el(los) tonificador(es) (lo más adecuadamente cloruro de sodio) a una concentración de desde aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 12 mg/ml, más adecuadamente desde aproximadamente 1,2 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, más adecuadamente desde aproximadamente 1,5 mg/ml a aproximadamente 4,4 mg/ml. En una realización, el(los) tonificador(es) está(n) presente(s) a una concentración de entre 2,7 mg/ml y 3,1 mg/ml, lo más adecuadamente aproximadamente 2,9 mg/ml. En una realización particular, el cloruro de sodio está presente a una concentración de aproximadamente 2,9 mg/ml.

25 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el(los) tonificador(es) (lo más adecuadamente cloruro de sodio) en una relación molar de tonificador y adalimumab de desde aproximadamente 30:1 a aproximadamente 580:1, más adecuadamente desde aproximadamente 60:1 a aproximadamente 290:1, más adecuadamente desde aproximadamente 70:1 a aproximadamente 220:1. En una realización, el(los) tonificador(es) está(n) presente(s) a una relación molar de tonificador y adalimumab de desde aproximadamente 115:1 y aproximadamente 175:1, lo más adecuadamente aproximadamente 145:1. En una realización, el cloruro de sodio está presente a una relación molar de cloruro de sodio y adalimumab de aproximadamente 145:1.

30 Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un tonificador como se define en la presente memoria funcionan particularmente bien en ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con agregación, fragmentación y despliegue de proteína, los cuales pueden ser importantes indicadores de la estabilidad y la viabilidad del medicamento. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden cloruro de sodio, particularmente en un intervalo de cantidad como el estipulado, funcionan particularmente bien.

35 Tensioactivo

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el(los) tensioactivo(s) (lo más adecuadamente polisorbato 80) a una concentración de desde aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 5 mM (es decir, 0,1  $\mu$ M a 5 mM), más adecuadamente desde aproximadamente 0,001 a aproximadamente 2 mM, más adecuadamente desde 0,01 a aproximadamente 1,0 mM. En una realización, el(los) tensioactivo(s) está(n) presente(s) a una concentración de entre 0,72 y 0,80 mM, lo más adecuadamente aproximadamente 0,76 mM. En una realización, polisorbato 80 está presente a una concentración de 0,76 mM.

45 La composición farmacéutica líquida comprende polisorbato 80 a una concentración de entre 0,9 mg/ml y 1,1 mg/ml, lo más adecuadamente aproximadamente 1,0 mg/ml. En una realización particular, polisorbato 80 está presente a una concentración de aproximadamente 1,0 mg/ml.

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el(los) tensioactivo(s) (lo más adecuadamente polisorbato 80) en una realización molar de tensioactivo(s) y adalimumab de desde aproximadamente 1:3.500 a aproximadamente 15:1, más adecuadamente desde aproximadamente 1:350 a aproximadamente 6:1, más adecuadamente desde aproximadamente 1:35 a aproximadamente 3:1. En una realización, el(los) tensioactivo(s) está(n) presente(s) a una relación molar de tensioactivo(s) y adalimumab de desde aproximadamente 2,1:1 a aproximadamente 2,3:1, lo más adecuadamente aproximadamente 2,2:1. En una realización, polisorbato 80 está presente a una relación molar de polisorbato 80 y adalimumab de aproximadamente 2,2:1

55 Tal como se ilustra en la sección Ejemplo, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un tensioactivo como se define en la presente memoria funcionan particularmente bien en ensayos bajo condiciones extremas, especialmente en relación con agregación, fragmentación y despliegue de proteína, los cuales pueden ser importantes indicadores de la estabilidad y la viabilidad del medicamento. Además, las composiciones farmacéuticas

líquidas que comprenden polisorbato, particularmente en un intervalo de cantidad como el estipulado, funcionan particularmente bien.

Otros parámetros relacionados con la invención

Osmolalidad

5 Adecuadamente, la osmolalidad de la composición farmacéutica líquida es entre 200 y 400 mOsm/kg, más adecuadamente entre 220 y 390 mOsm/kg, más adecuadamente entre 230 y 350 mOsm/kg, más adecuadamente entre 240 y 340 mOsm/kg, más adecuadamente entre 260 y 320 mOsm/kg, lo más adecuadamente entre 280 y 310 mOsm/kg. Adecuadamente las cantidades y las concentraciones relativas de los diversos componentes de la  
 10 composición se pueden afinar juiciosamente para alcanzar la osmolalidad deseada, y la novedosa combinación particular de componentes permite que esto se alcance en gran medida sin minar otros parámetros importantes. Sin embargo, adecuadamente las cantidades y concentraciones relativas de los diversos componentes de la composición se pueden seleccionar para optimizar otros parámetros – la presente descripción, incluyendo los ejemplos y protocolos explicados en la presente memoria, permiten al experto alcanzar este fin y darse cuenta de uno, algunos o todos los beneficios de la presente invención.

15 Temperatura de despliegue de proteína

Adecuadamente, la temperatura de despliegue de proteína (adecuadamente medida por los protocolos DSF definidos en la presente memoria) de adalimumab en la composición farmacéutica líquida de la invención es mayor que o igual a 65 °C, más adecuadamente mayor que o igual a 70 °C. La combinación novedosa de los componentes  
 20 presentes dentro de la composición de la invención permite al experto alcanzar altas temperaturas de despliegue, lo cual se puede considerar deseable desde una perspectiva de la estabilidad térmica.

Parámetros cuando se somete a estrés térmico

Adecuadamente la cantidad (o concentración) de agregados (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente determinados por los protocolos SE-HPLC como se definen en la presente memoria) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se  
 25 mantiene a una temperatura de 40 °C) durante un periodo de 28 días, adecuadamente por no más de 3, adecuadamente por no más de 2,5, adecuadamente por no más de 2,2.

Adecuadamente la cantidad (o concentración) de fragmentos (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos por los protocolos del bioanalizador definidos en la presente memoria) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se mantiene a una  
 30 temperatura de 40 °C) durante un periodo de 28 días, adecuadamente por no más de 3, por no más de 2,5, adecuadamente por no más de 2,2.

Adecuadamente la turbidez (adecuadamente medida por nefelometría según los protocolos explicados en la presente memoria) de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40 °C) durante un periodo de 28 días, adecuadamente por no más de 1,5, adecuadamente por no más de 1,2, y adecuadamente la turbidez no se aumenta en absoluto.

Adecuadamente el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (sea por incremento o descenso, aunque generalmente por un descenso en el pH) no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a estrés térmico a 40 °C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40 °C) durante un periodo de 28 días, adecuadamente no más de 0,2 unidades de pH, adecuadamente no más de 0,1 unidades de pH, lo más adecuadamente el pH no cambia en absoluto (a una cifra decimal).

Parámetros cuando se somete a estrés mecánico

45 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de agregados (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente determinados por los protocolos de SE-HPLC definidos en la presente memoria) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés mecánico (es decir, agitada de acuerdo con los protocolos citados en la presente memoria) durante un periodo de 48 días, adecuadamente por no más de 1,5, adecuadamente por no más de 1,2, adecuadamente por no más de 1,1.

Adecuadamente la cantidad (o concentración) de fragmentos (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos por los protocolos del bioanalizador definidos en la presente memoria) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés mecánico (es decir, agitada de acuerdo con los protocolos citados en la presente memoria) durante un periodo de 48 días, adecuadamente por no más de 1,5, adecuadamente  
 55

por no más de 1,2, adecuadamente por no más de 1,1.

5 Adecuadamente la turbidez (adecuadamente medida por nefelometría de acuerdo con los protocolos explicados en la presente memoria) de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés mecánico (es decir, agitada de acuerdo con los protocolos citados en la presente memoria) durante un periodo de 48 días, adecuadamente por no más de 1,5, adecuadamente por no más de 1,2, adecuadamente por no más de 1,1, y adecuadamente la turbidez no se aumenta en absoluto

10 Adecuadamente el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (sea por incremento o descenso, aunque generalmente por un descenso en el pH) no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a estrés mecánico (es decir, agitada de acuerdo con los protocolos citados en la presente memoria) durante un periodo de 48 horas, adecuadamente no más de 0,2 unidades de pH, adecuadamente no más de 0,1 unidades de pH, lo más adecuadamente el pH no cambia en absoluto (a una cifra decimal).

Parámetros cuando se somete a estrés lumínico

15 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de agregados (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos por los protocolos de SE-HPLC definidos en la presente memoria) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 50 (es decir, 50 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir, 7 horas a  $765 \text{ W/m}^2$ ), adecuadamente por no más de 45, adecuadamente por no más de 35, adecuadamente por no más de 30.

20 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de fragmentos (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos por los protocolos del bioanalizador definidos en la presente memoria) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir, 7 horas a  $765 \text{ W/m}^2$ ), adecuadamente por no más de 3, adecuadamente por no más de 2,5, adecuadamente por no más de 2.

30 Adecuadamente la turbidez (adecuadamente medida por nefelometría según los protocolos explicados en la presente memoria) de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir, 7 horas a  $765 \text{ W/m}^2$ ), adecuadamente por no más de 1,5, adecuadamente por no más de 1,2, y adecuadamente la turbidez no se aumenta en absoluto.

35 Adecuadamente el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (sea por incremento o descenso, aunque generalmente por un descenso en el pH) no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir 7 horas a  $765 \text{ W/m}^2$ ), adecuadamente por no más de 0,2 unidades de pH, adecuadamente no más de 0,1 unidades de pH, lo más adecuadamente el pH no cambia en absoluto (a una cifra decimal).

40 Adecuadamente el perfil de isoforma de adalimumab, particularmente el área integrado del "pico principal", en la composición farmacéutica líquida (adecuadamente medido por enfoque isoelectrónico, adecuadamente cIEF, usando adecuadamente un iCE280, empleando adecuadamente un protocolo explicado en la presente memoria) es razonablemente estable cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir 7 horas a  $765 \text{ W/m}^2$ ). Adecuadamente, el estrés lumínico se realiza según las actuales directrices de ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicinas (en relación con el ensayo de fotoestabilidad de nuevas sustancias activas y productos farmacéuticos), adecuadamente como se ilustra por el documento CPMP/ICH/279/95. Adecuadamente el perfil de isoforma del adalimumab dentro de la composición, medido en referencia al área integrado del "pico principal" relacionado con el adalimumab en un electroferograma producido por enfoque isoelectrónico (adecuadamente enfoque isoelectrónico por capilaridad como se describe en la presente memoria, u opcionalmente otros protocolos de enfoque isoelectrónico estándares bien conocidos en la técnica), cambia no más del 20 % cuando se somete a estrés lumínico (adecuadamente 7 horas de exposición a la luz  $765 \text{ W/m}^2$ , adecuadamente según las actuales directrices de ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicinas, adecuadamente el documento CMP/ICH/279/95), especialmente cuando se usa un biosimilar de adalimumab similar. Adecuadamente, el perfil de isoforma del adalimumab dentro de la composición (adecuadamente medido en referencia al área integrada del "pico principal" relacionado con adalimumab) no cambia más del 15 % (sea un incremento o una reducción en el área del pico) cuando se somete a estrés lumínico de esta manera (especialmente cuando se usa un biosimilar de adalimumab), adecuadamente no más del 10 %, adecuadamente no más del 5 %, adecuadamente no más del 4 %, adecuadamente no más del 3 %. Las composiciones de adalimumab de la técnica anterior presentan inferior estabilidad del perfil de la isoforma debido al fenómeno de fotooxidación que se inhibe debidamente al usar un tampón de acetato dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas particulares de la invención. Por lo tanto, en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención adalimumab presenta fotoestabilidad superior. En una realización particular, adalimumab tiene una

fotoestabilidad en la composición farmacéutica líquida de la invención mayor que las formulaciones HUMIRA® comerciales definidas en la presente memoria (adecuadamente indicado por los perfiles de isoforma relativa, particularmente en relación con el pico principal de adalimumab), adecuadamente incluso cuando se usan biosimilares de adalimumab. Se entenderá que el "pico principal" que corresponde a adalimumab se refiere al pico principal de adalimumab de un electroferograma (es decir, ese con la mayor área de pico integrado) resultante de las mediciones de enfoque isoelectrónico, adecuadamente realizadas como se define en la presente memoria.

5 Adecuadamente el electroferograma se adquiere a 280 nm, adecuadamente durante los tiempos de preenfoco y enfoque de 1 y 6 minutos respectivamente, adecuadamente a un voltaje de 1.500 V (preenfoco) y 3.000 V (enfoco). Adecuadamente los picos son picos de absorbancia, adecuadamente a 280 nm. La separación de las

10 diversas isoformas adecuadamente se alcanza usando hidróxido de sodio 100 mM (en metilcelulosa al 0,1 %) como una solución catódica y adecuadamente ácido o-fosfórico 80 mM (en metilcelulosa al 0,1 %). Ejemplos adecuados para las mediciones de enfoque isoelectrónico se preparan según un protocolo definido en la presente memoria o en otra parte de la técnica, pero en particular puede implicar adecuadamente uno o más o todos de: i) purificación; ii) separación de sales (por ejemplo, con centrifugación, adecuadamente con un corte a 10 kDa); iii) dilución previa para dar un contenido de proteína de aproximadamente 5,0 mg/ml, adecuadamente aproximadamente 1,0 mg/ml, en donde el diluyente puede incluir opcionalmente metilcelulosa, Pharmalyte 5-8 (GE Healthcare), Pharmalyte 8-10,5 (GE Healthcare), bajo marcador de pI 7,05 (Proteína Simple), alto marcador de pI 9,50 (Proteína Simple) y agua purificada; iv) una o más etapas de centrifugación adicionales (por ejemplo, 3 min a 10.000 rpm, adecuadamente seguido de 2 min a 7.000 rpm, adecuadamente sobre una muestra de 150 microlitros). El enfoque isoelectrónico es

15 adecuadamente enfoque isoelectrónico por capilaridad (cIEF, del inglés "capillary isoelectric focusing"), y adecuadamente se realiza usando un sistema iCE280 por Proteína Simple.

#### Parámetros cuando se somete a ciclos de congelación/descongelación

Adecuadamente la cantidad (o concentración) de agregados (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos por los protocolos de SE-HPLC definidos en la presente memoria) presentes dentro de la

25 composición farmacéutica líquida se multiplica por 1,5 (es decir, 1,5 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación (es decir, la composición se congela y descongela cinco veces según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir cinco veces -80 °C a 20 °C), adecuadamente por no más de 1,2, adecuadamente por no más de 1,1, adecuadamente sin (básicamente) incremento en absoluto en la cantidad (o concentraciones) de agregados.

Adecuadamente la cantidad (o concentración) de partículas subvisibles o precipitados, con un tamaño de partícula menor que o igual a 25 micras, presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación (es decir, la composición se congela y descongela cinco veces según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir cinco veces -80 °C a 20 °C), adecuadamente por no más de 3,

30 adecuadamente por no más de 2,5, adecuadamente por no más de 2,2. Adecuadamente la cantidad (o concentración) de partículas o precipitados subvisibles, con un tamaño de partícula menor que o igual a 10 micras, presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se aumenta por no más de 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación (es decir, la composición se congela y descongela cinco veces según los protocolos descritos en la presente memoria, es decir cinco veces -80 °C a 20 °C), adecuadamente por no más de 3,

35 adecuadamente por no más de 2,5, adecuadamente por no más de 2,2.

