

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 607 489**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2014** E 14169755 (7)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016** EP 2946767

54 Título: **Composición farmacéutica líquida**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.03.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 607 489 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica líquida

Introducción

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

Antecedentes

10 Se ha logrado el tratamiento de enfermedades autoinmunes relacionadas con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), tales como la artritis reumatoide, la psoriasis y otras enfermedades autoinmunes, a través del uso de fármacos aprobados por la FDA tales como Adalimumab (HUMIRA®, Corporación Abbot). Adalimumab es un anticuerpo monoclonal humano que inhibe la actividad del TNF- α humano para prevenir la activación de los receptores de TNF, regulando así por disminución las respuestas inflamatorias asociadas con las enfermedades autoinmunes. Las indicaciones médicas aprobadas para Adalimumab incluyen artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica moderada a grave y artritis idiopática juvenil.

20 El Adalimumab generalmente se suministra al paciente a través de inyección subcutánea, y se proporciona por tanto en una forma líquida, normalmente en envases tales como viales, jeringas precargadas o "dispositivos en bolígrafo" precargados. Los dispositivos en bolígrafos comercialmente disponibles (Bolígrafo HUMIRA®) incluyen generalmente una jeringa de vidrio con 1 mL pre-llenada, precargada con 0,8 mL de una formulación estéril de 40 mg de Adalimumab (véase abajo), con una aguja fijada (bien de caucho natural gris o bien una versión libre de látex) y un cubre aguja. Las formulaciones comerciales de Adalimumab (HUMIRA®) contienen los siguientes ingredientes:

| Ingrediente | Cantidad por envase (mg) (volumen de llenado=0,8 mL) | Cantidad (mg/mL) |
|--|--|-------------------------------|
| Adalimumab | 40 | 50 |
| Ácido cítrico monohidratado | 1,04 | 1,3 |
| Fosfato de sodio dibásico dihidratado | 1,22 | 1,53 |
| Manitol | 9,6 | 12 |
| Fosfato de sodio monobásico dihidratado | 0,69 | 0,86 |
| Polisorbato 80 | 0,8 | 1 |
| Cloruro sódico | 4,93 | 6,16 |
| Citrato sódico | 0,24 | 0,3 |
| Agua para inyectables (WFI) e hidróxido sódico | c.s. para ajustar el pH a 5,2 | c.s. para ajustar el pH a 5,2 |

25 Adalimumab, y su método de fabricación, se describen en WO97/29131 (BASF) como D2E7, y en otros lugares de la técnica.

Aunque la formulación de Adalimumab anteriormente mencionada es estable (al menos hasta cierto punto), el anticuerpo relevante puede ser inestable a la largo de períodos prolongados o bajo condiciones de estrés, impidiendo por tanto un almacenamiento prolongado de dichas formulaciones. Tal degradación de la formulación puede ser debida a una variedad de factores, incluyendo:

- 30
- **Efectos físicos**, tales como:
 - Inadecuada inhibición de la agregación de las moléculas proteicas relevantes (una función atendida supuestamente por el Tween-80);
 - Inadecuada inhibición de la precipitación;

- Inadecuada inhibición de la adsorción de las moléculas proteicas relevantes en la interfaz del agua y del aire o en la superficie de contacto de cualquier material de envasado (una función atendida supuestamente por el Tween-80);
 - Inadecuada regulación de la presión osmótica (una función atendida supuestamente por el manitol);
- 5
- **Efectos químicos**, tales como:
 - Inadecuada regulación de la oxidación (una función atendida supuestamente por el manitol y debilitada potencialmente por el Tween-80, que puede promover la oxidación de los dobles enlaces);
 - Inadecuada inhibición de la foto-oxidación;
- 10
- Inadecuada inhibición de la hidrólisis de los enlaces de éster conduciendo a la formación de los productos ácido, aldehído y peróxido, afectando por tanto a la estabilidad del anticuerpo;
 - Inadecuada estabilización y mantenimiento del pH;
 - Inadecuada inhibición de la fragmentación proteica;
 - Inadecuada inhibición del desdoblamiento proteico;
- 15
- Cualquier, alguno, o todos los factores anteriores pueden conducir bien a un producto farmacológico inviable (que puede ser inseguro para el uso en tratamientos médicos) o bien a un producto farmacológico cuya viabilidad es variable e impredecible, especialmente en vista del estrés variable (agitación, calor, luz) al que se pueden exponer los diferentes lotes durante la fabricación, transporte, y almacenamiento.
- 20
- En términos de la estabilización física y química del Adalimumab, la compleja variedad de componentes dentro de las formulaciones comerciales anteriormente mencionadas parece desempeñar un descenso de las expectativas, especialmente en vista del gran número de componentes. Aunque esta particular combinación de excipientes representa indudablemente un 'delicado equilibrio' (dada la acción conjunta entre varios factores técnicos) y era el resultado de una búsqueda y desarrollo extensivos, en vista del riesgo de un rendimiento insuficiente es cuestionable si está justificado tal elevado número de excipientes diferentes, dado especialmente a que estos aumentos en el procesamiento y en la carga de costes, riesgos de toxicidad, y riesgos de interacciones perjudiciales entre los componentes, podría comprometer la formulación. Incluso si no se pudieran superar el rendimiento global de las formulaciones comerciales, una formulación alternativa que tiene un rendimiento comparativo pero que contiene pocos componentes representaría un reemplazamiento altamente deseable para las formulaciones comerciales, para al menos las razones anteriormente dichas.
- 25
- 30
- Para garantizar un rendimiento clínico reproducible de un producto farmacéutico basado en una proteína, tales productos deben permanecer en una forma estable y consistente a lo largo del tiempo. Está bien establecido que pueden ocurrir alteraciones moleculares durante cada etapa del proceso de fabricación, incluyendo durante la producción de la formulación final y durante el almacenamiento. Las alteraciones moleculares pueden modificar una característica de calidad de un producto biofarmacéutico, dando como resultado un cambio indeseable en la identidad, resistencia o pureza del producto. Algunos de tales problemas se describieron anteriormente.
- 35
- El objetivo principal del desarrollo de la formulación es proporcionar una composición farmacéutica que soporte la estabilidad de una proteína biofarmacéutica durante todas las etapas de su producción, almacenamiento, transporte 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.
- 40
- Por lo tanto existe una necesidad de suministrar formulaciones líquidas alternativas o mejoradas de adalimumab. Deseablemente, algunas formulaciones nuevas solucionarían al menos los problemas anteriormente mencionados y/o al menos un problema inherente en la técnica anterior, y puede solucionar adecuadamente dos o más de dichos problemas. Deseablemente, este problema o problemas de la técnica anterior se pueden resolver mientras se reduce la complejidad de la formulación.
- 45
- WO 2013/164837 (Cadila Healthcare Limited) se refiere a determinadas formulaciones de proteínas, especialmente para el uso de determinados excipientes que son útiles para la estabilización de preparaciones de anticuerpos. Adicionalmente, estas formulaciones previenen de la formación de agregados o fragmentos o de la modificación de proteínas en disolución.
- 50
- WO 2009/073569 (Abbott Lab) se refiere a una formulación acuosa que comprende agua y una proteína, y los métodos de preparación de los mismos. La formulación acuosa puede ser una formulación con alto contenido proteico y/o puede tener bajos niveles de conductividad resultantes de los bajos niveles de excipientes iónicos. Este documento se refiere también a formulaciones que comprenden agua y proteínas que tienen baja osmolalidad.

US 2004/033228 (Hans-Juergen Krause) se refiere a una formulación farmacéutica acuosa líquida que tiene una alta concentración proteica, un pH de entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8, y una estabilidad mejorada.

US 2010/137213 (Wyeth) se refiere a formulaciones de moléculas de unión a antígeno de dominio único, por ejemplo, moléculas nanocuerpo, en particular formulaciones de moléculas nanocuerpo de unión a TNF.

5 Compendio de la invención

Según un primer aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica líquida como se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un dispositivo de liberación del fármaco (por ejemplo una jeringa o bolígrafo pre-llenado, o bolsa intravenosa) como se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

10 Según otro aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica líquida para el uso como se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

Cualquiera de las características, incluyendo características opcionales, adecuadas, y preferidas, se describen en relación con cualquier aspecto particular de la invención pueden ser también características, incluyendo características opcionales, adecuadas y preferidas, de cualquier otro aspecto de la presente invención.