Adecuadamente la cantidad (o concentración) de partículas subvisibles o precipitados, con un tamaño de partícula menor que o igual a 25 micras, presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación, adecuadamente por no más de 3, adecuadamente por no más de 2,5, adecuadamente por no más de 2,2. Adecuadamente la cantidad (o concentración) de las partículas o los precipitados subvisibles, con un tamaño de partícula menor que o igual a 10 micras, presentes dentro de la composición farmacéutica líquida se multiplica por 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de partida arbitrario) cuando la composición se somete a cinco ciclos de congelación/descongelación, adecuadamente por no más de 3, adecuadamente por no

40 más de 2,5, adecuadamente por no más de 2,2.

#### Métodos de estabilización del anticuerpo

En vista de los puntos anteriormente mencionados en esta subsección, y los datos presentados en los ejemplos, en la presente memoria se describe un método de estabilización de las composiciones de adalimumab líquidas (químicamente y/o físicamente opcionalmente en relación con una cualquiera o más de las propiedades/parámetros anteriormente mencionados), que comprende mezclar adalimumab con algún componente relevante requerido para formar una composición líquida como se define en la presente memoria. Diferentes realizaciones requerirán adecuadamente diferentes combinaciones de componentes a mezclar, potencialmente en diferentes cantidades, y los expertos fácilmente pueden deducir tales combinaciones y cantidades en referencia a la descripción anteriormente mencionada relacionada con la composición farmacéutica líquida. Tales diferentes combinaciones de los componentes pueden estabilizar las composiciones de adalimumab líquidas en diferentes consideraciones. Por ejemplo, al mezclar adalimumab con los componentes anteriormente mencionados para formar una composición

55

60

farmacéutica líquida como se define en la presente memoria se puede estabilizar adalimumab:

- i) Aumentando la temperatura de despliegue de proteína de adalimumab;
  - ii) Inhibiendo la formación de agregados;
  - iii) Inhibiendo la formación de fragmentos;
  - 5 iv) Inhibiendo la formación de partículas subvisibles (o bien  $\leq 25$  micras o  $\leq 10$  micras);
  - v) Inhibiendo la formación de turbidez;
  - vi) Inhibiendo los cambios de pH;
  - vii) Inhibiendo la fotooxidación; y/o
  - viii) Reduciendo la inestabilidad tras los ciclos de congelación/descongelación.
- 10 Por lo tanto, en la presente memoria se describe un método para alcanzar uno, algunos o todos los siguientes beneficios:
- i) Aumentadas temperaturas de despliegue de proteína para adalimumab;
  - ii) Inhibición de la formación de agregados;
  - iii) Inhibición de la formación de fragmentos;
  - 15 iv) Inhibición de la formación de partículas subvisibles (o bien  $\leq 25$  micras o  $\leq 10$  micras);
  - v) Inhibición de la formación de turbidez;
  - vi) Inhibición de cambios de pH;
  - vii) Inhibición de fotooxidación;
  - viii) Inestabilidad reducida tras los ciclos de congelación/descongelación; y/o
- 20 ix) Estabilización del perfil de isoforma (especialmente con respecto al "pico principal" como se define en la presente memoria);

comprendiendo el método la producción de una composición farmacéutica líquida de adalimumab como se define en la presente memoria.

- 25 Adecuadamente, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención tienen una vida útil de al menos 6 meses, adecuadamente al menos 12 meses, adecuadamente al menos 18 meses, más adecuadamente al menos 24 meses. Adecuadamente, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención tienen una vida útil de al menos 6 meses, adecuadamente al menos 12 meses, adecuadamente al menos 18 meses, más adecuadamente al menos 24 meses, a temperatura de 2 a 8 °C.

Posibilitar al experto optimizar las propiedades de estabilidad claves

- 30 La novedosa combinación de los componentes descrita para su uso en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención posibilita al experto producir (y juiciosamente afinar) composiciones que presentan propiedades comparables o mejoradas relativas a las composiciones de la técnica anterior. En particular, la presente descripción ahora proporciona a los expertos todas las herramientas necesarias para optimizar la estabilidad de la formulación, y en particular optimizar uno o más de: inhibición de agregación, fragmentación, despliegue de proteína, precipitación,
- 35 pérdida de pH, y oxidación (especialmente fotooxidación). Además, se da al experto una guía de cómo alcanzar tales optimizaciones (variando juiciosamente las composiciones) y de cómo, en el proceso, minimizar cualquier efecto secundario perjudicial. La presente descripción posibilita al experto trabajar a través del alcance de la invención para producir una diversidad de composiciones específicas que presentan propiedades comparables o mejoradas relativas a las composiciones de la técnica anterior, y esto se puede alcanzar usando menos
- 40 componentes.

Realizaciones particulares

La composición farmacéutica líquida comprende:

- 45 a aproximadamente 55 mg/ml de adalimumab;
- sistema tampón de acetato de sodio/ácido acético 5 a 14 mM;

- trehalosa 190 a 210 mM;
  - cloruro de sodio 40 a 60 mM;
  - 0,9 mg/ml y 1,1 mg/ml de polisorbato 80; y
  - agua (para inyección);
- 5 - en donde la composición:
- o tiene un pH entre 5,1 y 5,3;
  - o es (básicamente o completamente) libre de arginina (adecuadamente L-arginina) o comprende arginina en una concentración de como mucho 0,001 mM;
- 10
- o es (básicamente o completamente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una concentración (colectiva) de como mucho 0,001 mM;
  - o es (básicamente o completamente) libre de tensioactivos a excepción de polisorbato 80 o comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo polisorbato 80) en una concentración (colectiva) de como mucho 0,0001 mM; y/o
- 15
- o es (básicamente o completamente) libre de agentes tampón de fosfato (por ejemplo, dihidrógeno fosfato de sodio, hidrógeno fosfato de disodio) o comprende un sistema tampón de fosfato en una concentración de como mucho 0,001 mM.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende:

- 50 mg/ml de adalimumab;
  - sistema tampón de acetato de sodio/ácido acético 10 mM;
- 20
- trehalosa 200 mM;
  - cloruro de sodio 50 mM;
  - 1,0 mg/ml de polisorbato 80; y
  - agua (para inyección);
  - en donde la composición:
- 25
- o tiene un pH de 5,2;
  - o es libre de arginina;
  - o es libre de aminoácidos;
  - o es libre de tensioactivos a excepción de polisorbato 80; y
  - o es libre de agentes/sistemas tampón de fosfato.
- 30
- Idealmente, la composición farmacéutica líquida consiste esencialmente en:
- 50 mg/ml de adalimumab;
  - sistema tampón de acetato de sodio/ácido acético 10 mM;
  - trehalosa 200 mM;
  - cloruro de sodio 50 mM;
- 35
- 1 mg/ml de polisorbato 80; y
  - agua (para inyección);

en donde la composición tiene un pH de 5,2.

Método de producción de una composición farmacéutica líquida

- 40 En la presente memoria se describe un método de producción de una composición farmacéutica líquida, adecuadamente como se define en la presente memoria. El método adecuadamente comprende mezclar juntos, en

5 cualquier orden particular considerado apropiado, algún componente relevante requerido para formar una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria. El experto se puede referir a los Ejemplos o técnicas bien conocidas en la técnica para formar composiciones farmacéuticas líquidas (especialmente las de inyección por jeringa). Diferentes realizaciones adecuadamente requerirán diferentes combinaciones de los componentes a mezclar, potencialmente en diferentes cantidades. El experto fácilmente puede deducir tales combinaciones y cantidades en referencia a la descripción anteriormente mencionada relacionada con la composición farmacéutica líquida.

10 Adecuadamente el método implica mezclar juntos los componentes relevantes adecuadamente, en un diluyente (por ejemplo, agua), adecuadamente de manera que todos los componentes estén (básicamente o completamente) disueltos en el diluyente.

15 El método puede implicar primero preparar una premezcla (presolución) de algunos o todos los componentes (opcionalmente con algunos o todos del diluyente) excluyendo adalimumab, y, a continuación, el propio adalimumab (opcionalmente con o disuelto previamente en algunos del diluyente) se puede mezclar con la premezcla (o presolución) para proporcionar la composición farmacéutica líquida, o una composición a la cual, a continuación, se añaden los componentes finales para facilitar la composición farmacéutica líquida final. Lo más adecuadamente, la premezcla contiene todos los componentes excepto el adalimumab y opcionalmente también algún diluyente (el cual se puede usar para disolver previamente adalimumab), adecuadamente de manera que el adalimumab se añade a una mezcla que ofrece estabilización óptima de adalimumab. Adecuadamente la premezcla anteriormente mencionada se prepara con el pH deseado para la formulación farmacéutica líquida final.

20 Adecuadamente, el método implica la formación de un sistema tampón, adecuadamente un sistema tampón que comprende un agente tampón como se define en la presente memoria. El sistema tampón adecuadamente se forma en una premezcla antes de la adición de adalimumab, aunque el sistema tampón opcionalmente se puede formar con adalimumab presente. El sistema tampón se puede formar simplemente mezclando el agente tampón (suministrado ya preparado) con su conjugado ácido/base (adecuadamente en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado – esto puede ser determinado por el experto o bien teóricamente o experimentalmente). En el caso de un sistema tampón de acetato, esto significa mezclar el acetato de sodio con ácido acético. Alternativamente, el sistema tampón se puede formar por la adición de un ácido fuerte (por ejemplo, HCl) al agente tampón (por ejemplo, acetato de sodio) para formar *in situ* el conjugado ácido/base (por ejemplo, ácido acético) (adecuadamente de nuevo en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado). Alternativamente, el sistema tampón se puede formar por la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al conjugado ácido/base (por ejemplo, ácido acético) del agente tampón (por ejemplo, acetato de sodio) para formar *in situ* el agente tampón (adecuadamente de nuevo en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado). El pH de cada premezcla de la composición farmacéutica líquida final se puede ajustar juiciosamente añadiendo la cantidad requerida de base fuerte o ácido fuerte, o incluso una cantidad de agente tampón o conjugado ácido/base.

35 En ciertas realizaciones, el agente tampón y/o agente tampón se forma previamente como una mezcla separada, y el sistema tampón se transfiere a un precursor de la composición farmacéutica líquida (que comprende algunos o todos los componentes excepto el agente tampón y/o sistema tampón, que comprende adecuadamente adalimumab y potencialmente solamente adalimumab) por intercambio de tampón (por ejemplo, usando diafiltración hasta que se alcancen las concentraciones u osmolalidad relevantes). Después de eso, se pueden añadir excipientes adicionales si es necesario para producir la composición farmacéutica líquida final. El pH se puede ajustar una vez o antes de que estén presentes todos los componentes.

40 Alguno, algunos o todos los componentes se pueden ser disolver o mezclar previamente con un diluyente antes de mezclarse con otros componentes.

45 La composición farmacéutica líquida final se puede filtra, adecuadamente para separar un material particulado. Adecuadamente la filtración es a través de filtros de tamaño de o por debajo de 1  $\mu\text{m}$ , adecuadamente de 0,22  $\mu\text{m}$ . Adecuadamente, la filtración es a través de o bien filtros PES o filtros PVDF, adecuadamente con filtros PES de 0,22  $\mu\text{m}$ .

En la presente memoria también se describe una composición farmacéutica líquida obtenible por, obtenida por, o directamente obtenida por el método de producción descrito en la presente memoria.

50 Dispositivo de administración de fármaco

La presente invención proporciona un dispositivo de administración de fármaco que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria. Adecuadamente el dispositivo de administración de fármaco comprende una cámara dentro de la cual reside la composición farmacéutica. Adecuadamente el dispositivo de administración de fármaco es estéril.

55 El dispositivo de administración de fármaco puede ser un vial, ampolla, jeringa, lápiz de inyección (por ejemplo, que esencialmente incorpora una jeringa), o bolsa intravenosa. Lo más adecuadamente el dispositivo de administración de fármaco es una jeringa, adecuadamente un lápiz de inyección. Adecuadamente la jeringa es una jeringa de vidrio. Adecuadamente la jeringa comprende una aguja, adecuadamente una aguja de 29G 12,7 cm ( $\frac{1}{2}$ ").

5 En la presente memoria también se describe un método de producción de un dispositivo de administración de fármaco, adecuadamente como se define en la presente memoria, comprendiendo el método la incorporación de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria dentro de un dispositivo de administración de fármaco. Tal producción generalmente implica cargar la composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria a una jeringa, adecuadamente por una aguja añadida a la misma. Después de eso, la aguja se puede eliminar, reemplazar o mantener.

En la presente memoria también se describe un dispositivo de administración de fármaco obtenible por, obtenido por, o directamente obtenido por un método de producción definido en la presente memoria.

#### Envase

10 En la presente memoria se describe un envase que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria. Adecuadamente el envase comprende un dispositivo de administración de fármaco como se define en la presente memoria, adecuadamente una pluralidad de dispositivos de administración de fármaco. El envase puede comprender cualquier recipiente adecuado para contener uno o más dispositivos de administración de fármaco.

15 En la presente memoria también se describe un método de producción de un envase, comprendiendo el método la incorporación de una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria dentro de un envase. Adecuadamente esto se consigue incorporando dicha composición farmacéutica líquida dentro de uno o más dispositivos de administración de fármaco y, después de eso, incorporando los uno o más dispositivos de administración de fármacos prellenados en un recipiente presente dentro del envase.

20 En la presente memoria también se describe un envase obtenible por, obtenido por, o directamente obtenido por un método de producción definido en la presente memoria.

#### Kit de partes

25 En la presente memoria se describe un kit de partes que comprende un dispositivo de administración de fármaco (sin la composición farmacéutica líquida incorporada en el mismo), una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria (opcionalmente contenida en un envase o recipiente separado), y opcionalmente un conjunto de instrucciones con orientaciones con respecto a la administración (por ejemplo, subcutánea) de la composición farmacéutica líquida. Entonces, el usuario puede rellenar el dispositivo de administración de fármaco con la composición farmacéutica líquida (la cual puede estar proporcionada en un vial o ampolla o similares) antes de la administración.

30 Usos de la composición farmacéutica líquida y métodos de tratamiento

35 En la presente memoria también se describe un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno médico; una composición farmacéutica líquida para su uso en terapia; un uso de una composición farmacéutica líquida en la producción de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno; un método de tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ); una composición farmacéutica líquida para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ); un uso de una composición farmacéutica líquida en la producción de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ); un método de tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; una composición farmacéutica líquida para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; y un uso de una composición farmacéutica líquida en la producción de un medicamento para el tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; como se define en la presente memoria.

45 Las composiciones farmacéuticas líquidas definidas en la presente memoria se pueden usar para tratar una cualquiera o más de las enfermedades o trastornos médicos anteriormente mencionados. En una realización particular, las composiciones farmacéuticas líquidas se usan para tratar artritis reumatoide, enfermedad de Crohn y psoriasis.

50 Las composiciones farmacéuticas líquidas adecuadamente se administran de manera parenteral, adecuadamente por inyección subcutánea.

#### Ejemplos

55 Se investigaron una diversidad de formulaciones (que caen tanto dentro como fuera del alcance de las formulaciones reivindicadas en la presente) como se describe más adelante para desarrollar un entendimiento mejor de la invención. El experto advertirá fácilmente que las formulaciones caen dentro del alcance de las formulaciones reivindicadas en la presente, y que las formulaciones sirven como comparadores eficaces.

## ES 2 600 488 T3

### Materiales y equipo

Los siguientes materiales se usaron en la preparación de las formulaciones descritas en los Ejemplos que sigue:

Ingrediente
Ácido acético (glacial) 100 %
DS Adalimumab
Monohidrocloruro de arginina
Ácido aspártico
Ácido cítrico monohidrato
fosfato de sodio dibásico dihidrato
Hidrocloruro de lisina
Manitol
Fosfato de sodio monobásico dihidrato
Poloxámero 188
Polisorbato 80
Cloruro de sodio
Citrato de sodio
Solución de hidróxido de sodio al 30 %
Trehalosa dihidrato
API

Los siguientes materiales y equipo disponibles se usaron en los Ejemplos y Experimentos de Selección que siguen.

Producto	Código	Proveedor
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 PES (0,22 µm)	Membrana PES MillexGP Express REF SLGP033RS	Millipore
Botellas PETG	3420-1000, 3420-0500, 2019-0250, 3420-0125, 3420-0060, 2019-0030	Nalgene

5

El siguiente envase se usó en los Ejemplos y Experimentos de Selección que siguen.

Producto	Código	Proveedor
Vial de vidrio Tipo I DIN2R	0212060.6112 11200000A	Nuova Ompi
tapón 1 ml	S2-F451 RSV; D 21-7S RB2-40	Daikyo Seiko, LTD
Tapa "flip-off" de 13 mm	12000350	MS-A

## ES 2 600 488 T3

El siguiente equipo se usó en los Ejemplos y Experimentos de Selección que siguen.

Producto	Mod.	Fabricante
Escalas analíticas	AX205, PG2002-S	Mettler Toledo
Instrumento Benchtop xenon	Suntest CPS+	Atlas
Pipetas calibradas	P20, P100, P200, P1000	Gilson
HPLC	Alliance	Waters
iCE280	Fast IEF Analyzer	Convergent Bioscience
Osmómetro	Osmomat 030/D	Gonotec
PCR	7500 Fast Real-Time	AB Applied Biosystem
Medidores de pH	Seven Multi	Mettler Toledo
Neveras	+2-8 °C	Angelantoni
Programa informático Design Expert	Ver. 7.1.5	Stat-Ease, Inc.
Armarios termoestáticos	+25 °C, +40 °C	Angelantoni
Turbidímetro	2100AN IS	Hach Lange
Espectrofotómetro UV	Lambda 35	Perkin Elmer

Técnicas analíticas y protocolos

- 5 Los siguientes métodos analíticos de los protocolos se emplearon en los Ejemplos de Experimentos de Selección (“screening”) que siguen, por las razones indicadas en la tabla de a continuación:

Nº Método	Método analítico	Alcance del ensayo
1	Bioanalizador	Pureza
2	DSF	Temperatura de despliegue
3	iCE280	Perfil de isoformas
4	DO	Contenido de proteína
5	SE-HPLC	Determinación de agregados
6	Nefelometría	Turbidez
7	Osmolalidad	Osmolalidad de solución
8	pH	Determinación de pH
9	Partículas subvisibles	Recuento de partícula

Los protocolos individuales para cada uno de los anteriores métodos analíticos se describen a continuación de uno en uno, y las referencias en los Ejemplos y Experimentos de Selección a cualquiera de tales métodos analíticos usaron estos protocolos.

- 10 1. Pureza – Bioanalizador

Se usó una Bioanalizador 2100. Los protocolos se pueden encontrar en el manual de instrucciones relevante. Sin embargo, los protocolos además se han perfeccionado tal como sigue.

Soluciones:

Mezcla Gel – Tinte (solución de tinción):

5 Añadir 25 µl de concentrado de tinte de 230plus a un tubo matriz de gel 230plus. Mezclar bien en vórtex, y centrifugar el tubo durante 15 segundos. Transferir a un filtro de centrifuga y centrifugar a 25.000 rpm durante al menos 20 min. La solución está lista para usarse. Almacenar la solución a +5±3 °C durante no más de 4 semanas.

Solución de decoloración:

Pipetear 650 µl de matriz gel en un filtro de centrifuga. Centrifugar a 2.500 rpm durante al menos 25 min. Almacenar la solución a +5±3 °C durante no más de 4 semanas.

Tampón de muestra:

10 Se recomienda dividir los 200 µl de tampón de muestra en alícuotas de 25 µl y descongelar la alícuota para cada chip. Almacenar la solución madre del tampón de muestra y las alícuotas a -20 °C, no más de la fecha de caducidad proporcionada por el proveedor.

Solución madre de maleimida:

15 Disolver 23,4 mg de maleimida en 1 ml de agua MilliQ (0,24 M). Mezclar bien en vórtex la solución. Posteriormente, diluir la solución 1:4 con agua MilliQ (por ejemplo, 50 µl de Solución. Madre + 150 µl de MilliQ). La concentración final de la solución de maleimida diluida es de 60 mM. (Puesto que los datos no están todavía disponibles sobre la estabilidad de esta solución, se debe preparar de manera fresca antes de empezar cada sesión analítica).

Solución OTf:

20 Para el análisis de muestras de Adalimumab la solución reductora se debe preparar con DTT 1 M, por lo tanto, disolver 154,0 mg de DTT en 1 ml de agua MilliQ.

Solución no reductora:

Añadir 1 µl de agua MilliQ a una alícuota de tampón de muestra (25 µl) y mezclar en vórtex durante 5 segundos. Usar la solución no reductora dentro de su día de preparación.

Solución reductora:

25 Añadir 1 µl de la correspondiente solución DTf a una alícuota de tampón de muestra (25 µl) y mezclar en vórtex durante 5 segundos. Usar la solución reductora dentro de su día de preparación.

Preparación de muestra:

- Las muestras se analizaron a la concentración que oscila entre 2,4 a 3 mg/ml.
- Si es necesario las muestras se pueden diluir a la concentración objetivo usando agua MilliQ.

30 Las muestras se preparan según la guía del kit de reactivo usando los tampones de muestra reductores y no reductores según la instrucción en la guía del kit de reactivo y también anteriormente mencionado. Rotundamente se recomienda usar, de manera diferente a la guía, volúmenes mayores para alcanzar resultados reproducibles y exactos. A continuación, se informa de un ejemplo de cómo preparar la escala y las muestras:

Condición reductora y no reductora de solución de preparación de muestra

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	
Solución de maleimida	1 µl	
Las muestras tienen que mezclarse bien (por vórtex) y centrifugarse. Todas las muestras y la escala se calientan 5 minutos a 70 °C		
Agua MilliQ	84 µl	90 µl
Mezclar bien en vórtex y centrifugar		
Cargar 6 µl de toda muestra y escala		

## ES 2 600 488 T3

Nota 1: para los IPC cuya concentración está entre 2,4 mg/ml y 3,0 mg/ml, la preparación de la muestra sigue la tabla anterior pero el volumen de agua MilliQ añadida después de calentar la muestra se calcula para alcanzar una concentración de proteína final de 0,1 mg/ml.

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

Condición reductora y no reductora de solución de preparación de muestra

Reactivo	Volumen $\mu$ l	Volumen Total $\mu$ l
Muestra (2,6 mg/ml)	3 $\mu$ l	6 $\mu$ l
Tampón de muestra (reductor o no reductor)	2 $\mu$ l	
Solución de maleimida	1 $\mu$ l	
Las muestras tienen que mezclarse bien (por vórtex) y centrifugarse. Todas las muestras y la escala se calientan 5 minutos a 70 °C		
Agua MiliQ	72 $\mu$ l	78 $\mu$ l
Mezclar bien en vórtex y centrifugar Cargar 6 $\mu$ l de toda muestra y escala		

- 10 Nota 2: todos los pocillos tienen que ser cargados. Si el número de muestra es inferior que los pocillos disponibles, los pocillos vacíos se pueden usar para duplicados adicionales o muestras en blanco.

Preparación del Sistema y del Chip:

- Para limpiar el sistema antes y también después de un análisis rellenar el "Limpiador de Electrodo" con 600 ml de agua MilliQ y colocarlo en el Bioanalizador Agilent 2100, cerrar la tapa y dejar que el sistema se pare. No se requiere más acción.
- 15 - Ajustar la placa base de la estación de cebado del chip a la posición "A" y la pinza de la jeringa a su posición media.

Preparación del chip

Preparación del sistema
Insertar un nuevo Chip de proteína en la estación de cebado
Pipetear 12 $\mu$ l de Mezcla Gel-Tinte en el pocillo marcado G (arriba a la derecha)
Fijar el émbolo a 1 ml y cerrar la estación de cebado de chip
Presionar el émbolo hasta que sea agarrado por la pinza
Esperar 60 segundos y a continuación liberar la pinza
Esperar 5 segundos y lentamente descorrer el émbolo hasta la marca de 1 ml
Abrir la estación de cebado de chip
Retirar la solución en este pocillo
Pipetear 12 $\mu$ l de mezcla Gel-Tinte en el pocillo marcado G (arriba a la derecha) y en todos los pocillos restantes marcados con G
Pipetear 12 $\mu$ l de solución de decoloración en el pocillo marcado con DS

Carga de la Escala y la Muestra:

- Transferir 6 µl de cada muestra en un pocillo de muestra y también 6 µl de la escala en el pocillo dedicado, el cual está claramente indicado con un símbolo de escala.

Colocar el chip en el bioanalizador Agilent 2100 y empezar el análisis dentro de 5 min.

5 Ejemplo de conjunto de muestra

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
Escala	Escala	6

Análisis y evaluación de los datos de los resultados:

Para obtener resultados se tienen que ejecutar 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.
  - Hacer click en COMENZAR (“START”) para empezar el análisis, el cual se completa en 30 minutos.
  - Los datos brutos se muestran haciendo click en “Análisis de Datos” (“Data Analysis”) donde todos los experimentos, llevados a cabo en el día, se enumeran. Hacer click en el experimento de interés y seleccionarlo.
  - El gel generado a partir del experimento seleccionado se abre automáticamente.
- 15
- Los datos se pueden mostrar como un electroferograma o imagen como gel.

La información detallada con respecto a la integración de los picos en el electroferograma (para obtener los datos de pureza) se incluye en el manual del programa informático. La pureza de una muestra es automáticamente dada por el sistema por integración automática, pero si se necesita, se puede aplicar la integración manual.

Resultados:

- 20
- En condición no reductora los resultados se indican como % de Pureza, y % LMW (del inglés “Low Molecular Weight”, “Bajo Peso Molecular”) (suma de picos antes monómero).

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

Los valores de peso molecular indicativos se informan en la tabla de a continuación:

25

## Peso molecular indicativo de Adalimumab

Condición	Resultados	kDa
No reductora	Monómero	151
Reductora	LC	27
	HC	58

## 2. Temperatura de despliegue – DSF

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

- 5 Se añadieron 2 microlitros de Naranja Sypro (tinte de gel de proteína Naranja, cod. S6650, Life Technologies) previamente diluido 500 veces en agua para inyección a 20 microlitros de solución de medicamento. Tras la adición del Naranja Sypro, las soluciones de DP (preparación triplicada) se llenaron en placas de 96 pocillos (Placa de Reacción de MicroAmp Fast 96-W 0,1 ml, cod. 4346907). A continuación, se sellaron las placas con una cubierta protectora transparente (MicroAmp Optical Adhesive Film, cod. 4311971) y, a continuación, se sometieron a
- 10 centrifugación para eliminar las burbujas de aire. A continuación, las placas se insertan en el sistema de PCR 7500 Fast Real-Time AB Applied Biosystem y se hace un barrido de los perfiles de emisión a temperaturas desde la temperatura ambiente a 90 a 100 °C. La dependencia de la intensidad de la emisión de fluorescencia sobre la temperatura es una curva que generalmente muestra un punto de inversión/discontinuidad en la temperatura de desnaturalización, parámetro usado para comparar las diferentes composiciones.

## 15 3. Perfil de isoformas – iCE280

- cIEF por iCE280 (perfil de isoformas): después de la purificación y eliminación de las sales con centrifugación en dispositivos de centrifugación Amicon Ultra-4 (corte a 10 kDa), las muestras se diluyeron previamente a la concentración de 5,0 mg/ml con agua purificada. A continuación, se hizo una segunda dilución a 1,0 mg/ml con una solución compuesta de: metilcelulosa, Pharmalyte 5-8 (GE Healthcare), Pharmalyte 8-10,5 (GE Healthcare), bajo
- 20 marcador pI de 7,05 (Proteína Simple), alto marcador pI 9,50 (Proteína Simple) y agua purificada. Tras la dilución las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 3 minutos. Una etapa de centrifugación adicional (2 minutos a 7.000 rpm), a continuación, se conduce sobre 150 microlitros de cada muestra transferida en insertos de vidrio. El cIEF (enfoque isoeléctrico por capilaridad) se llevó a cabo con el sistema iCE280 por Proteína Simple, usando cartuchos de capilaridad Fc con revestimiento DI de 100 micras y longitud total de 50 mm (n° Cat 101700/101701 por Proteína Simple). La separación de las diversas isoformas se hace usando hidróxido de sodio 100 mM (en metilcelulosa al 0,1 %)
- 25 como solución catódica y ácido o-fosfórico 80 mM (en metilcelulosa al 0,1 %) como una solución anódica. El electroferograma se adquiere a 280 nm durante los tiempos de preenfoco y enfoque de 1 y 6 minutos respectivamente, a un voltaje de 1.500 V (preenfoco) y 3.000 V (enfoco).

## 4. Contenido de proteína – DO

- 30 Las mediciones de DO (contenido de proteína) se tomaron sobre muestras que inicialmente estaban diluidas gravimétricamente (se hicieron diluciones independientes por triplicado) con tampón relevante o placebo a partir de la concentración de partida a aproximadamente 10 mg/ml. Se ensayó la absorbancia en las soluciones diluidas a 280 y 230 nm en cubetas de cuarzo de 0,1 cm de longitud de trayectoria, a temperatura ambiente, con un espectrofotómetro de doble rayo (Lambda35 por Perkin Elmer). El valor de 1,35 se usó como coeficiente de extinción
- 35 molar de Adalimumab.

## 5. Determinación de los agregados - SE-HPLC

- Las muestras se diluyeron una vez con DPBS a una concentración de 0,5 ml y se inyectaron (20 microlitros de volumen de inyección) en una Columna de gel TSK Super SW3000 de 4,6 mm DI x 30,0 cm cod. 18675 de Tosoh que mantiene las condiciones isocráticas (fase móvil: fosfato de sodio 50 mM + perclorato de sodio 0,4 M, pH 6,3 ± 0,1). La detección por UV se hizo a 214 nm a un caudal de 0,35 ml. La duración de cada carrera analítica era de 15 minutos. Antes del análisis las muestras se mantuvieron a 2 a 8 °C en el automuestreador de los sistemas de HPLC Waters Alliance usados para este ensayo.
- 40

## 6. Turbidez – Nefelometría

- 45 La turbidez se valoró por las mediciones nefelométricas (efecto basado en el efecto de la difusión de la luz causada por partículas con dimensiones generalmente <1 micra) conducidas con un turbidímetro Turbidimeter 2100AN IS de Hach a temperatura ambiente. Las cantidades mínimas de 3 ml de la solución se coloraron en cubetas de vidrio de volumen reducido y se ensayaron para el efecto difuso después de la calibración del instrumento con una serie de soluciones patrones (0,1 – 7500 UNT).