15 Breve descripción de los dibujos

Para un mejor entendimiento de la invención, y para mostrar cómo se ponen en práctica algunas realizaciones de la misma, se hace ahora referencia, por medio de ejemplos, a los siguientes dibujos esquemáticos, en los que:

20 La Figura 1 es un gráfico de barras que muestra el contenido de proteína (mg/mL) como se determinó mediante OD, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y 4 semanas (barras rojas) después de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

25 La Figura 2 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras naranjas) de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

30 La Figura 3 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, como se determinó mediante un Bioanalizador, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), a un punto de comienzo arbitrario (barras azul oscuro, tiempo=0) y 2 semanas (barras rosas) y 4 semanas (barras azul claro) después de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la temperatura de desdoblamiento (°C), como se determinó mediante DSF, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®).

35 La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), a un punto de comienzo arbitrario (barras rojas, tiempo=0) y 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras moradas) después de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

40 La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, como se determinó mediante un Bioanalizador, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) después de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

45 La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra perfil de isoformas del pico principal, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) después de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

50 La Figura 8 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico o picos del grupo ácido, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) después de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

La Figura 9 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, como se determinó mediante Nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, t=0) y 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) después de haber calentado la formulación o formulaciones a 40°C.

5 La Figura 10 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) después de haber agitado mecánicamente (agitación) la formulación o formulaciones.

10 La Figura 11 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, como se determinó mediante un Bioanalizador, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un tiempo de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) después de haber agitado mecánicamente (agitación) la formulación o formulaciones.

15 La Figura 12 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, como se determinó mediante Nefelometría, de las formulaciones EoE2 (de Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) después de haber agitado (agitación) mecánicamente la formulación o formulaciones.

La Figura 13 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m² (barras rojas).

20 La Figura 14 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación como se determinó mediante un Bioanalizador, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de la exposición a la luz a 765 W/m² (barras rojas).

25 La Figura 15 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m² (barras rojas).

30 La Figura 16 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico o picos del grupo ácido, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (representando formulaciones comparadoras de HUMIRA®), antes de la exposición a la luz (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m² (barras rojas).

La Figura 17 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, como se determinó mediante Nefelometría, de las formulaciones 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/m² (barras rojas).

Descripción detallada de la invención

35 Definiciones

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

Referencias en la presente memoria a “adalimumab” incluyen la sustancia farmacológica de origen (disponible comercialmente), adalimumab como se define en WO97/29131 (BASF) (particularmente D2E7 en ella) y en otro lugar en la técnica, y también biosimilares de la misma. D2E7 de WO97/29131 “tiene una cadena ligera de dominio CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 y una cadena pesada de dominio CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4”. Preferiblemente, el anticuerpo D2E7 tiene una región variable de cadena ligera (del inglés, LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1 y una región variable de cadena pesada (del inglés, HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:2.

40 WO97/29131 proporciona detalles de cada una de estas secuencias listadas. Referencias en la presente memoria a “adalimumab” pueden incluir biosimilares que, por ejemplo, pueden compartir al menos 75%, adecuadamente al menos 80%, adecuadamente al menos 85%, adecuadamente al menos 90%, adecuadamente al menos al 95%, adecuadamente al menos al 96%, adecuadamente al menos al 97%, adecuadamente al menos 98% o más adecuadamente al menos 99% de la identidad de la secuencia proteica con cualquiera de las secuencias de proteína que se divulgan en alguna WO97/29131 (especialmente en relación con D2E7) o en otro lugar en relación a “adalimumab”.

45 Alternativa o adicionalmente, referencias en la presente memoria a “adalimumab” pueden incluir biosimilares que muestran 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 más adecuadamente al menos 99% de homología de la secuencia proteica con cualquiera de las secuencias de proteína que se divulgan en alguna WO97/29131 (especialmente en relación con D2E7) o en otro lugar en relación a “adalimumab”. Alternativa o adicionalmente, un biosimilar puede

55

tener un perfil de glicosilación (ligeramente) diferente, incluso si la secuencia proteica es sustancialmente la misma o diferente al punto especificado anteriormente.

El término “biosimilares” (también conocido como biológicos intercambiables) es bien conocido en la técnica, y el experto en la técnica apreciará fácilmente cuándo una sustancia farmacológica se considerará un biosimilar de adalimumab. Además, tales “biosimilares” necesitarán aprobarse oficialmente como un “biosimilar” para su comercialización antes de vender dicho “biosimilar” en el mercado libre. El término “biosimilar” se usa generalmente para describir versiones subsiguientes (generalmente de procedencia diferente) de “productos biofarmacéuticos innovadores” (“biológicos” cuya sustancia farmacológica es producida por un organismo vivo o se deriva de un organismo vivo o a través de metodologías de ADN recombinante o de expresión génica controlada) a los que se ha otorgado previamente una autorización oficial de comercialización. Ya que los biológicos tienen un alto grado de complejidad molecular, y son generalmente sensibles a cambios en los procesos de fabricación (por ejemplo si se usan diferentes líneas celulares en su producción), y ya que los fabricantes posteriores generalmente no tienen acceso al clon de la molécula de origen, banco celular, conocimientos sobre procesos de fermentación y purificación, ni a la sustancia farmacológica en sí (sólo al producto farmacológico comercializado de origen) es improbable que ningún “biosimilar” sea exactamente el mismo que el producto farmacológico innovador.

Para los fines de los distintos cálculos molares (por ejemplo para razones molares entre adalimumab y otro componente de la composición farmacéutica líquida de la invención) se puede tomar el peso molecular de adalimumab para que sea 144.190,3 g/mol (peso molecular de referencia) basado en detalles que se divulgan en la base de datos CAS para CAS#331731-18-1, donde la fórmula molecular de Adalimumab se toma como $C_{6428}H_{9912}N_{1694}O_{1987}S_{46}$. Como tal, una composición farmacéutica líquida que contiene 50mg/mL de adalimumab se puede considerar una disolución de adalimumab 0,347 mM (o 347 μ M). No se pretende de ninguna manera limitar el alcance de la presente invención respecto a la naturaleza ni a los niveles de glicosilación, de ninguno de los biosimilares que incluyen adalimumab, en cualquiera de los casos pueden lograr el peso molecular efectivo. Sin embargo, cuando un biosimilar tiene un peso molecular diferente, el peso molecular de referencia anteriormente mencionado se debe usar adecuadamente para los propósitos de valoración, tales caídas biosimilares dentro del alcance de cualquiera de las definiciones molares estipuladas dentro de esta memoria. Por lo que el número de moles en un peso conocido de dicho biosimilar se debe calcular, utilizando el peso molecular de referencia anterior, sólo para los objetivos de esta invención.

En la presente memoria, el término “tampón” o “solución tampón” se refiere a una disolución generalmente acuosa que comprende una mezcla de un ácido (normalmente un ácido débil, por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, forma imidazólica de histidina) y su base conjugada (por ejemplo una sal acetato o citrato por ejemplo, acetato sódico, citrato sódico, 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 “disolución tampón” cambiará sólo muy suavemente al añadir una pequeña cantidad de ácido o base fuerte debido al “efecto tampón” impartido por el “agente tampón”.

En la presente memoria, un “sistema tampón” comprende uno o más agentes tampón y/o un ácido/base conjugado o conjugados de los mismos, y más adecuadamente comprende uno o más agentes tampón y un ácido/base conjugados de los mismos, y el más adecuado comprende sólo un agente tampón y un ácido/base conjugado de los mismos. Salvo que se indique lo contrario, cualquiera de las concentraciones estipuladas en la presente memoria en relación a un “sistema tampón” (por ejemplo una concentración tampón) se refiere adecuadamente a la concentración combinada del agente o agentes tampón y/o ácido/base conjugado o conjugados de los mismos. En otras palabras, concentraciones estipuladas en la presente memoria en relación a un “sistema tampón” se refiere adecuadamente a la concentración combinada de todos los tipos de tampón relevantes (por ejemplo las especies en equilibrio dinámico unas con otras, por ejemplo citrato/ácido cítrico). Como tal, una concentración dada de un sistema tampón citrato se refiere generalmente a la concentración combinada de citrato (o sal o sales de citrato, por ejemplo citrato sódico) y ácido cítrico. El pH total de la composición que comprende el sistema tampón relevante es generalmente un reflejo de la concentración en equilibrio de cada una de las especies tampón relevantes (por ejemplo el equilibrio del agente o agentes tampón para el ácido/base conjugado o conjugados de los mismos).