7. Determinación de Osmolalidad – Osmolalidad

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

8. Determinación de pH – pH

El pH se determinó usando mediciones potenciométricas conducidas a temperatura ambiente con medidores de pH Seven Multi de Mettler Toledo.

9. Recuento de partícula – partículas subvisibles

Las muestras se diluyeron 5 veces con agua purificada a un volumen final de 25 ml. El número de partículas se determina a temperatura ambiente por PAMAS SVSS de Aminstruments recogiendo cuatro carreras independientes y haciendo el promedio de los resultados para cada respectiva fracción dimensional de interés.

Ejemplo 1 – Formulaciones para la primera selección de formulación

El siguiente primer conjunto de formulaciones (con frecuencia referidas en la presente memoria como formulaciones de DoE1) se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1: Lista de formulaciones de DoE1 para los posteriores Experimentos de Selección 1

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador
1	25	Acetato	4,6	Hidrocloruro de lisina (100 mM)
2	100	Acetato	4,6	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
3	50	Acetato	4,8	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
4	25	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)
5	75	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)
6	50	Acetato	5,0	Hidrocloruro de lisina (100 mM)
7	100	Acetato	5,0	Trehalosa dihidrato (200 mM)
8	25	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)
9	75	Acetato	5,2	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
10	75	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)

Las formulaciones de la Tabla 1 se produjeron partiendo de un material de DS libre de tensioactivo, preformulado.

Una alícuota de la DS se sometió a diafiltración con tampón de acetato de sodio/ácido acético 10 mM a pH 5,0 hasta que se alcanzó un intercambio de volumen de tres veces con el tampón. A continuación, los excipientes requeridos se añadieron a los materiales de DS intercambiados con tampón y el pH se ajustó al objetivo por adición de una solución diluida de hidróxido de sodio. Cada formulación se filtró a través de filtros PES de 0,22 µm.

En la Tabla 2, se informan de los resultados en términos de recuperación de material y osmolalidad para los tres materiales de DS intercambiados con tampón.

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

Tampón	Volumen DS de partida (ml)	Concentración DS de partida (mg/ml)	Proteína tratada (mg)	Después del intercambio			Recuperación[%]	Osmolalidad (mOsm/kg)
				Volumen final (ml)	Concentración final (mg/ml)	Proteína recuperada (mg)		
Acetato	200	63,3	12.660	180	65,2	11.736	93	30

5 Hubo buena recuperación para el tampón de acetato de sodio (>90 %). Los valores de osmolalidad indican que se alcanzó el grado satisfactorio de intercambio de tampón, con un residuo mínimo de especies que vienen de la DS originaria.

Ejemplo 2 – Formulaciones para la segunda selección de formulación

El siguiente segundo conjunto de formulaciones (con frecuencia referidas en la presente memoria como formulaciones DoE2) se muestra a continuación en la Tabla 3 (derivada de la Tabla 4 de a continuación).

10 Tabla 1: Lista de formulaciones de DoE2 para los posteriores experimentos de selección 2 (formulaciones derivadas de las presentadas en la Tabla 4 con el tensioactivo extra indicado)

Formulaciones	Concentración Polisorbato 80 (mg/ml)		
	0	0,5	1
Forma 1 (derivada de Forma A, Tabla 4)	x	-	-
Forma 2 (derivada de Forma A, Tabla 4)	-	x	-
Forma 3 (derivada de Forma A, Tabla 4)	-	-	x

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

Forma	Sal (NaCl) mM	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador
A	75	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)

15 Las formulaciones de DoE2 (Tabla 3) se produjeron partiendo de un material de DS libre de tensioactivo preformulado.

Como anteriormente, las alícuotas de la DS se han sometido a diafiltración hasta que se alcanzó un intercambio de volumen de tres veces. A continuación, los excipientes requeridos se añadieron a los materiales de DS intercambiados con tampón y el pH se ajustó al objetivo por la adición de una disolución diluida de hidróxido de sodio. Cada formulación se filtró a través de filtros PES de 0,22 µm.

20 En la Tabla 5, se informa de los resultados en términos de osmolalidad y turbidez para los materiales DS intercambiados por tampón.

Los valores de osmolalidad (≤40 mOsm/kg) indicaron que se alcanzó el grado satisfactorio de intercambio de tampón, con un residuo mínimo de especies que vienen de la DS originaria.

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

Tampón	Turbidez (UNT)	Osmolalidad (mOsm/kg)
Acetato	19	29

25 Ejemplo 3 – Formulaciones comparativas para tanto la primera como segunda selección.

Con el fin de comparación y control, se prepararon u obtuvieron tres formulaciones de referencia, que incluían Ref-1

(composición Humira® producida por el Solicitante); Ref-2 (RMP EEUU – medicamento comercial Humira® de los EEUU); y Ref-3 (RMP UE- medicamento comercial Humira® de la UE). Todas estas formulaciones de referencia tenían la composición mostrada en la Tabla 6.

Tabla 6: Composición del DP Humira

Ingrediente	Cantidad por recipiente (mg) (volumen de relleno = 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
API e hidróxido de sodio	q.b. para ajustar pH a 5,2	q.b. para ajustar pH a 5,2

5

#### Selección

Una primera selección (DoE1) de la formulación condujo a la identificación de diversos factores (por ejemplo, pH, presencia de NaCl, tipo de excipiente) responsables de la estabilidad de la proteína, y por último a la selección de formulaciones a ser seguidas en una segunda selección (DoE2), la cual procuraba afinar las formulaciones y evaluar cómo los tensioactivos, tales como Polisorbato 80, pueden afectar la estabilidad de la proteína.

10

Cada una de las dos selecciones implicó diversos ensayos analíticos, como se han definido anteriormente y referidos más adelante, sobre un intervalo de diferentes formulaciones que se expusieron a niveles variantes de estrés térmico, mecánico y lumínico durante periodos prolongados (por ejemplo, 1 mes). Estas selecciones de la formulación posibilitaban la reunión de una cantidad significativa de datos, lo cual proporcionó una nueva percepción sorprendente y valiosa que permite el desarrollo de nuevas ventajosas formulaciones.

15

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

Experimento de selección 1 – Análisis y selección de formulaciones del Ejemplo 1 frente a formulaciones comparativas del Ejemplo 3

La selección de DoE preliminar (Etapa 1) evaluó el efecto que la fuerza iónica (dada por NaCl), pH y diferentes estabilizadores ejerce sobre la proteína en el trascurso de estudios de estabilidad a corto plazo.

20

Se ha aplicado un diseño estadístico D-Óptimo de superficie de respuesta. Se consideraron tres factores:

- fuerza iónica (conducida por la concentración de NaCl, la cual se varió en el intervalo de 25 mM a 100 mM y se fijó como un factor numérico);
- pH (el intervalo 4,6 a 6,4 tamponado por acetato, se investigó;
- estabilizador/excipiente (factor categórico que comprende varios niveles: hidrocloreuro de lisina, Arginina + ácido aspártico, manitol, trehalosa dihidrato).

25

Estas formulaciones se produjeron, como se describe en el anterior Ejemplo 1, partiendo de DS sin Polisorbato 80 y, por lo tanto, eran libre de tensioactivo.

La Tabla 7 de más adelante resume las formulaciones ensayadas dentro de esta selección. Además de las 10 formulaciones propuestas, también se han analizado dos controles como comparadores:

30

- medicamento “DP” comercial Humira (Formulado de acuerdo con el anterior Ejemplo 3)
- la sustancia farmacéutica “DS” MS formulada como DP comercial Humira (Formulada de acuerdo con el anterior Ejemplo 3)

Tabla 7: Lista de formulaciones de DoE1 (Etapa 1) sometidas a selección a través de las condiciones de estrés térmico (estabilidad a 40 °C) y alta determinación de producción de temperatura de despliegue de proteína (DSF)

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador
1	25	Acetato	4,6	Hidrocloreuro de lisina (100 mM)
2	100	Acetato	4,6	Monohidrocloreuro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
3	50	Acetato	4,8	Monohidrocloreuro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
4	25	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)
5	75	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)
6	50	Acetato	5,0	Hidrocloreuro de lisina (100 mM)
7	100	Acetato	5,0	Trehalosa dihidrato (200 mM)
8	25	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)
9	75	Acetato	5,2	Monohidrocloreuro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
10	75	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)
Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador
Ref-1 (MS)	Composición Humira (formulación producida con Sustancia Farmacéutica MS) – Ejemplo 3			
Ref-2 (RMP EEUU)	DP comercial Humira (EEUU) – Ejemplo 3			
Ref-3 (RMP UE)	DP comercial Humira (UE) -Ejemplo 3			

- 5 Las formulaciones se ensayaron según el plan informado en la Tabla 8. Se consideró el estrés térmico hasta 1 mes a 40 °C. Se realizó la valoración de alta producción hecha con la técnica DSF (dirigida a una selección rápida basada en la determinación de la temperatura de despliegue de proteína) a T0.

Tabla 8: Panel de ensayos analíticos llevados a cabo sobre las formulaciones de DoE preliminar (Etapa 1): condiciones de estrés térmico de 1 mes a 40 °C.

Acelerado (40 °C)		Tiempo estabilidad (semanas)		
Métodos	Ensayo	0	2 s	4 s
DO	Contenido	x	-	x
SE-HPLC	Agregados	x	x	x
Bioanalizador	Pureza	x	x	x
pH	pH	x	x	x
Osmolalidad	Osmolalidad	x	-	-
DSF	T despliegue	x	-	-

1.1 Selección de osmolalidad

La osmolalidad de las formulaciones de DoE1 compuestas partiendo de los materiales de DS intercambiados por tampón (par. 5.1.1) está informada en la Tabla 9.

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

Tabla 9: Osmolalidad (mOsm/kg) anotada a tiempo 0 para las formulaciones de selección DoE1

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Tiempo 0
1	25	Acetato	4,6	Hidrocloruro de lisina (100 mM)	0,302
2	100	Acetato	4,6	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	0,407
3	50	Acetato	4,8	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	0,339
4	25	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)	0,322
5	75	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)	0,423
6	50	Acetato	5,0	Hidrocloruro de lisina (100 mM)	0,342
7	100	Acetato	5,0	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,506
Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Tiempo 0
8	25	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,341
9	75	Acetato	5,2	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	0,366
10	75	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,441
Referencia interna (composición Humira, Merck Serono DS)					0,374
RMP (EEUU) Humira					NA
RMP (UE) Humira					0,310

1.2 Contenido de proteína (DO)

El contenido de proteína de las formulaciones de DoE1 se determinó a tiempo 0 y después de 1 mes a 40 °C.

- 10 La Figura 1 es un gráfico de barras que muestra el contenido de proteína (mg/ml) de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 4 semanas (barras rojas) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

- 15 Los resultados presentados en la Fig. 1, indicaron que no se dan cambios significativos con el tiempo. Todas las concentraciones se encontraron en línea con el objetivo de 50 mg/ml.

1.3 Agregación (SE-HPLC)

- 20 La Figura 2 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras verdes) como 4 semanas (barras naranjas) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C. Los agregados totales observados por SE-HPLC durante la estabilidad a 40 °C se representan gráficamente en la Fig. 2. Los incrementos mínimos en la agregación se observaron en toda la formulación. Sin embargo, incluso después de 1 mes, todos los niveles de agregación tuvieron el valor de menor del 1 %.

1.4 Fragmentación (Bioanalizador)

La Figura 3 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bioanalizador, de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras azules oscuro, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rosas) como 4 semanas (barras azul claro) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

En la Figura 3, se informa de la variación de fragmentos con el tiempo determinada por Bioanalizador. Las formulaciones a pH más ácido (generalmente inferior que o igual a 5,0, como en las formulaciones 1 a 7) tienden a experimentar índices de fragmentación más rápidos. Además, la presencia de aminoácidos a este intervalo de pH puede considerablemente empeorar el perfil de estabilidad (Formulaciones 1-2-3). El efecto perjudicial de las especies de aminoácidos también se confirma a pH 5,2 a 5,4 (Formulación 9).

A pH > 5,0 y en presencia de azúcar/polioles, todas las fórmulas, incluyendo las referencias, son comparables (fragmentación inferior que 1 % después de 1 mes a 40 °C).

Los datos se analizaron por medio de ANOVA que confirmó la significancia estadística del factor de pH (valor p <0,001), indicando también que los valores de pH >5,0 se deberían dirigir a minimizar la fragmentación.

No se encontró que el cloruro de sodio sea un factor crítico para la estabilidad en el intervalo de 25 a 100 mM.

1.5 Selección de pH

La Tabla 10 muestra el pH de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (tiempo=0) y después de tanto 2 semanas como 4 semanas de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

Tal como se puede ver a partir de la Tabla 10, no se observaron desviaciones del pH objetivo.

Tabla 10: pH de las formulaciones de selección DoE1 determinado sobre la estabilidad a 40 °C

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Tiempo estabilidad		
					Tiempo 0	2 semanas 40 °C	4 semanas 40 °C
1	25	Acetato	4,6	Hidrocloruro de lisina (100 mM)	4,6	4,7	4,7
2	100	Acetato	4,6	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	4,7	4,6	4,7
3	50	Acetato	4,8	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	4,8	4,8	4,8
4	25	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)	4,8	4,8	4,8
5	75	Acetato	4,8	Manitol (200 mM)	4,8	4,8	4,8
6	50	Acetato	5,0	Hidrocloruro de lisina (100 mM)	5,0	5,0	5,0
7	100	Acetato	5,0	Trehalosa dihidrato (200 mM)	5,0	5,0	5,0
8	25	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	5,2	5,2	5,2
9	75	Acetato	5,2	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	5,1	5,2	5,2
10	75	Acetato	5,2	trehalosa dihidrato (200 mM)	5,2	5,2	5,2
Referencia interna (composición Humira, Merck Serono DS)					5,2	5,2	5,2
RMP (EEUU) Humira					5,3	5,3	5,3
RMP (UE) Humira					5,3	5,3	5,3

1.6 Temperatura de despliegue (DSF)

DSF es un método de alto rendimiento que se dirige a la determinación de la temperatura de despliegue de las proteínas debido al incremento de las interacciones con sondas fluorescentes como rampas de temperatura que se aplican a las temperaturas. Cuando la proteína empieza a desplegarse, se expondrán gradualmente áreas hidrófobas al disolvente que atraen las sondas fluorescentes que pasarán del estado libre en solución (no fluorescente) al estado unido (por interacciones hidrófobas) con la proteína, aumentando así el grado de señal de fluorescencia.

A partir de la evaluación de la señal de fluorescencia, era posible determinar el punto medio de las curvas sigmoideas, lo que indica el punto de transición de cada formulación. Se asume que, a mayor punto de transición, mayor resistencia de la fórmula al estrés térmico.

Se informa de los resultados de la valoración conducida sobre las formulaciones de selección DoE1 en la Fig. 4. La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la temperatura de despliegue (°C) determinada por DSF, de las formulaciones de DoE1 (del Ejemplo 1), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones de Humira® comparadoras).

La temperatura de despliegue de las tres formulaciones de referencia es de 71 a 72 °C. Se encontró que pocas formulaciones, aparte de las referencias, tenían temperaturas de despliegue mayores de 70 °C, solo aquellas que incluían:

- Formulaciones 8 y 10 (formulaciones en tampón de acetato de sodio pH 5,2 + trehalosa dihidrato a concentraciones de cloruro de sodio variante).

Por lo tanto, este ensayo confirmó los resultados previamente obtenidos para la fragmentación por Bioanalizador: polioles/azúcares pueden afectar de manera positiva a la estabilidad térmica de la proteína, especialmente a pH >5,0, mientras que el cloruro de sodio no parece afectar de manera significativa su comportamiento.

El modelo ANOVA para la superficie de respuesta identificó el pH (valor p <0,01) y el excipiente (0,01<valor p<0,05) como los factores significativos que afectan a la estabilidad de la proteína.

1.7 Cambio del perfil de isoformas frente a RMP

El perfil de isoformas de la fórmula 10 de la selección DoE se ha ensayado después de 10 a 11 semanas a 40 °C y en comparación con las muestras de referencia.

En la Tabla 11 se informa de los datos, en términos de pico principal y variaciones del grupo ácido.

Se obtienen variaciones comparables para las cinco muestras ensayadas.

Tabla 11: perfil de isoformas por iCE280 de las formulaciones más prometedoras de la selección DoE 1 y referencias

Principal

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

Grupo ácido

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

Conclusión del experimento de selección 1

Los resultados obtenidos a partir del Bionalizador y el ensayo DSF se evaluaron de manera combinatoria por medio del modelo ANOVA para las superficies de respuesta para determinar las mejores composiciones que pueden posiblemente garantizar la mayor estabilidad térmica a la proteína.

- 5 La lista de las composiciones recomendadas se informa en la Tabla 12, la cual también compara los rendimientos de las formulaciones prototipos resultantes con el RMP Humira, en términos de temperatura de despliegue y cambio de fragmentación durante 1 mes a 40 °C.

La Formulación A corresponde a la formulación 10 de DoE1 y se informó de los datos reales.

- 10 Comparando estas fórmulas con el RMP se puede concluir que el comportamiento de estas formulaciones prototipos en respuesta al estrés térmico es comparable con lo observado para el RMP.

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

Forma	Sal (NaCl) mM	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador
A	75	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)

- 15 De algún modo inesperado, las formulaciones que contienen trehalosa dihidrato como único estabilizador funcionaron extremadamente bien, especialmente en términos de inhibición de fragmentación, inhibición del despliegue, y mantenimiento de pH. Tales formulaciones basadas en trehalosa también presentaron buen rendimiento en términos de agregación y precipitación. Esa trehalosa era un candidato tan fuerte como un estabilizador, especialmente sola, era extremadamente prometedora en vista de sus propiedades antioxidantes, lo cual impartía más estabilidad química a largo plazo (especialmente oxidación y/o fotooxidación vis a vis) a las formulaciones de adalimumab. Además, esa trehalosa que se puede usar sola y aún presenta excelente rendimiento, se consideró especialmente alentadora y preparó el camino a formulaciones menos complejas que emplean menos componentes – esto reduciría poco a poco el proceso y los costes asociados con la producción del medicamento de adalimumab relevante. Por lo tanto, estas formulaciones basadas en trehalosa se tomaron en una segunda ronda de experimentos de selección para afinar las formulaciones.

- 25 Experimento de Selección 2 – Análisis y selección de las formulaciones del Ejemplo 2 frente a las formulaciones comparativas del Ejemplo 3

Se identificó un prototipo de formulación de la selección previa (Tabla 12). Puesto que la etapa previa se condujo sin tensioactivo añadido, la segunda etapa se dirigió a someter a selección a una serie de niveles de tensioactivo Polisorbato 80 compuesto (intervalo: 0 a 1 mg/ml) para valorar si se requiere la adición de tensioactivo para favorecer la estabilidad de la proteína.

- 30 La Tabla 3 (Ejemplo 2) resume el diseño de esta segunda etapa del estudio y enumera las formulaciones (formulaciones de DoE2) ensayadas en este segundo ejercicio de selección.

Generalmente, los tensioactivos se han observado para contrastar la agregación inducida por estrés mecánico y, por lo tanto, los ensayos bajo condiciones extremas por agitación se han ejecutado para evaluar cómo el Polisorbato 80 afecta a la estabilidad de la proteína y responde a la agitación.

- 35 Tal como con la Etapa 1, las composiciones de referencia descritas en el Ejemplo 3 también se han evaluado para proporcionar un punto de referencia para el desarrollo de una nueva formulación.

La lista completa de los análisis conducidos sobre este bloque de formulaciones se informa en la Tabla 13. En esta segunda selección, se expusieron las respectivas formulaciones a tres tipos diferentes de estrés, térmico, mecánico y lumínico.

- 40 Tabla 13: Panel de ensayos de analíticos llevados a cabo sobre las formulaciones de DoE2 (Etapa 2): 1 mes de condiciones de estrés térmico a 40 °C (A), estrés por agitación a 200 rpm (B) y exposición a la luz según ICH Q1B (C).

## ES 2 600 488 T3

### A. Estrés térmico a 40 °C

Acelerado (40 °C)		Tiempo estabilidad (semanas)		
Métodos	Ensayo	0	2 s	4 s
DO	Contenido	x	-	x
iCE280	Isoformas	x	x	x
SE-HPLC	Agregados	x	x	x
Bioanalizador	Pureza	x	x	x
pH	pH	x	x	x
Osmolalidad	Osmolalidad	x	-	-
Nefelometría	Turbidez	x	x	x
DSF	T despliegue	x	-	-

### B. Condiciones de estrés por agitación

Estrés por agitación (200 rpm)		Tiempo estabilidad (horas)		
Métodos	Ensayo	0	24 h	48 h
DO	Contenido	x	-	-
SE-HPLC	Agregados	x	x	x
Bioanalizador	Pureza	x	x	x
pH	pH	x	x	x
Nefelometría	Turbidez	x	x	x

### 5 C. Exposición a luz 7 horas de exposición a 765 W/m<sup>2</sup> (ICH Q1B)

Exposición a luz		Muestra	
Métodos	Ensayo	Tiempo 0	Expuesto
DO	Contenido	x	-
iCE280	Isoformas	x	x
SE-HPLC	Agregados	x	x
Bioanalizador	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 relevantes a la temperatura estipulada durante la cantidad de tiempo estipulada (generalmente 2 semanas o 4 semanas/1 mes).

10 Los ensayos de estrés mecánico se realizaron simplemente agitando de manera mecánica una muestra de las formulaciones relevantes a temperatura ambiente a 200 rpm durante el periodo de tiempo estipulado (generalmente 24 horas a 48 horas).

Los ensayos de estrés lumínico se realizaron simplemente exponiendo una muestra de las formulaciones relevantes a luz a 765 W/m<sup>2</sup> (según las directrices de ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicinas en relación con el ensayo

de fotoestabilidad de las nuevas sustancias activas y productos farmacéuticos) durante 7 horas.

### 2.1 Osmolalidad

5 La osmolalidad de las formulaciones de selección DoE2 se informan en la Tabla 14. Los valores, comprendidos en el intervalo de 378 a 401 mOsm/kg probablemente se sobreestiman debido a la presencia de trehalosa dihidrato que puede conducir a algún incremento en la viscosidad que afecta al punto crioscópico de las soluciones y así a la osmolalidad. Esto se confirmó por mediciones en relación con otras formulaciones de ensayo, las cuales se diluyeron 3 veces con API antes del ensayo de osmolalidad para disminuir la viscosidad: la osmolalidad real de todas estas fórmulas es <350 mOsm/kg.

Tabla 14: Osmolalidad de formulaciones de selección DoE2 (ensayadas no diluidas)

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0
DoE2-1	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	390
DoE2-2	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	386
DoE2-3	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	388

10

### 2.2 Contenido de proteína (DO)

El contenido de proteína de todas las formulaciones de DoE2 a tiempo 0 estaban en línea con el objetivo de concentración de proteína de 50 mg/ml (Tabla 15).

Tabla 15: Contenido de proteína (DO) de las formulaciones de selección DoE2 (ensayadas no diluidas)

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0
DoE2-1	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	50,6
DoE2-2	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	52,0
DoE2-3	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	51,3

15

### 2.3 Agregados con estrés térmico (SE-HPLC)

20 Las variaciones en los agregados totales por SE-HPLC se presentan en la Figura 5 que es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras rojas, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras verdes) como 4 semanas (barras púrpuras) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

Se observaron cambios mínimos para todas las formulaciones, estando la cantidad total de agregados después de 1 mes a 40 °C por debajo del 1 %.

25 Los rendimientos de las formulaciones de selección DoE2 son comparables/ligeramente mejores que aquellos de los materiales de RMP.

### 2.4 Fragmentación con estrés térmico (Bioanalizador)

30 Las variaciones en los fragmentos por Bioanalizador se presentan en la Figura 6. La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bioanalizador, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

En acetato de sodio la presencia de Polisorbato 80 a 1 mg/ml parece mejorar ligeramente la estabilidad (cfr. DoE2 – 3 frente a DoE2 – 1 y DoE2 – 2) proporcionando rendimientos comparables a los observados en el RMP.

2.5 Perfil de isoformas con estrés térmico (iCE280)

El pico principal y los cambios del grupo ácido de las tres formulaciones durante 1 mes a 40 °C se informan en las Fig. 7 y 8 respectivamente.

5 La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

10 La Figura 8 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas de pico(s) del grupo ácido, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

Estos resultados confirman las evidencias experimentales ya puestas de relieve por iCE280 sobre las formulaciones prototipo (resultantes de la primera selección).

Los resultados, en términos de grupo ácido, están en línea con las observaciones hechas para el pico principal.

15 2.6 Selección de pH con estrés térmico

La variación en pH de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) durante un periodo de tiempo durante el cual las formulaciones se calientan a 40 °C se muestra en la Tabla 16.

El pH era completamente estable durante el periodo de ensayo.

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

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	2 semanas (40 °C)	4 semanas (40 °C)
DoE2-1	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	5,2	5,2	5,2
DoE2-2	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	5,2	5,3	5,3
Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	2 semanas (40 °C)	4 semanas (40 °C)
DoE2-3	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	5,2	5,3	5,3

20

2.7 Turbidez con estrés térmico (nefelometría)

La Figura 9 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 2 semanas (barras rojas) como 4 semanas (barras verdes) de calentarse la(s) formulación(formulaciones) a 40 °C.

25 La turbidez de las tres formulaciones está, tiempo 0, en el intervalo de soluciones generalmente opalescentes (6 a 18 UNT). Con respecto a los materiales de DS originarios, de turbidez normal de 19 a 52 UNT, las soluciones de DP después de la filtración aséptica se aclaran bastante.

De manera importante, los valores de turbidez del RMP Humira generalmente están alrededor de 10 UNT, en línea con otras fórmulas.

30 2.8 Agregados con estrés mecánico (SE-HPLC)

La Figura 10 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las

formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 24 horas (barras rojas) como 48 horas (barras verdes) de agitarse mecánicamente (agitación) la(s) formulación(formulaciones).

Las variaciones en los agregados totales por SE-HPLC están presentadas en la Fig. 10.

- 5 Extraordinariamente, no se observó cambio (DoE2-1 y DoE2-3) o un cambio máximo de +0,1 % (DoE2-2).

2.9 Fragmentación con estrés mecánico (Bioanalizador)

10 La Figura 11 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bioanalizador, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 24 horas (barras rojas) como 48 horas (barras verdes) de agitarse mecánicamente (agitación) la(s) formulación(formulaciones).

Las variaciones en los fragmentos por Bioanalizador están presentadas en la Fig. 11. Se observan cambios mínimos, siendo todos los valores registrados iguales a o menores que 0,5 %.

15 Después de 48 horas de agitación a temperatura ambiente todas las muestras presentaron fragmentación en el intervalo de 0,2 a 0,4 %. No se puso de relieve tendencia hacia incrementos de fragmentación tras la agitación mecánica.

2.10 Selección de pH con estrés mecánico

La variación en pH de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) durante un periodo de tiempo durante el cual las formulaciones se agitan mecánicamente (agitación) se muestra en la Tabla 17. No se observaron cambios.

Tabla 17: selección DoE2: pH (agitación mecánica)

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	24 horas	48 horas
DoE2-1	50	Acetato	5,2	trehalosa dihidrato (200 mM)	0	5,2	5,2	5,2
Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	24 horas	48 horas
DoE2-2	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	5,2	5,3	5,3
DoE2-3	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	5,2	5,3	5,3

20

2.11 Turbidez con estrés mecánico (Nefelometría)

25 La Figura 12 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de partida arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de tanto 24 horas (barras rojas) como 48 horas (barras verdes) de agitarse mecánicamente (agitación) la(s) formulación(formulaciones). No se observaron cambios.

2.12 Agregados con estrés lumínico (SE-HPLC)

30 La Figura 13 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

Las comparaciones también se hicieron con muestras de Humira (de EEUU y UE) tratadas en las mismas condiciones. En el RMP, los incrementos de agregación hasta 9 a 15 % tras la exposición a la luz (agregados a

tiempo 0 son menores que el 1 %). Todas las formulaciones de DoE2 presentan incrementos menores o comparables y, por lo tanto, resistencia mejor/similar a estrés térmico. Más en detalle:

- Formulaciones en tampón acetato: 4,3→6,8 % de agregados totales tras la exposición a la luz.

#### 2.13 Fragmentación con estrés lumínico (Bioanalizador)

5 La Figura 14 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, determinado por un Bioanalizador, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

10 Se pusieron de relieve incrementos mínimos (+0,3 % como mucho, después de la exposición). Todas las cantidades de fragmentación están bien por debajo del 1 % después de 7 horas de exposición (Fig. 14).

#### 2.14 Perfil de isoformas con estrés lumínico (iCE280)

15 La Figura 15 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

La Figura 16 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas de pico(s) del grupo ácido, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas).

20 En el RMP de Humira, la exposición a la luz determina efectos significativos: lo más relevantemente, se observan descensos en la abundancia del pico principal (alrededor del -9 %) e incremento concurrente en el grupo ácido (hasta el +15 %), relacionado con fenómenos de fotooxidación.

25 Las fórmulas de acetato considerablemente pueden mejorar la resistencia de la proteína a los fenómenos de degradación: los descensos en la abundancia del pico principal son alrededor del -3,5 % o inferior, los incrementos en el grupo ácido puntuaron un máximo del +4 %.

#### 2.15 Turbidez con estrés lumínico (Nefelometría)

La Figura 17 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m<sup>2</sup> (barras rojas). Esencialmente no se observaron cambios.

#### 30 2.16 Selección del pH con estrés lumínico

La variación en pH de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), durante un periodo de tiempo durante el cual las formulaciones se exponen durante 7 horas a luz a 765 W/m<sup>2</sup>, se muestra en la Tabla 18. No se observaron cambios.