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 disolución tampón. Un agente tampón ayuda a mantener el pH de una disolución dada a o cerca a un valor pre-determinado, y generalmente los agentes tampón se eligen para completar el valor pre-determinado. Un agente tampón es adecuadamente un compuesto único que da lugar a un efecto tampón deseado, especialmente cuando dicho agente tampón se mezcla con (un protón de intercambio adecuadamente apto) una cantidad apropiada (dependiendo del pH pre-determinado deseado) de su correspondiente “ácido/base conjugado”, o si la cantidad requerida de su “ácido/base conjugado” correspondiente se forma *in situ* – se puede alcanzar mediante la adición del ácido o base fuerte hasta que se alcance el pH requerido. A modo de ejemplo:

- Un “agente tampón” citrato es adecuadamente una sal citrato, por ejemplo, citrato sódico, adecuadamente mezclado con su ácido/base conjugado, ácido citrato. Tal “sistema tampón” se puede formar por la simple mezcla de una cantidad dada de citrato sódico con una cantidad dada de ácido cítrico. Alternativamente, sin embargo, tal tampón se puede formar mediante adición de una cantidad dada de una base, adecuadamente una base fuerte (por ejemplo hidróxido sódico) al ácido cítrico hasta que se alcanza el pH

deseado (y por tanto el equilibrio de citrato sódico/ácido cítrico). En la presente memoria, excepto cuando se indique lo contrario, cualquiera de las concentraciones dadas en relación a un tampón citrato o agente tampón citrato adecuadamente se refiere a la concentración combinada del agente o agentes tampón (por ejemplo citrato sódico) y/o ácido/base conjugado o conjugados de los mismos (por ejemplo ácido cítrico). El experto en la técnica es fácilmente capaz de calcular tal concentración. Tales concentraciones se pueden calcular por referencia a las concentraciones combinadas del agente o agentes tampón y el ácido/base conjugado o conjugados, donde un sistema tampón se forma simplemente mezclando juntos el agente o agentes tampón y el ácido/base conjugado o conjugados. Alternativamente, cuando un sistema tampón se forma mezclando cualquier agente o agentes tampón o ácido/base conjugado o conjugados con un regulador de pH (por ejemplo un ácido fuerte o base fuerte) para producir una mezcla de cada uno, tales concentraciones se pueden calcular adecuadamente por referencia a las cantidades/concentraciones de inicio del agente o agentes tampón o ácido/base conjugado o conjugados respectivamente. Por ejemplo, cuando un sistema tampón se forma usando una cantidad/concentración conocida del ácido cítrico que se mezcla con un regulador de pH (por ejemplo hidróxido sódico) hasta que se alcanza el pH deseado, la concentración del sistema tampón se puede calcular por referencia a la cantidad inicial de ácido cítrico.

En la presente memoria, un “ácido/base conjugado” se refiere al ácido conjugado o base conjugada (cualquiera es relevante a un pH particular –normalmente el ácido conjugado en el contexto de la presente invención) de un “agente tampón” particular. El ácido/base conjugado de un agente tampón citrato (por ejemplo citrato sódico) es adecuadamente ácido cítrico.

En la presente memoria, el término “especies tampón” se refiere a las especies particulares (excluyendo cualquier asociado de contra-aniones o contra-cationes –por ejemplo iones de sodio para sistemas citrato sódico/ácido cítrico) de un sistema tampón dado que están en equilibrio dinámico (y con intercambio de protones) con otro. Por ejemplo, aniones citrato y ácido cítrico juntos constituyen las “especies tampón citrato” del “sistema tampón citrato”.

Ya que es bastante difícil definir cantidades (si absoluto o relativo) de un sistema tampón por referencia al peso (debido a que el peso total dependerá del pH deseado, que afectará la cantidad de contra-iones presentes), en la presente memoria las cantidades basadas en el peso se pueden determinar por referencia al peso teórico de las “especies tampón” relevantes. En cualquier conjunto de “especies tampón” proporcionado están presentes al menos dos especies (en cantidades relativas que se pueden determinar sólo en referencia al pH), cada una con un peso molecular diferente (que normalmente difieren por sólo 1). Por lo tanto, para permitir cálculos y referencias viables de peso, para los objetivos de esta memoria el peso de cualquier conjunto proporcionado de “especies tampón” es un peso teórico basado en sólo una de las especies tampón, especialmente la especie tampón más ácida de las especies tampón (por ejemplo la forma más protonada a cualquier pH dado). Así el peso de un conjunto dado de “especies tampón” se cita como el peso de especies ácidas equivalentes. A modo de ejemplo, en un sistema tampón citrato las especies tampón citrato pueden consistir de aniones citrato (ignorar los contra-cationes) y ácido cítrico. El peso de las “especies tampón” se calcula por tanto como si el ácido cítrico fuera la única especie presente en el sistema tampón (incluso aunque el citrato esté claramente presente junto al ácido cítrico). Por tanto, cualquier referencia a un peso o razón de peso implica unas “especies tampón citrato” adecuadamente referidas al peso teórico de los equivalentes del ácido cítrico dentro del sistema tampón. Como tal, cuando una composición se forma por adición de un regulador del pH (por ejemplo hidróxido sódico) a una cantidad fija de ácido cítrico, el peso original del ácido cítrico se puede considerar como el peso de las “especies tampón” independientemente del pH final. Alternativamente, si se conoce la concentración (por ejemplo molaridad) de un sistema tampón, ésta se puede convertir en un peso de las “especies tampón” por referencia al peso molecular de la forma más ácida de las “especies tampón” relevantes (por ejemplo ácido cítrico), e ignorando el hecho de que algunos aniones están también presentes.

Salvo que se indique lo contrario, en la presente memoria referencias a un “aminoácido” o “aminoácidos”, si específico (por ejemplo arginina, histidina) o general (por ejemplo cualquier aminoácido), en el contexto de su presencia o de cualquier otra manera dentro de las composiciones (especialmente composiciones líquidas farmacéuticas de la invención) se refieren al aminoácido o aminoácidos libres correspondientes (independientemente de su o sus estados de protonación y/o forma de sal, aunque para cantidades de consistencia se calculan en referencia al aminoácido libre *per se*). Éste puede incluir adecuadamente aminoácidos naturales y/o artificiales. Salvo que se indique lo contrario, tales referencias no pretenden referirse al resto de aminoácido o aminoácidos que se incorpora covalentemente como parte de un gran compuesto (al contrario que una composición que comprende múltiples compuestos), tal como un péptido o proteína (donde tales restos de aminoácido se unen a través de enlaces peptídicos). Como tal, aunque adalimumab, como una proteína, contiene restos de aminoácido, no se considera comprender ningún “aminoácido o aminoácidos libres”. En modo de ejemplo, una composición “libre de arginina” se define como que no contiene ninguna arginina libre aunque incluya una o más proteínas (por ejemplo adalimumab) que comprenden en sí mismas restos de arginina.

Salvo que se indique lo contrario, en la presente memoria referencias a uno o más “aminoácidos”, si específico o general, se refiere adecuadamente a los L-estereoisómeros o a un racemato de los mismos, más adecuadamente L-aminoácidos.