Tabla 18: selección DoE2: pH (exposición a luz)

Nº Forma	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de tampón (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	Después de exposición
DoE2-1	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	5,2	5,2
DoE2-2	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	5,2	5,3
DoE2-3	50	Acetato	5,2	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	5,2	5,3

#### 35 2.17 Efecto del tensioactivo sobre los ciclos de congelación-descongelación

Se han determinado los perfiles de isoformas, los agregados y las partículas subvisibles de las tres formulaciones de DoE2 antes y después de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→temperatura ambiente) para valorar si el tensioactivo ejerce algún impacto.

La Figura 18 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→temperatura ambiente).

5 La Figura 19 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas de pico(s) del grupo ácido, determinado por análisis por iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→temperatura ambiente).

10 La Figura 20 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con patrones de referencia (que representan las formulaciones Humira® comparadoras) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→temperatura ambiente).

La Figura 21 es un gráfico de barras que muestra la concentración numérica (N<sup>o</sup>/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor que o igual a 10 micras, determinada por análisis de recuento de partícula subvisible, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→temperatura ambiente).

15 La Figura 22 es un gráfico de barras que muestra la concentración numérica (N<sup>o</sup>/mg) de partículas subvisibles con un tamaño de partícula menor que o igual a 25 micras, determinada por análisis de recuento de partícula subvisible, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes (barras azules, tiempo=0) y después m<sup>2</sup> (barras rojas) de cinco ciclos de congelación-descongelación (-80 °C→temperatura ambiente).

20 No se observaron cambios en las isoformas y en los agregados (Fig. 18 a 20) tras congelación-descongelación, mientras que se pusieron de relieve cambios mínimos, no críticos (Fig. 21 a 22) en partículas subvisibles, y se encontró que no estaban relacionados con la presencia del tensioactivo.

Conclusión del experimento selección 2

En base a los datos recogidos, relevantes a estrés térmico, mecánico y lumínico, se puede hacer la siguiente conclusión:

25 Formulaciones en tampón de acetato de sodio/ácido acético 10 mM a pH 5,2 (DoE2-1, DoE2-2, DoE2-3):

- Tras el estrés térmico, se pusieron de relieve rendimientos comparables o mejores (incrementos inferiores en agregación) que Humira. Impacto beneficioso que deriva de mayores concentraciones de Polisorbato 80.
- No cambio en los atributos de calidad tras la agitación mecánica.
- Rendimientos mejorados con respecto a Humira cuando se somete a irradiación continua (7 horas).

30 En base al trabajo de selección llevada a cabo sobre diferentes formulaciones que varían en cantidad de tampón/pH, estabilizador, agente de isotonicidad (NaCl) y nivel de tensioactivo (Polisorbato 80), se ha identificado la mejor composición, que muestra características comparables e incluso mejoradas con respecto a Humira tras diferentes condiciones de estresamiento (térmico, mecánico, lumínico):

Ingrediente	Cantidad (mg/ml)
Adalimumab	50
Ácido acético glacial 100 %	0,60*
Trehalosa dihidrato	75,67**
Polisorbato 80	1,00
Cloruro de sodio	2,92***
API e hidróxido de sodio	q.b. para ajustar pH a 5,2

35 \* correspondiente a tampón de acetato de sodio/ácido acético 10 mM; \*\*correspondiente a 200 mM; \*\*\* correspondiente a 50 mM

Tales formulaciones fácilmente se pueden incorporar dentro de las jeringas de vidrio prellenadas con agujas 29G 12,7 cm (1/2").

**Abreviaturas**

DoE (del inglés "Design of Experiment") = diseño de experimento

DP (del inglés "Drug Product") = Medicamento

DS (del inglés "Drug Substance") = Sustancia farmacéutica

5 DSF (del inglés "Differential Scanning Fluorimetry") = Fluorimetría de barrido diferencial

DO = Densidad óptica

PES = Polietersulfona

rpm = revoluciones por minuto

RT (del inglés "Room Temperature") = temperatura ambiente

10 SE-HPLC (del inglés "Size Exclusion High Performance Liquid Chromatography") = Cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño

SMI (del inglés "Summary manufacturing Instructions") = Resumen instrucciones de producción

SOP (del inglés "Standard Operating Procedure") = Procedimiento operativo estándar

WI (del inglés "Working Instruction") = Instrucción de funcionamiento

15

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición farmacéutica líquida que comprende:

- 45 a aproximadamente 55 mg/ml de adalimumab;
- sistema tampón de acetato de sodio/ácido acético 5 a 14 mM;

- 5
- trehalosa 190 a 210 mM;
  - cloruro de sodio 40 a 60 mM;
  - 0,9 mg/ml a 1,1 mg/ml de polisorbato 80; y
  - agua (para inyección);

en donde la composición:

- 10
- o tiene un pH entre 5,1 y 5,3;
  - o es libre de arginina o comprende arginina en una concentración de como mucho 0,001 mM;
  - o es libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una concentración (colectiva) de como mucho 0,001 mM;
- 15
- o es libre de tensioactivos a excepción de polisorbato 80 o comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo polisorbato 80) en una concentración (colectiva) de como mucho 0,0001 mM; y/o
  - o es libre de agentes tampón de fosfato (por ejemplo, dihidrógeno fosfato de sodio, hidrógeno fosfato de disodio) o comprende un sistema tampón de fosfato en una concentración de como mucho 0,001 mM.

2. La composición farmacéutica líquida según la reivindicación 1, en donde la composición comprende:

- 50 mg/ml de adalimumab;
- sistema tampón de acetato de sodio/ácido acético 10 mM;
- trehalosa 200 mM;
- cloruro de sodio 50 mM;
- 1,0 mg/ml de polisorbato 80; y
- agua (para inyección);

25 en donde la composición:

- o tiene un pH de 5,2;
  - o es libre de arginina;
  - o es libre de aminoácidos;
  - o es libre de tensioactivos a excepción de polisorbato 80; y
- 30
- o es libre de agentes/sistemas tampón de fosfato.

3. La composición farmacéutica líquida según la reivindicación 1, en donde la composición consiste en:

- 50 mg/ml de adalimumab;
- sistema tampón de acetato de sodio/ácido acético 10 mM;
- trehalosa 200 mM;
- cloruro de sodio 50 mM;
- 1 mg/ml de polisorbato 80; y
- agua (para inyección);

en donde la composición tiene un pH de 5,2.

4. La composición farmacéutica líquida según la reivindicación 1, en donde la composición es libre de aminoácidos.
5. La composición farmacéutica líquida según cualquier reivindicación precedente, en donde la osmolalidad de la composición está entre 220 y 400 mOsm/kg.
- 5 6. La composición farmacéutica líquida según cualquier reivindicación precedente, en donde la temperatura de despliegue de proteína de adalimumab en la composición farmacéutica líquida es mayor que o igual a 70 °C.
7. Un dispositivo de administración de fármaco que comprende una composición farmacéutica líquida según cualquier reivindicación precedente.
- 10 8. El dispositivo de administración de fármaco según la reivindicación 7, en donde el dispositivo de administración de fármaco es un vial, una ampolla, jeringa, un lápiz de inyección, o una bolsa intravenosa que comprende la composición farmacéutica líquida.
9. Una composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil.