- El término “sustancialmente libre”, cuando se usa en relación a un componente de una composición dada (por ejemplo “una composición farmacéutica líquida sustancialmente libre de arginina”), se refiere a la composición a la esencialmente que no se ha añadido ninguno de dichos componentes. Como se explicó anteriormente, tales referencias no tienen en cuenta la presencia de restos de aminoácidos dentro de una estructura de la proteína.
- 5 Cuando una composición es “sustancialmente libre” de un componente dado, dicha composición comprende adecuadamente no más de 0,001% peso de dicho componente, adecuadamente no más de 0,0001% peso de dicho componente, adecuadamente no más de 0,00001% peso, adecuadamente no más de 0,000001% peso, adecuadamente no más de 0,0000001% peso del mismo, el más adecuadamente no más de 0,0001 partes por billón (en peso).
- 10 El término “totalmente libre”; cuando se utiliza en relación a un componente de una composición dada (por ejemplo “una composición farmacéutica líquida sustancialmente libre de arginina”), se refiere a una composición que no contiene ninguno de dichos componentes. Como se explicó anteriormente, tales referencias no tienen en cuenta la presencia de restos de aminoácidos dentro de una estructura de la proteína.
- 15 En la presente memoria, en el contexto de la presente memoria, un “ácido fuerte” es adecuadamente uno que tiene un pka de -1,0 o menos, mientras que un “ácido débil” es adecuadamente uno que tiene un pka de 2,0 o más. En la presente memoria, en el contexto de la presente memoria, una “base fuerte” es adecuadamente una cuyo ácido conjugado tiene un pka de 12 o más (adecuadamente 14 o más), mientras que una “base débil” es adecuadamente una que cuyo ácido conjugado tiene un pka de 10 o menos.
- 20 En la presente memoria, un “estabilizador” se refiere a un componente que facilita el mantenimiento de la integridad estructural del fármaco biofarmacéutico, particularmente durante la congelación y/o liofilización y/o el almacenamiento (especialmente cuando se expone a estrés). Este efecto de estabilización puede surgir por una variedad de razones, aunque normalmente tales estabilizadores pueden actuar como osmolitos que mitigan la desnaturalización proteica. Estabilizadores típicos incluyen aminoácidos (por ejemplo aminoácidos libres que no son parte de un péptido o proteína- por ejemplo glicina, arginina, histidina, ácido aspártico, lisina) y azúcares
- 25 estabilizadores, 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 incluyen un estabilizador, al menos uno de ellos es un azúcar estabilizador (por ejemplo bien un poliol de azúcar o bien un disacárido). Más adecuadamente al menos un azúcar estabilizador es un azúcar no reductor (un poliol de azúcar o un disacárido).
- 30 En la presente memoria, un “azúcar no reductor” es generalmente un azúcar sin ninguna fracción de aldehído o sin la capacidad de formar una fracción de aldehído (por ejemplo a través de isomerismo).
- 35 En la presente memoria, un “modificador de la tonicidad” o “tonificante” 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 tonificante, como se emplea en la presente memoria incluye un agente cuyas funciones llevan a cabo una disolución similar en características osmóticas a la de los fluidos fisiológicos.
- 40 En la presente memoria, referencias a las cantidades específicas de un componente de una composición dada, especialmente un agente tampón, estabilizador, aminoácido, tensioactivo, o tonificante adecuado, se refiere a las cantidades de la forma anhidra pura del componente relevante (o composiciones formadas mediante la utilización de dichas cantidades de la forma anhidra pura), incluso aunque tal componente se pueda usar en una forma no anhidra cuando forma la composición. Cantidades de cualquiera de las formas no-anhídras correspondientes (por ejemplo monohidratos, dihidratos, etc) se pueden calcular fácilmente utilizando simplemente los múltiplos adecuados. Por ejemplo, salvo que se indique lo contrario, (según los Ejemplos, cuando las cantidades se refieren a Trehalosa dihidratada), las cantidades estipuladas en relación a trehalosa se refieren a la forma anhidra de trehalosa (o composiciones formadas mediante la utilización de cantidades/concentraciones de trehalosa anhidra), que tiene un peso molecular de 342,296 g/mol, para calcular la cantidad correspondiente de Trehalosa dihidratada necesaria para formar la misma composición (debería añadirse menos agua) es necesario multiplicar la cantidad estipulada por 378, 33/342,296, ya que 378, 33 es el peso molecular de la trehalosa deshidratada. El experto en la técnica entenderá fácilmente cómo ajustar de manera sensata la cantidad del diluyente/agua dependiendo de la forma de los componentes usados, para obtener las concentraciones diana.
- 45
- 50 En la presente memoria, el término “composición farmacéutica” se refiere a una formulación de un activo farmacéutico que lleva acabo la actividad biológica del ingrediente activo eficaz terapéuticamente, pero que no incluye otros ingredientes que son obviamente tóxicos para un sujeto al que se le administra la formulación de forma intencionada.
- 55 En la presente memoria, el término “estable” generalmente se refiere a la estabilidad física y/o estabilidad química y/o estabilidad biológica de un componente, normalmente un activo o composición del mismo, durante la conservación/almacenamiento.
- Se debe apreciar que referencias a “tratar” o “tratamiento” incluyen la profilaxis así como el alivio de síntomas establecidos de una afección. “Tratar” o “tratamiento” de un estado, trastorno o afección por lo tanto incluyen: (1)

prevenir o retrasar la aparición de síntomas clínicos del estado, trastorno o afección desarrollado en un ser humano que puede afectarse o estar predispuesto al estado, trastorno o afección pero que no experimenta o muestra aún síntomas clínicos o subclínicos del estado, trastorno o afección, (2) inhibir el estado, trastorno o afección, por ejemplo obstaculizando, reduciendo o retrasando el desarrollo de la enfermedad o una recaída de los mismos (en caso del tratamiento de mantenimiento) o al menos un síntoma clínico o subclínico del mismo, (3) aliviar o atenuar la enfermedad, por ejemplo causando regresión del estado, trastorno o afección o al menos de sus síntomas clínicos o subclínicos.

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

La “cantidad eficaz terapéuticamente” variará dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad y de la edad, peso, etc, del mamífero que se trate.

El término “TNF- α humano” se refiere a la citoquina humana que existe en una forma secretada 17kD y una forma asociada a la membrana 26kD, y en una forma activa biológicamente, TNF- α se podría observar como un trímero de una molécula 17 kD covalentemente unida. Su estructura específica se puede encontrar en Pennica, D. et al. (1984) Nature 312: 724-729; Davis, J. M. et al. (1987) Bioquímica 26, 1322-1326; y Jones. E. Y. et al. (1989) Nature 338: 225-228.

El término “anticuerpo humano recombinante” está destinado a incluir un anticuerpo humano preparado, expresado, producido o aislado utilizando un método recombinante.

En la presente memoria, cantidades estipuladas para los componentes y los ingredientes, si especificamos en términos de “partes”, ppm (partes por millón), porcentajes (%), por ejemplo, %peso), o razones, están destinados a ser el peso, salvo que se indique lo contrario.

Cuando la cantidad o concentración de un componente particular de una composición dada se especifica como un porcentaje del peso (%peso o %p/p), dicho porcentaje de peso se refiere al porcentaje de dicho componente por el peso relativo al peso total de la composición en su totalidad. Se entenderá por los expertos en la técnica que la suma de porcentajes de pesos de todos los componentes de una composición (si se especifica o no) será el 100% del peso total. Sin embargo, cuando no se citan todos los componentes (por ejemplo cuando las composiciones están indicadas a “comprender” uno o más componentes particulares), el balance del porcentaje de peso se puede conformar hasta el 100% por ingredientes inespecíficos (por ejemplo un diluyente, tal como agua, u otros aditivos no esenciales pero adecuados).

En la presente invención, salvo que se indique lo contrario, el término “partes” (por ejemplo partes por peso, pbw) cuando se usan en relación a múltiples ingredientes/componentes, se refiere a las razones relativas entre dichos ingredientes/componentes. Expresando razones molares o de peso de dos, tres o más componentes que producen el mismo efecto (por ejemplo una razón molar de x, y, y z es $x_1: y_1: z_1$ respectivamente, o un intervalo $x_1-x_2: y_1-y_2: z_1-z_2$). Aunque en muchas realizaciones las cantidades de los componentes individuales dentro de una composición se pueden proporcionar como un valor de “% de peso”, en realizaciones alternativas algunos o todos de tales valores de % de peso se pueden convertir en partes por peso (o razones relativas) para definir una composición multi-componente. Esto es debido a que las razones relativas entre los componentes es a menudo más importante que las concentraciones absolutas de los mismos en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención. Cuando una composición comprende múltiples ingredientes se describe sólo en términos de partes por peso (por ejemplo indicar solamente razones relativas de ingredientes), no es necesario estipular las cantidades o concentraciones absolutas de dichos ingredientes (si en su totalidad o individualmente) ya que las ventajas de la invención pueden provenir de las razones relativas de los respectivos ingredientes y no de sus cantidades o concentraciones absolutas. Sin embargo, en ciertas realizaciones, tales composiciones consisten esencialmente en, o consisten de, ingredientes estipulados y un diluyente (por ejemplo agua).

Cuando una composición se dice que comprende una pluralidad de ingredientes estipulados (opcionalmente en cantidades de concentraciones estipuladas), dicha composición puede incluir opcionalmente ingredientes adicionales distintos a los estipulados. Sin embargo, en ciertas realizaciones, una composición que se índice que comprende una pluralidad de ingredientes estipulados pueden de hecho consistir esencialmente de, o consistir en, todos los ingredientes estipulados.

En la presente memoria, cuando una composición se dice que “consiste esencialmente de” un componente particular, dicha composición comprende adecuadamente al menos 70% en peso de dicho componente, adecuadamente al menos 90% en peso del mismo, adecuadamente al menos 95% en peso del mismo, el más adecuadamente al menos 99% en peso del mismo. Adecuadamente, una composición dicha que “consiste esencialmente de” un componente particular consiste de dicho componente salvo por una o más trazas de impurezas.

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 proporcionado. Ambos tamaños se pueden medir utilizando un

anizador láser de tamaño de partícula y/o microscopios electrónicos (por ejemplo microscopio electrónico con efecto túnel, TEM, o microscopio electrónico de barrido, SEM). El recuento de partículas (para cualquier tamaño proporcionado) se puede obtener utilizando los protocolos y el equipamiento descrito en los Ejemplos, que se refiere al recuento de partículas sub-visibles.

5 Composición Farmacéutica Líquida

La presente invención proporciona una composición farmacéutica líquida, como se define en la presente memoria. La composición comprende adalimumab, que en sí misma incluye adecuadamente cualquier biosimilar de la misma. La composición comprende un agente tampón citrato (o un sistema tampón citrato). La composición comprende un azúcar estabilizador. El perfil de isoformas del adalimumab dentro de la composición, como medida (o medida) por referencia al área integrada del “pico principal” referente al adalimumab en un electroferograma producido durante la focalización isoeléctrica (adecuadamente focalización isoeléctrica capilar como se describe en la presente memoria, u opcionalmente protocolos de focalización isoeléctrica estándar bien conocidos en la técnica), cambia en no más del 20% cuando se somete a estrés luminoso (adecuadamente 7 horas de exposición a la luz a 765 W/m², adecuadamente de acuerdo con las pautas de la Agencia Europea de Medicamentos ICH Q1B vigente, adecuadamente el documento CPMP/ICH/279/95). La composición puede incluir adecuadamente uno o más componentes adicionales que se definen en la presente memoria en relación a una composición farmacéutica líquida (por ejemplo incluyendo tensioactivo, excluyendo arginina, etc), opcionalmente en cualquier cantidad, concentración, o forma estipulada en la presente memoria; y en donde la composición muestra opcionalmente uno o más parámetros o propiedades proporcionadas en la presente memoria en relación a la composición farmacéutica líquida (por ejemplo pH, osmolalidad).

Ventajosamente, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas líquidas alternativas y mejoradas, que generalmente muestran una estabilidad y viabilidad comparable o mejor a la de aquellas de la técnica anterior. Como se ilustra en la presente memoria (véanse los Ejemplos), las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente invención tienen características comparables o mejoradas cuando se comparan con las formulaciones de adalimumab convencionales, por ejemplo la formulación disponible comercialmente Humira®, cuando se sometieron a diferentes condiciones de estrés (térmico, mecánico y lumínico). Su rendimiento es también generalmente comparable o mejor que muchas de las otras formulaciones comparativas que se sometieron a los mismos ensayos de estrés. Ya que estas condiciones de estrés son altamente representativas de los tipos de estrés a las que se someten tales formulaciones durante la fabricación, transporte y almacenamiento, proporcionan una excelente indicación de las ventajas de la invención. Que tal buen rendimiento de estabilidad se pueda lograr utilizando formulaciones menos complejas con pocos 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 fabricación, se describen en WO97/29131 (BASF) como D2E7, y en otro sitio en la técnica. Se describe como que tiene “una cadena ligera de dominio CDR3 que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO: 3 y una cadena pesada de dominio CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4” (WO97/29131). Además, el anticuerpo D2E7 se describe como que tiene una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO: 2 (WO97/29131).

Las indicaciones médicas y la función de Adalimumab, se definieron antes en la presente memoria.

En el contexto de la invención “adalimumab” incluye biosimilares, como se definió antes en la presente memoria, y el experto en la técnica apreciará fácilmente el alcance del término “adalimumab” en el contexto de la invención.

La composición farmacéutica líquida comprende adalimumab a una concentración de 45 a 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 establece mediante un agente tampón (o un sistema tampón), adecuadamente en combinación con un ácido/base conjugado del agente tampón. Como tal, la composición farmacéutica líquida comprende adecuadamente un agente tampón como se define en la presente memoria. Preferiblemente, la composición farmacéutica líquida comprende adicionalmente un ácido/base conjugado, en donde dicho ácido/base conjugado corresponde al ácido conjugado o base conjugada del agente tampón, dependiendo si el agente tampón es en sí mismo una base o un ácido respectivamente. En conjunto, el agente tampón y su ácido/base conjugado se pueden considerar un “sistema tampón”. La composición farmacéutica líquida comprende un “sistema tampón” (que comprende adecuadamente un agente o agentes tampón y un ácido/base conjugado o conjugados de los mismos), y cualquiera de las concentraciones estipuladas en relación al sistema tampón relacionado generalmente a las concentraciones combinadas del agente o agentes tampón y cualquier ácido/base conjugado o conjugados de los mismos. Cualquier “sistema tampón” comprende adecuadamente un ácido débil y una base débil (véanse las definiciones anteriores).

El agente tampón es un agente tampón citrato. El agente tampón citrato es una sal citrato, que es citrato sódico.

La composición farmacéutica líquida comprende un ácido/base conjugado del agente tampón, más adecuadamente ácido cítrico como el ácido conjugado de la sal citrato. La combinación del agente tampón y su ácido/base conjugado constituye un sistema tampón. Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el agente tampón y su correspondiente ácido/base conjugado, adecuadamente tal que el agente tampón junto a su ácido/base conjugado están presentes a un nivel (por ejemplo cantidad o concentración absoluta) y en una cantidad (o concentración) relativa suficiente para proporcionar el pH deseado para la composición. El sistema tampón se puede formar mezclando simplemente el agente tampón con su ácido/base conjugado o se puede formar alternativamente mezclando un ácido o base con cualquier agente tampón o su ácido/base conjugado para formar *in situ* la mezcla deseada de agente tampón y ácido/base conjugado. Por ejemplo, el sistema tampón se puede formar mezclando simplemente el agente tampón citrato (por ejemplo citrato sódico) con su ácido/base conjugado (por ejemplo ácido cítrico), adecuadamente en una razón apropiada para proporcionar el pH deseado. Alternativamente, el sistema tampón se puede formar por adición de una base (por ejemplo hidróxido sódico) al ácido/base conjugado (por ejemplo ácido cítrico) del agente tampón citrato, en una cantidad adecuadamente apropiada para proporcionar el pH deseado y la mezcla del agente tampón (por ejemplo citrato sódico) y el correspondiente ácido/base conjugado (por ejemplo ácido cítrico). Alternativamente, se puede emplear cualquier método para formar el sistema tampón, y se puede ajustar el pH de forma sensata bien añadiendo otro ácido (adecuadamente un ácido fuerte, tal como HCl) u otra base (adecuadamente una base fuerte, tal como hidróxido sódico).

El sistema tampón es un sistema tampón citrato que comprende una sal citrato y ácido cítrico.

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende como máximo un agente tampón.

La composición farmacéutica líquida tiene un pH entre 5,7 y 5,9. En una realización particular, la composición farmacéutica líquida tiene un pH de aproximadamente 5,8.