15

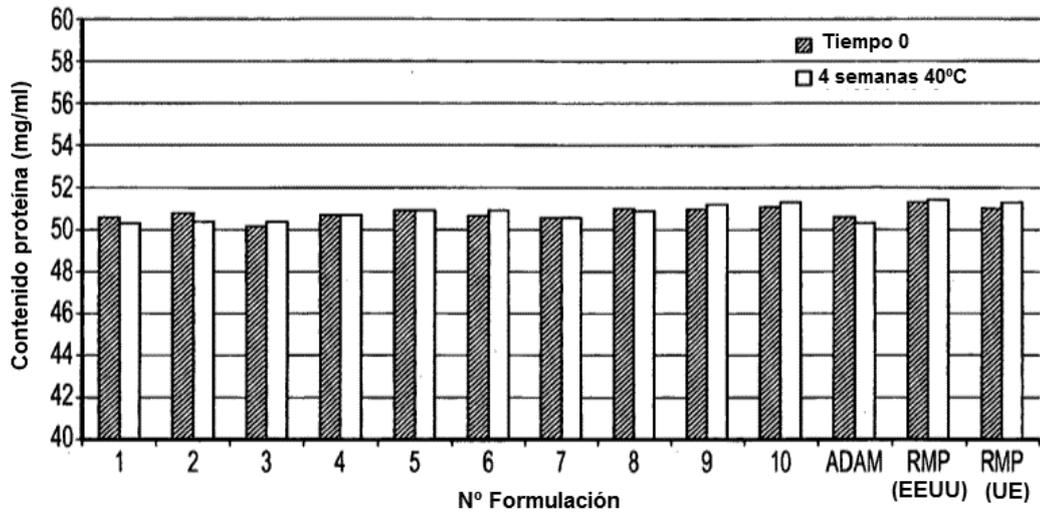


FIG. 1

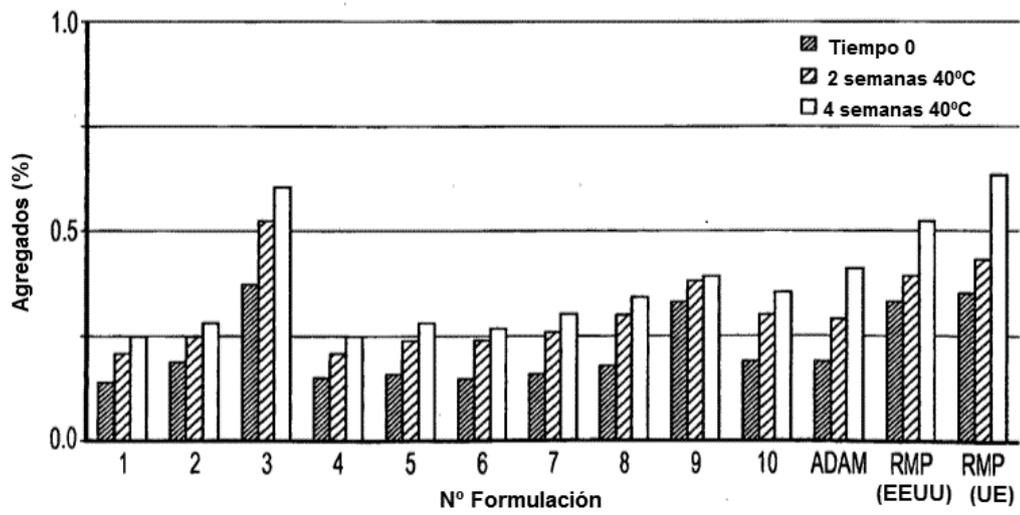


FIG. 2

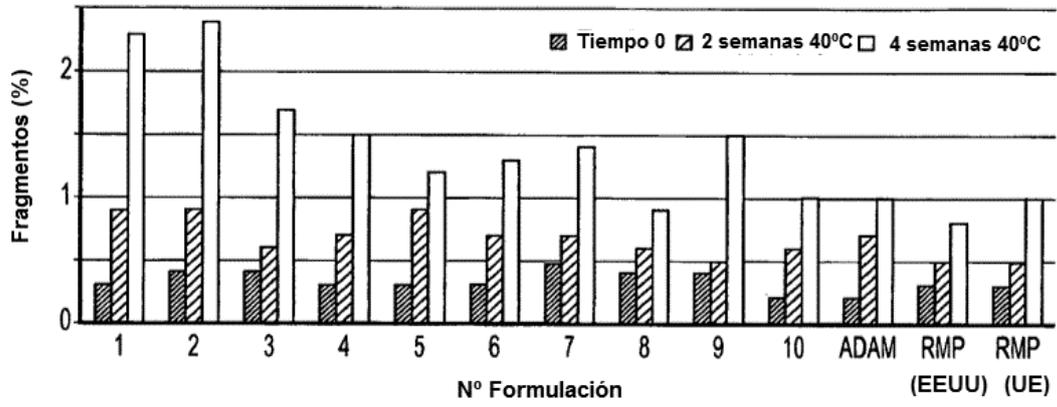


FIG. 3

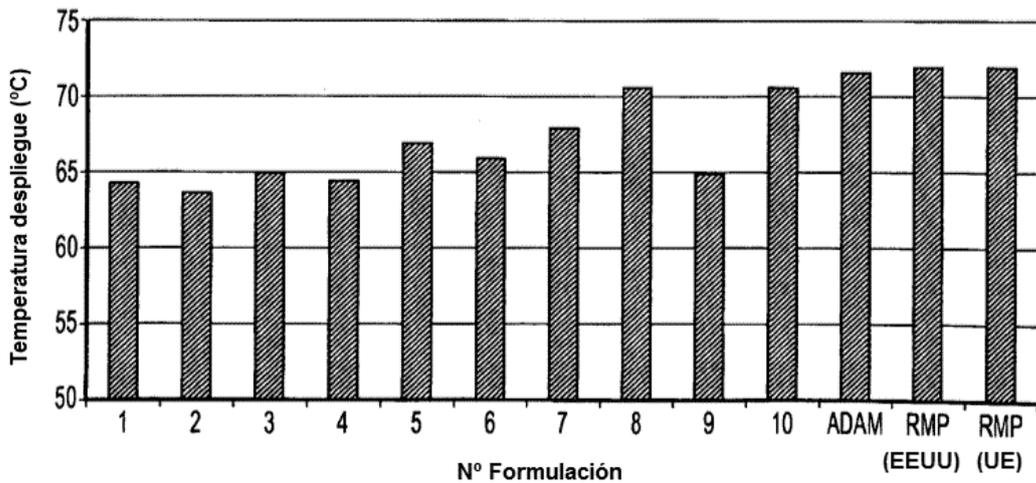


FIG. 4

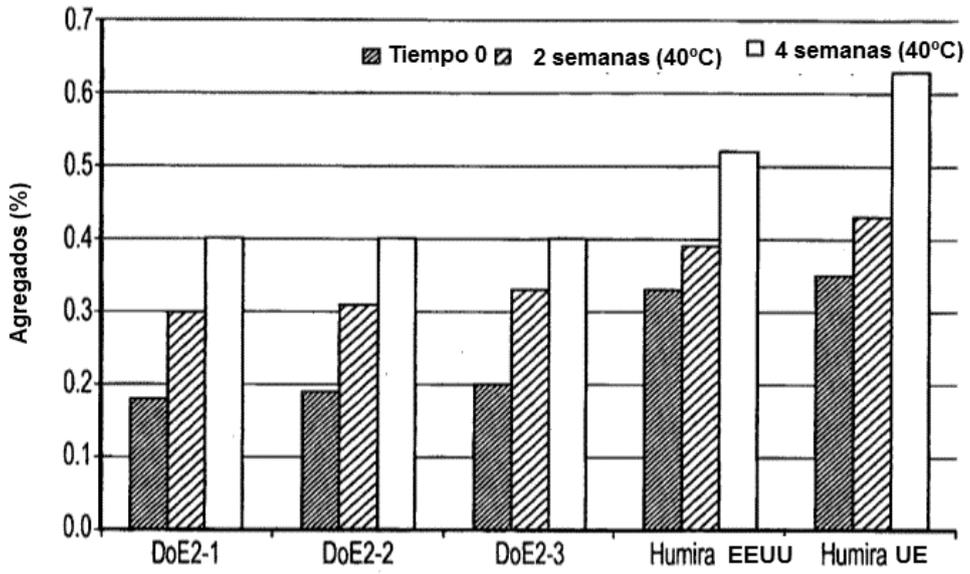


FIG. 5

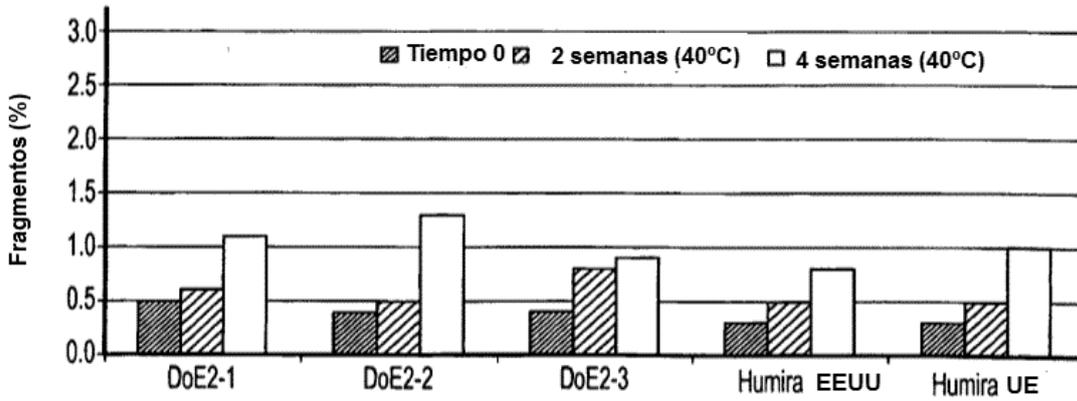


FIG. 6

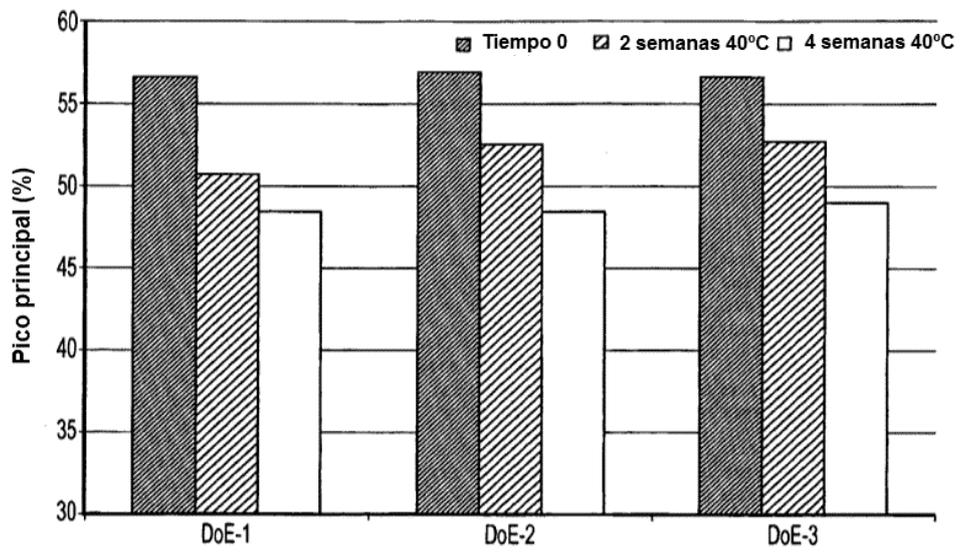


FIG. 7

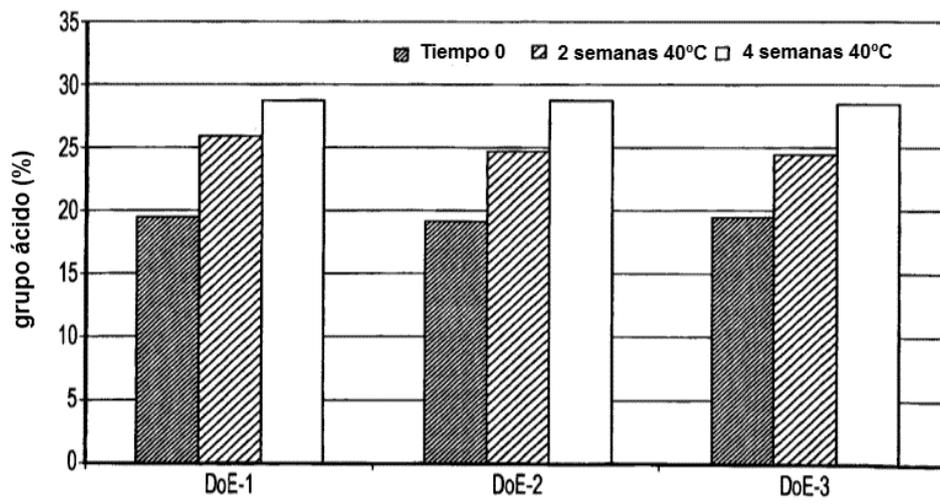


FIG. 8

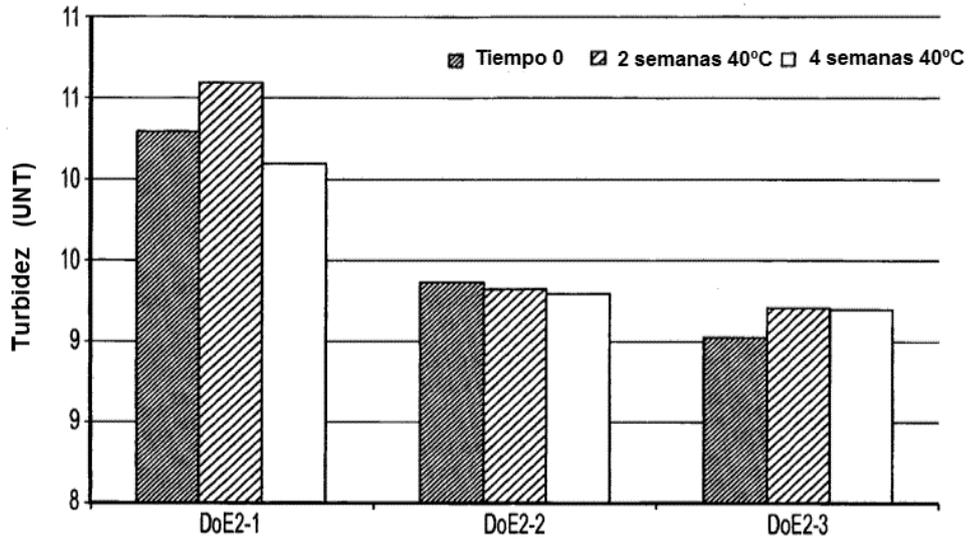


FIG. 9

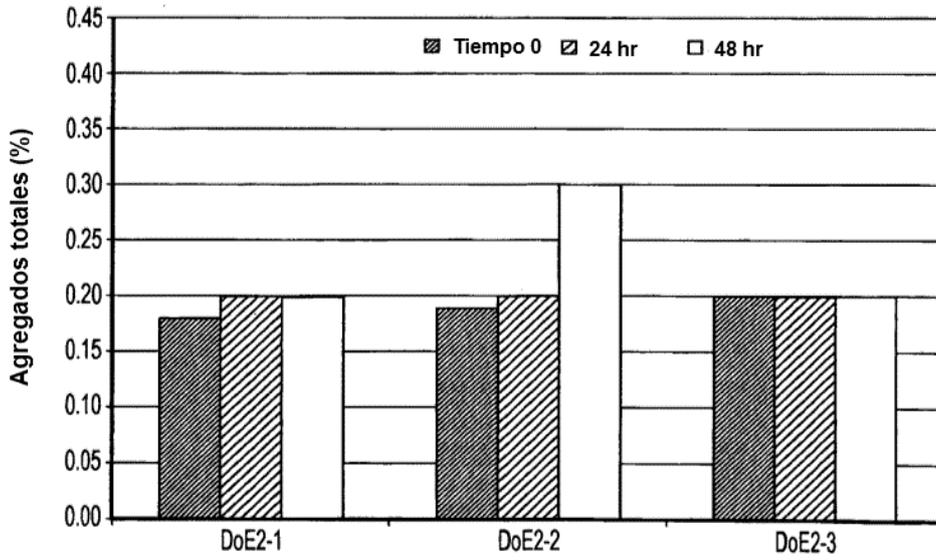


FIG. 10

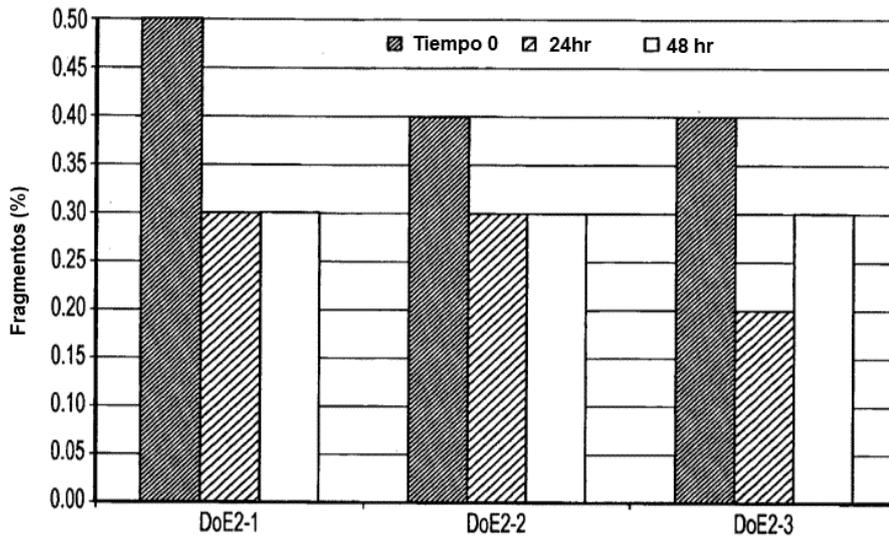


FIG. 11