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende un sistema tampón citrato sódico/ácido cítrico a una concentración de 10 mM. Esto se incluye donde el "agente o agentes tampón" (por ejemplo citrato sódico) se forma por adición de una base fuerte (por ejemplo hidróxido sódico) al ácido conjugado del agente o agentes tampón (por ejemplo ácido cítrico).

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende las especies tampón (adecuadamente especies tampón citrato) a una concentración de aproximadamente 0,38 mg/mL a aproximadamente 9,6 mg/mL. En una realización, las especies tampón están presentes en una concentración de entre 0,96 mg/mL y 2,69 mg/mL, el más adecuadamente aproximadamente 1,9 mg/mL. Esto se incluye donde el "agente tampón" (por ejemplo citrato sódico) se forma por adición de una base fuerte (por ejemplo hidróxido sódico) al ácido conjugado del agente tampón (por ejemplo ácido cítrico).

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el sistema tampón (adecuadamente el sistema tampón citrato) en una razón molar del sistema tampón para adalimumab de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 145:1. En una realización, el sistema tampón está presente en una razón molar del sistema tampón para adalimumab de aproximadamente 14:1 a aproximadamente 40:1, más adecuadamente aproximadamente 29:1. En una realización, el sistema tampón está presente a una concentración de 29:1. Esto se incluye donde el "agente o agentes tampón" (por ejemplo citrato sódico) se forma por adición de una base fuerte (por ejemplo hidróxido sódico) al ácido conjugado del agente tampón (por ejemplo ácido cítrico).

Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas de la invención que incluyen un sistema tampón citrato funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la fragmentación y al desdoblamiento proteico, que pueden ser indicadores importantes de la estabilidad y viabilidad del producto farmacológico. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas cuyo sistema tampón citrato mantiene un pH estable de 5,8 funcionan particularmente bien.

45 *Azúcar Estabilizador*

La composición farmacéutica líquida comprende un azúcar estabilizador. Adecuadamente, tal componente facilita el mantenimiento de la integridad estructural del fármaco biofarmacéutico, particularmente durante la congelación y/o liofilización y/o almacenamiento (especialmente cuando se expone al estrés).

La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más azúcares estabilizantes, aunque en realizaciones preferidas sólo está presente un único azúcar estabilizador.

El azúcar estabilizador es un poliol de azúcar (incluyendo alcoholes de azúcar) y/o un disacárido.

El azúcar estabilizador se selecciona adecuadamente del grupo que incluye trehalosa, manitol, sacarosa, sorbitol, maltosa, lactosa, xilitol, arabitól, eritritol, lactitol, maltitol, inositol.

En una realización particular, el azúcar estabilizador es un azúcar no reductor, opcionalmente un azúcar no reductor citado en cualquier lugar de la presente memoria.

En una realización particular, el azúcar estabilizador se selecciona del grupo que incluye trehalosa y manitol.

5 La trehalosa es un azúcar reductor particularmente ventajoso para usar junto a un agente tampón/sistema tampón citrato en formulaciones líquidas de adalimumab.

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende trehalosa como el único azúcar estabilizador.

10 Adecuadamente la trehalosa que se usa para formar la composición farmacéutica líquida es Trehalosa dihidratada aunque, adecuadamente cualquiera de las cantidades estipuladas en relación a trehalosa (salvo que se indique lo contrario – como se hace en los Ejemplos) se refieren a trehalosa anhidra, pura. Tales cantidades se pueden convertir en una cantidad de trehalosa pura aplicando un multiplicador apropiado. Por otra parte, para los objetivos del ensayo si una formulación dada está dentro del alcance de cualquiera de las definiciones de calidad de trehalosa proporcionadas en la presente memoria, se puede convertir fácilmente una cantidad de Trehalosa dihidratada en una cantidad pura correspondiente, trehalosa anhidra (con igual número de moles), a través de la aplicación de dicho multiplicador en sentido inverso. Este principio se puede adoptar para cualquier componente del azúcar estabilizador. Cuando se proporcionan concentraciones como una concentración molar, serán por supuesto las mismas independientemente del estado de hidratación del azúcar estabilizador.

15 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el azúcar o azúcares estabilizadores (más adecuadamente trehalosa) a una concentración de aproximadamente 50 a aproximadamente 400 mM, más adecuadamente de aproximadamente 100 a aproximadamente 300 mM, más adecuadamente de aproximadamente 150 a aproximadamente 250 mM. En una realización, el azúcar o azúcares estabilizadores están presentes a una concentración de entre 190 y 210 mM, el más adecuadamente aproximadamente 200 mM. En una realización, la trehalosa está presente a una concentración de 200 mM.

20 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el azúcar o azúcares estabilizadores (más adecuadamente trehalosa) a una concentración de aproximadamente 15 mg/mL a aproximadamente 140 mg/mL, más adecuadamente de aproximadamente 35 mg/mL a aproximadamente 100 mg/mL, más adecuadamente de aproximadamente 45 mg/mL a aproximadamente 80 mg/mL. En una realización, el azúcar o azúcares estabilizadores están presentes a una concentración de entre 65 mg/mL y 72 mg/mL, el más adecuadamente aproximadamente 68 mg/mL. En una realización particular, la trehalosa está presente a una concentración de aproximadamente 68 mg/mL (que equivale a aproximadamente 75,7 mg/mL de Trehalosa dihidratada).

25 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el azúcar o azúcares estabilizadores (más adecuadamente trehalosa) en una razón molar de azúcar o azúcares estabilizadores para adalimumab de aproximadamente 145:1 a aproximadamente 1.150:1, más adecuadamente de aproximadamente 290:1 a aproximadamente 860:1, más adecuadamente de aproximadamente 430:1 a aproximadamente 720:1. En una realización el azúcar o azúcares estabilizadores están presentes a una razón molar de azúcar o azúcares estabilizadores para adalimumab de aproximadamente 550:1 a aproximadamente 605:1, el más adecuadamente aproximadamente 576:1. En una realización, la trehalosa está presente a una razón molar de trehalosa para adalimumab de aproximadamente 576:1.

30 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un azúcar estabilizador como se define en la presente memoria funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la agregación, fragmentación y desdoblamiento proteico, que pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del producto farmacológico. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden trehalosa como el azúcar estabilizador funcionan particularmente bien.

Diluyente

35 Las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención incluyen uno o más diluyentes aceptables farmacéuticamente, o mezcla de los mismos. La composición farmacéutica líquida es una composición farmacéutica acuosa. El diluyente más adecuado es el agua, y adecuadamente sólo agua. El agua es adecuadamente agua para inyección (WFI).

40 Adecuadamente el diluyente puede constituir el balance de ingredientes en cualquier composición farmacéutica líquida, por ejemplo para que los porcentajes de peso total sean del 100%. Adecuadamente cualquiera de las concentraciones proporcionadas en la presente memoria en relación con cualquier componente de la composición farmacéutica líquida representa concentraciones de dicho componente en (y adecuadamente disuelto en él) el diluyente en adición con cualquiera de los otros componentes.

45 La composición farmacéutica líquida de la invención es adecuadamente una disolución, y está adecuadamente (sustancialmente o totalmente) libre de partículas o precipitados.

55

*Ausencia o bajo nivel de componentes**Sin/bajo nivel de arginina*

La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de arginina (adecuadamente L-arginina) o bien comprende arginina en una concentración de como máximo 0,001 mM.

5 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de arginina o bien comprende arginina en una razón molar de arginina para el sistema tampón de como máximo 1:150 (por ejemplo menos o igual a un mol de arginina por cada 150 moles del sistema tampón), más adecuadamente como máximo 1:1.500, el más adecuadamente como máximo 1:15.000.

10 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de arginina o bien comprende arginina en una razón de peso de arginina para adalimumab de como máximo 1:3.000 (por ejemplo menos o igual a una parte por peso de arginina por cada 3.000 partes en peso de adalimumab), más adecuadamente como máximo 1:30.000, y el más adecuadamente como máximo 1:300.000.

15 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de arginina o bien comprende arginina en una razón molar de arginina para adalimumab de como máximo 1:3,75 (por ejemplo menos o igual a un mol de arginina por cada 3,75 moles de adalimumab), más adecuadamente como máximo 1:37,5, y el más adecuadamente como máximo 1:375.

20 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 refiere al aminoácido o aminoácidos libres correspondientes y no al resto o restos de aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un gran compuesto, tal como un péptido o una proteína.

Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (sustancialmente o totalmente) excluyen arginina funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la agregación, fragmentación, y desdoblamiento proteico.

Sin/bajo nivel de aminoácidos

25 La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de aminoácidos o bien comprende uno o más aminoácidos en una (conjunto) concentración de como máximo 0,001 mM.

30 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de aminoácidos o bien comprende uno o más aminoácidos en una (conjunto) razón molar de aminoácidos para el sistema de tampón de como máximo 1:150 (por ejemplo menor igual a un mol de aminoácidos por cada 150 moles del sistema tampón), más adecuadamente de como máximo 1:1.500, el más adecuadamente de como máximo 1:15.000.

35 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de aminoácidos o bien comprende uno o más aminoácidos en una (conjunto) razón de peso de aminoácidos para adalimumab de como máximo 1:3.000 (por ejemplo menor o igual a una parte por peso de aminoácidos por cada 3.000 partes por peso de adalimumab), más adecuadamente de como máximo 1:30.000, el más adecuadamente de como máximo 1:300.000.

40 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de aminoácidos o bien comprende uno o más aminoácidos en una (conjunto) razón molar para adalimumab de como máximo 1:3,75 (por ejemplo menor igual a un mol de aminoácidos por cada 3,75 moles de adalimumab), más adecuadamente de como máximo 1:37,5, el más adecuadamente de como máximo 1:375.

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 refiere al aminoácido o aminoácidos libres correspondientes y no al resto o restos de aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un gran compuesto, tal como un péptido o una proteína.

45 Adecuadamente, los aminoácidos referidos en esta sección (y considerados ausentes o presentes en bajas cantidades) pueden ser aminoácidos naturales y/o artificiales, aunque se prefieren los aminoácidos naturales. En particular, las composiciones farmacéuticas líquidas están o bien (sustancialmente o totalmente) libres de aminoácidos que se seleccionan del grupo que incluye: arginina, lisina, ácido aspártico, e histidina; o bien comprenden uno o más de los aminoácidos anteriormente dichos en una cantidad, concentración, razón molar, o razón de peso como se define antes en la presente memoria en relación a los "aminoácidos".

50 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (sustancialmente o completamente) excluyen aminoácidos o determinados aminoácidos, como se define anteriormente, funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la agregación, fragmentación y desdoblamiento proteico.

Sin/bajo nivel de tensioactivo

5 La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos (catiónico, aniónico, anfótero, o no-iónico) con la excepción opcional de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno(20)sorbitano) o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo opcionalmente el polisorbato 80) en (conjunto) una concentración de como máximo 0,0001 mM. La composición farmacéutica líquida puede, bajo tales circunstancias, comprender opcionalmente polisorbato 80 como se define en la presente memoria.

10 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos (catiónico, aniónico, anfótero, o no-iónico) con la excepción opcional de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitano) o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo opcionalmente el polisorbato 80) en (conjunto) una razón molar de tensioactivos para el sistema tampón de como máximo 1:10, más adecuadamente de como máximo 1:100, el más adecuadamente de como máximo 1:1.000, más adecuadamente de como máximo 1:10.000, adecuadamente de como máximo 1:100.000. La composición farmacéutica líquida puede, bajo tales circunstancias, comprender opcionalmente polisorbato 80 como se define en la presente memoria.

15 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos (catiónico, aniónico, anfótero, o no-iónico) con la excepción opcional de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitano) o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo opcionalmente el polisorbato 80) en (conjunto) una razón de peso de tensioactivos para adalimumab de como máximo 1:50 (por ejemplo menor o igual a una parte en peso de tensioactivos por cada 50 partes en peso de adalimumab), más adecuadamente de como máximo 1:500, más adecuadamente de como máximo 1:50.000, adecuadamente de como máximo 1:500.000. La composición farmacéutica líquida puede, bajo tales circunstancias, comprender opcionalmente polisorbato 80 como se define en la presente memoria.

25 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos (catiónico, aniónico, anfótero, o no-iónico) con la excepción opcional de polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20) sorbitano) o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos (excluyendo opcionalmente el polisorbato 80) en (conjunto) una razón molar de tensioactivos para adalimumab de como máximo 3:1, más adecuadamente de como máximo 0,3:1, más adecuadamente de como máximo 0,003:1, más adecuadamente de como máximo 0,0003:1, adecuadamente de como máximo 0,00003:1. La composición farmacéutica líquida puede, bajo tales circunstancias, comprender opcionalmente polisorbato 80 como se define en la presente memoria.

30 Adecuadamente, los tensioactivos referidos en esta sección (y considerados ausentes o presentes en bajas cantidades) pueden ser tensioactivos catiónicos, aniónicos, anfotéricos, o no-iónicos. Adecuadamente, los tensioactivos referidos en esta sección (y considerados ausentes o presentes en bajas cantidades) incluyen tensioactivos catiónicos, aniónicos, y anfóteros, pero opcionalmente pueden excluir los tensioactivos no-iónicos (por ejemplo polisorbato o spans) o al menos pueden excluir opcionalmente el polisorbato 80. Como tal, la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos catiónicos, aniónicos, o anfotéricos o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, razón molar, o razón de peso de como máximo la estipulada en cualquiera de los apartados precedentes de esta sub-sección en relación a los "tensioactivos" en general.

40 La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos no-iónicos con la excepción opcional del polisorbato 80 o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, razón molar, o razón de peso de como máximo la estipulada en cualquiera de los apartados precedentes de esta sub-sección en relación a los "tensioactivos" en general.

45 La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos polisorbato con la excepción opcional del polisorbato 80 o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, razón molar, o razón de peso de como máximo la estipulada en cualquiera de los apartados precedentes de esta sub-sección en relación a en relación a los "tensioactivos" en general. La composición farmacéutica líquida puede, bajo estas circunstancias, comprender opcionalmente polisorbato 80 como se define en la presente memoria.

50 La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos polisorbato 20 (también conocido como Tween 20-monolaurato de polioxietileno(20)sorbitano) o bien comprende uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, razón molar, o razón de peso de como máximo la estipulada en cualquiera de los apartados precedentes de esta sub-sección en relación a en relación a los "tensioactivos" en general.

55 La composición farmacéutica líquida puede adecuadamente estar o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos polisorbato 80 o bien comprender dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, razón molar, o razón de peso como se define anteriormente en la presente memoria en relación a los "tensioactivos". La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos polisorbato 80 o bien comprende uno o más uno o más de dichos tensioactivos en una cantidad, concentración, razón molar, o razón

de peso de como máximo la estipulada en cualquiera de los apartados precedentes de esta sub-sección en relación a los “tensioactivos” en general.

5 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (sustancialmente o completamente) excluyen aminoácidos o determinados aminoácidos, como se define anteriormente, funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la agregación, fragmentación y desdoblamiento proteico.

Sin/bajo nivel de fosfatos

10 La composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de agentes tampón fosfato (por ejemplo fosfato de dihidrógeno sódico, fosfato de hidrógeno disódico) o bien comprende un sistema tampón fosfato en una concentración de como máximo 0,001 mM.

15 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de agentes tampón fosfato (por ejemplo fosfato de dihidrógeno sódico, fosfato de hidrógeno disódico) o bien comprende un sistema tampón fosfato en una razón molar del sistema tampón fosfato para cualquiera de los sistemas tampón no-fosfato presentes de como máximo 1:150 (por ejemplo de menos o igual a un mol del sistema tampón fosfato por cada 150 moles del sistema tampón no-fosfato presente), más adecuadamente de como máximo 1:1.500, el más adecuadamente de como máximo 1:15.000.

20 Adecuadamente la composición farmacéutica líquida está o bien (sustancialmente o totalmente) libre de agentes tampón fosfato o bien comprende un sistema tampón fosfato en una razón molar del sistema tampón fosfato para adalimumab de como máximo 1:3,75 (por ejemplo menos o igual a un mol del sistema tampón fosfato por cada 3,75 moles de adalimumab), más adecuadamente de como máximo 1:37,5, el más adecuadamente de como máximo 1:375.