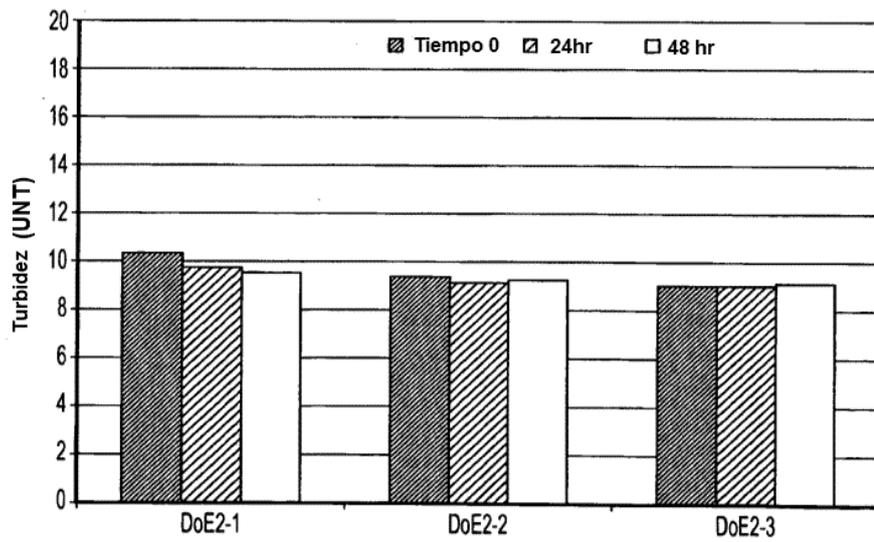


FIG. 12

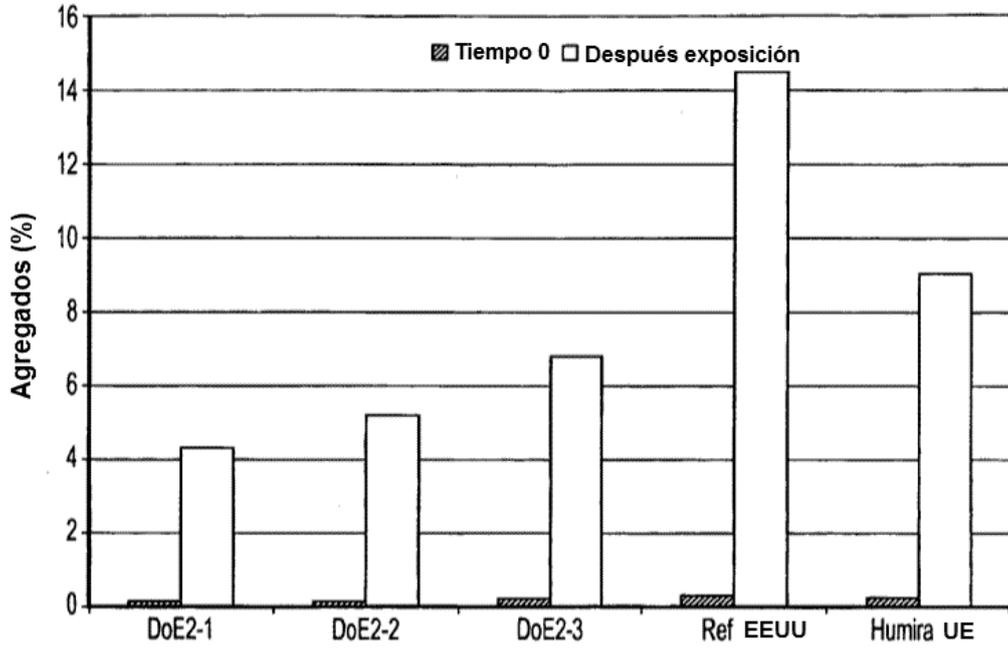


FIG. 13

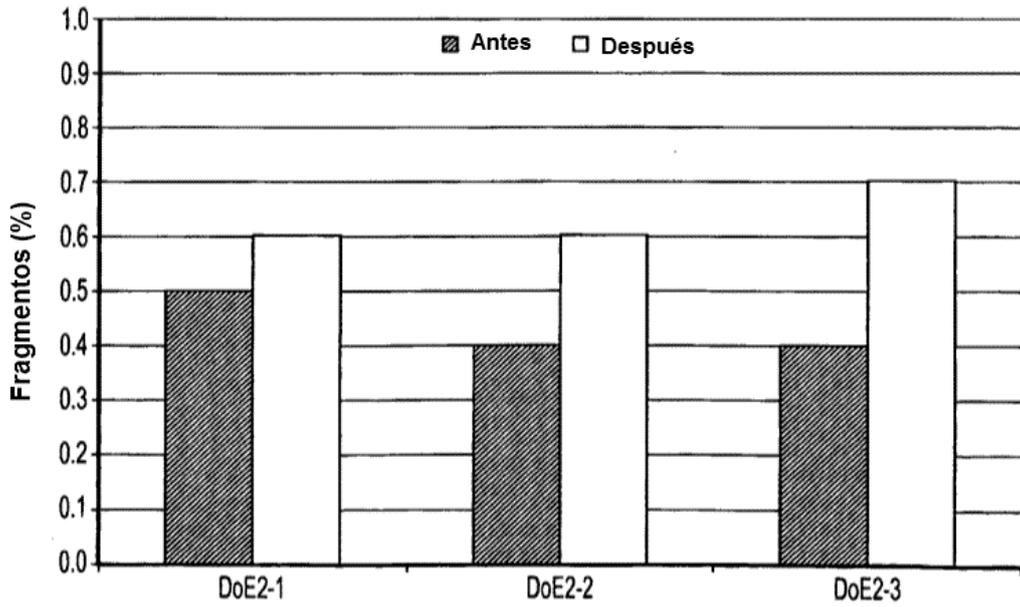


FIG. 14

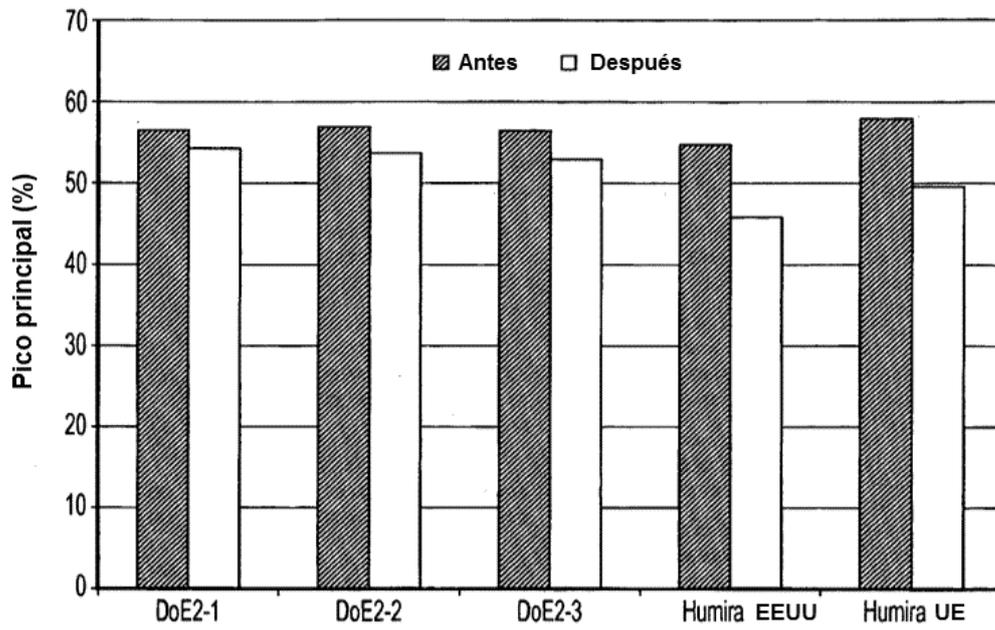


FIG. 15

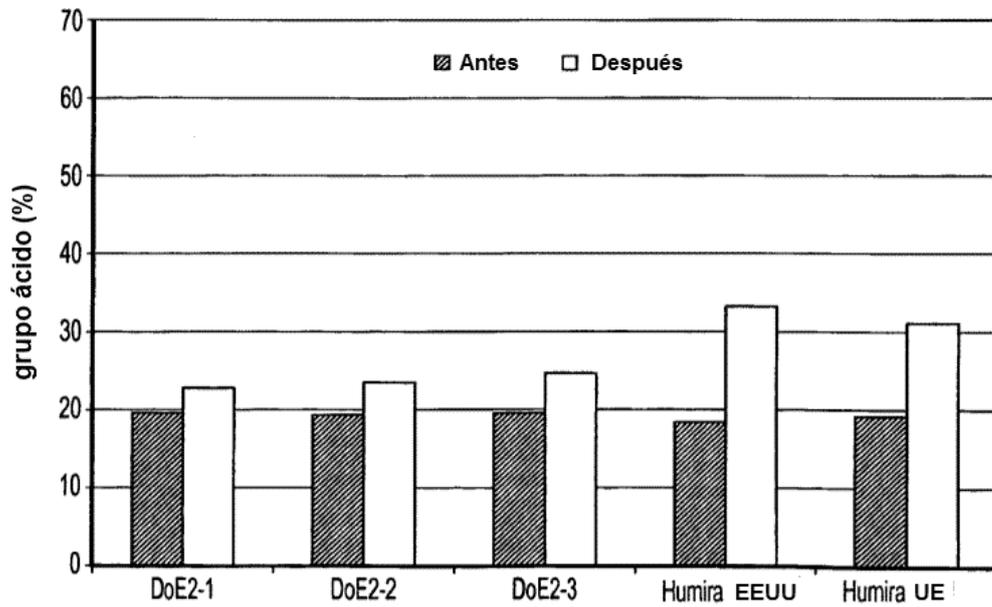


FIG. 16

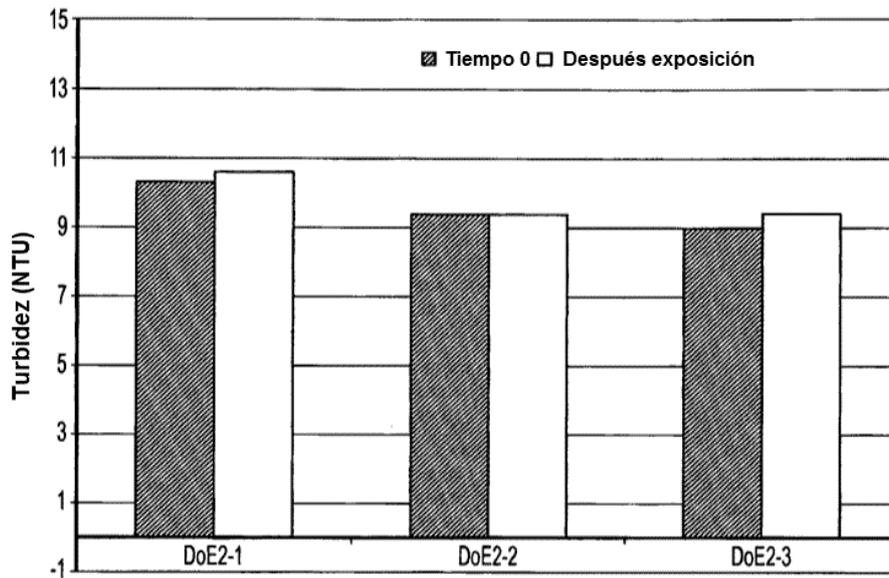


FIG. 17

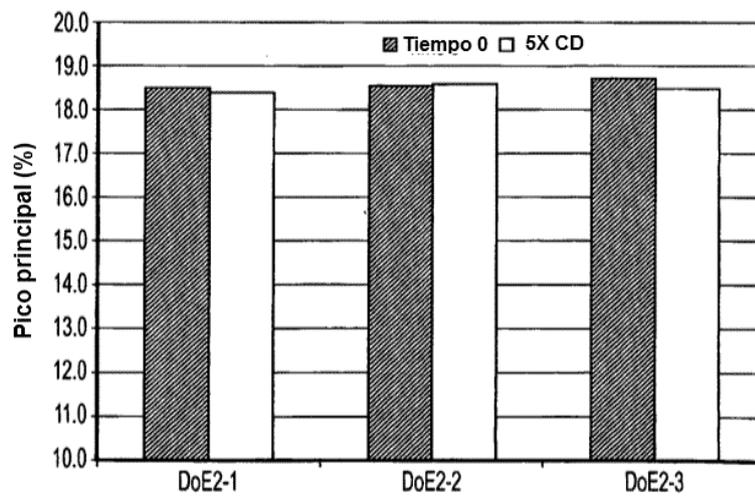


FIG. 18

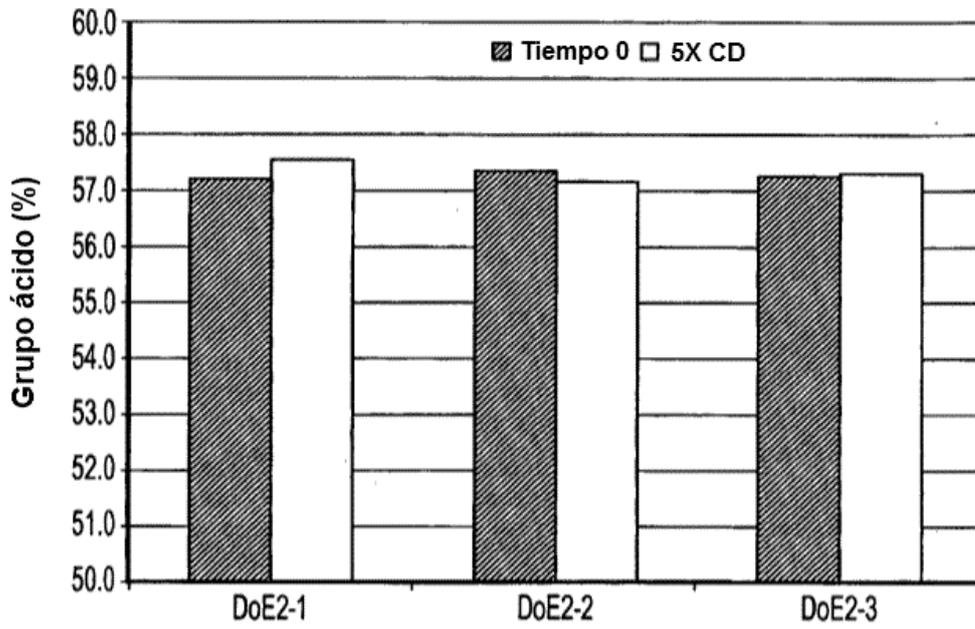


FIG. 19

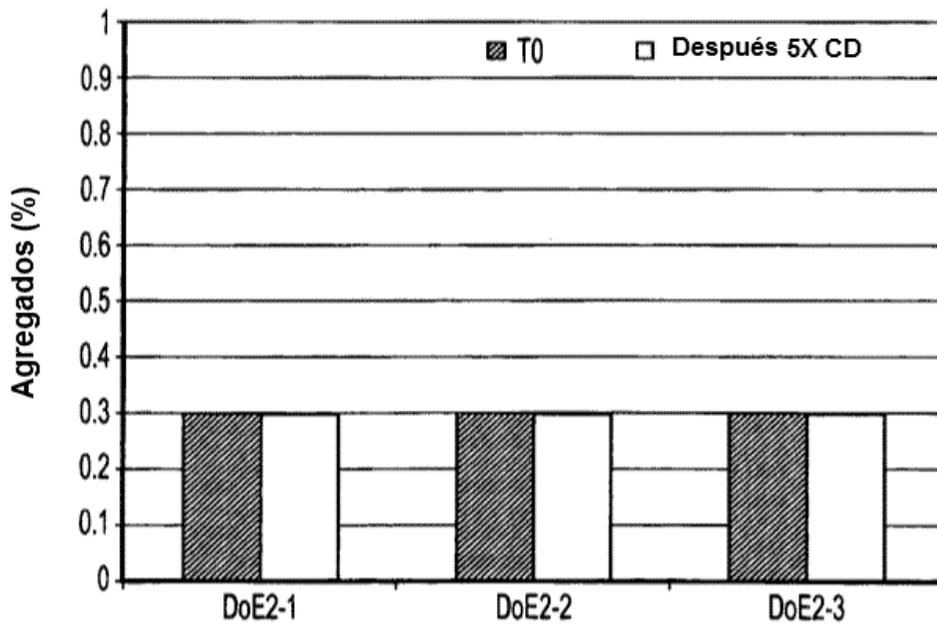


FIG. 20

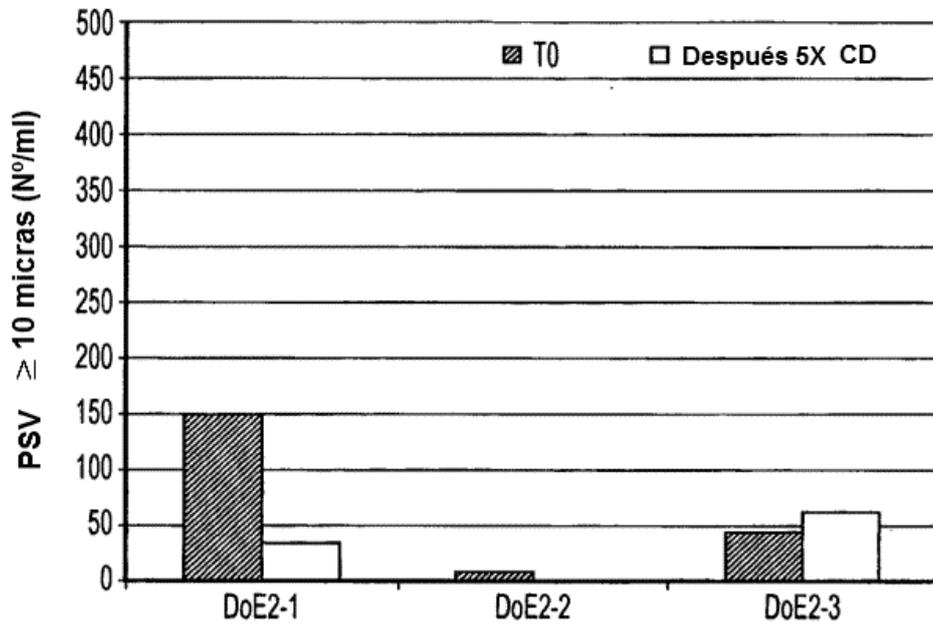


FIG. 21

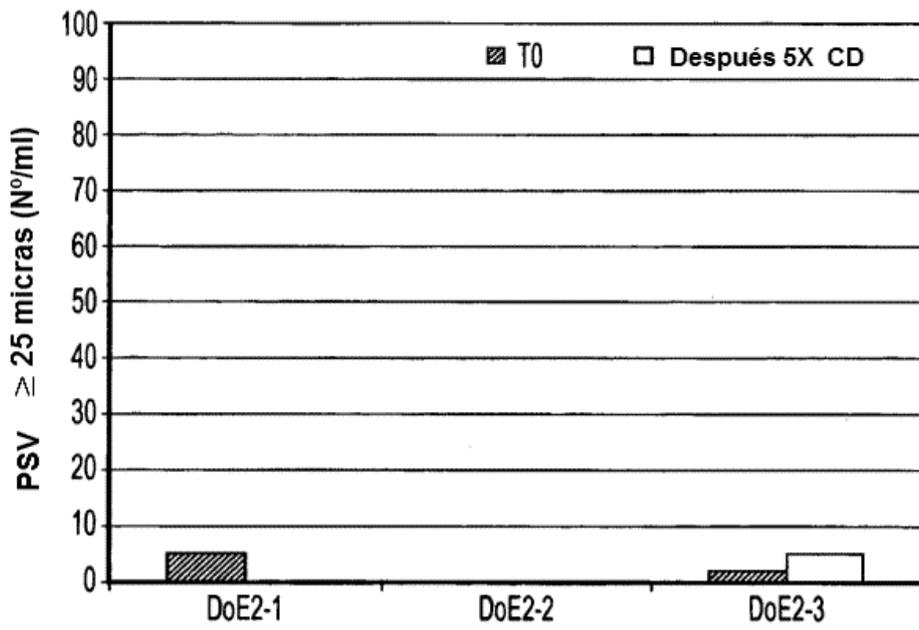


FIG. 22