25 Referencias “agentes tampón fosfato” en el contexto de su presencia o de otra manera, dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a cualquiera de las sales fosfato en cualquier forma o estado de protonación. Incluyendo fosfato, fosfato monohidrógeno y fosfato dihidrógeno. Esto, sin embargo, excluye adecuadamente a cualquiera de las fracciones o restos fosfato que se pueden incorporar covalentemente como parte de un gran compuesto, tal como un péptido o proteína fosforilado o glicosilado.

30 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (sustancialmente o totalmente) excluyen agentes tampón funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la agregación, fragmentación, y desdoblamiento proteico.

Componentes adicionales opcionales

Tonificante

La composición farmacéutica líquida de la invención comprende un “tonificante modificador” (o “tonificante”) o uno o más tonificantes, adecuadamente como se describe en la presente memoria.

35 La inclusión de un tonificante contribuye adecuadamente a (o aumenta) la osmolalidad y osmolaridad total de la composición. Adecuadamente un tonificante está presente dentro de la composición en una cantidad o concentración suficiente para que la composición sea (sustancialmente) isotónica con los fluidos corporales. Adecuadamente un tonificante está presente dentro de la composición en una cantidad o concentración suficiente para que la composición tenga una osmolaridad u osmolalidad dentro de un intervalo que se define en la presente memoria.

40 Se puede usar cualquier tonificante adecuado. Sin embargo, adecuadamente el tonificante se selecciona del grupo que incluye sales metálicas solubles en agua (por ejemplo cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro magnésico, cloruro cálcico), azúcares tonificantes/alcoholes de azúcar solubles en agua (por ejemplo glucosa, sacarosa, manitol), y/u otros polioles solubles en agua. Adecuadamente el tonificante o tonificantes no es un tampón (por ejemplo da lugar o no a un pequeño efecto tampón). Como tal, cualquier sal metálica tonificante es adecuadamente un agente no tampón.

45 La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más tonificantes, aunque preferiblemente está presente como tal sólo un único “tonificante” (a pesar de que cualquier efecto tonificante impartido a la composición por los componentes pretenda servir para otra función como se define en la presente memoria).

50 El tonificante más preferible es, o comprende, una sal metálica (preferiblemente una sal metálica soluble en agua no tampón). Adecuadamente, dicha sal metálica es, o comprende, un metal haluro, adecuadamente un metal haluro alcalino o alcalinotérreo, adecuadamente un cloruro metálico alcalino.

El tonificante es o comprende cloruro sódico. En una realización particular, el tonificante es cloruro sódico. El cloruro sódico es un tonificante particularmente ventajoso para usar junto con un agente tampón/sistema tampón citrato en formulaciones de adalimumab líquidas.

5 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el tónico o tónicos (el más adecuado cloruro sódico) a una concentración de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 mM, más adecuadamente de aproximadamente 20 a aproximadamente 100 mM, más adecuadamente de aproximadamente 25 a aproximadamente 75 mM. En una realización, el tónico o tónicos están presentes a una concentración de entre 40 y 60 mM, el más adecuadamente aproximadamente 50 mM. En una realización, el cloruro sódico está presente a una concentración de 50 mM.

10 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el tónico o tónicos (el más adecuado cloruro sódico) a una concentración de aproximadamente 0,5 mg/mL a aproximadamente 12 mg/mL, más adecuadamente de aproximadamente 1,2 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, más adecuadamente de aproximadamente 1,5 mg/mL a aproximadamente 4,4 mg/mL. En una realización, el tónico o tónicos están presentes a una concentración de entre 2,7 mg/mL y 3,1 mg/mL, el más adecuadamente aproximadamente 2,9 mg/mL. En una realización, el cloruro sódico está presente a una concentración de 2,9 mg/mL.

15 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el tónico o tónicos (el más adecuado cloruro sódico) a una razón molar del tónico para adalimumab de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 580:1, más adecuadamente de aproximadamente 60:1 a aproximadamente 290:1, más adecuadamente de aproximadamente 70:1 a aproximadamente 220:1. En una realización, el tónico o tónicos están presentes a una razón molar de tónico para adalimumab de aproximadamente 115:1 a aproximadamente 175:1, el más adecuadamente aproximadamente 145:1. En una realización, el cloruro sódico está presente a una razón molar de cloruro sódico para adalimumab de 145:1.

20 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención incluyen un tónico que como se define en la presente memoria funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la agregación, fragmentación y desdoblamiento proteico, que pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del producto farmacológico. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden cloruro sódico, particularmente en una cantidad de intervalo estipulado, funcionan particularmente bien.

Tensioactivo

La composición farmacéutica líquida de la invención puede comprender adecuadamente polisorbato 80.

30 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 5 mM (por ejemplo 0,1 μ M-5mM), más adecuadamente de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 2 mM, más adecuadamente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1,0 mM. En una realización, el polisorbato 80 está presente a una concentración de entre 0,72 y 0,80 mM, el más adecuadamente aproximadamente 0,76 mM. En una realización, el polisorbato 80 está presente a una concentración de 0,76 mM.

35 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente 0,001 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, más adecuadamente de aproximadamente 0,01 mg/mL a aproximadamente 2 mg/mL, más adecuadamente de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 1,5 mg/mL. En una realización, el polisorbato 80 está presente a una concentración de entre 0,9 mg/mL y 1,1 mg/mL, el más adecuadamente aproximadamente 1,0 mg/mL. En una realización particular, el polisorbato 80 está presente a una concentración de aproximadamente 1,0 mg/mL.

40 Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida comprende el polisorbato 80 en una razón molar de tensioactivos para adalimumab de aproximadamente 1:3.500 a aproximadamente 15:1, más adecuadamente de aproximadamente 1:350 a aproximadamente 6:1, más adecuadamente de aproximadamente 1:35 a aproximadamente 3:1. En una realización, el polisorbato 80 está presente a una razón molar de tensioactivos para adalimumab de aproximadamente 2,1:1 a aproximadamente 2,3:1, el más adecuadamente aproximadamente 2,2:1.

45 En una realización, el polisorbato 80 está presente a una razón molar de polisorbato 80 para adalimumab de aproximadamente 2,2:1.

50 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un tensioactivo como se define en la presente memoria funcionan particularmente bien en ensayos de estrés, especialmente en relación a la agregación, fragmentación y desdoblamiento proteico, que pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del producto farmacológico. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden polisorbato, particularmente en una cantidad con un intervalo como se estipula, funcionan particularmente bien.

Otros Parámetros relacionados con la invención

Osmolalidad

55 Adecuadamente la osmolalidad de la composición farmacéutica líquida está entre 200 y 405 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, el más adecuadamente entre 280 y 310 mOsm/kg. Adecuadamente las cantidades y concentraciones relativas de los distintos componentes de la composición se puede ajustar con sensatez para lograr la osmolalidad deseada, y la nueva combinación particular de componentes permite lograrlo en gran medida sin perjudicar a otros parámetros importantes. Sin embargo, adecuadamente las cantidades y concentraciones relativas de los distintos componentes de la composición se pueden seleccionar para optimizar otros parámetros – la presente divulgación, incluyendo los ejemplos y protocolos expuestos en ella, permite al experto lograr el final y realizar uno, algunos, o todos los beneficios de la presente invención.

Temperatura de desdoblamiento proteico

10 Adecuadamente, la temperatura de desdoblamiento proteico (adecuadamente medida a través de los protocolos DSF como que se definen en la presente memoria) de adalimumab en la composición líquida farmacéutica de la invención es mayor o igual a 65°C, más adecuadamente mayor o igual a 70°C. La nueva combinación de componentes presentes dentro la composición de la invención permite al experto lograr temperaturas de desdoblamiento mayores, que se pueden considerar deseables desde una perspectiva de estabilidad térmica.

15 *Parámetros cuando se somete a estrés térmico*

Adecuadamente la cantidad (o concentración) de agregados (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente como se determinó mediante los protocolos SE-HPLC como se define en la presente memoria) presente dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (por ejemplo 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa térmicamente a 40°C (por ejemplo la composición se mantiene a una temperatura de 40°C) durante un periodo de 28 días, adecuadamente no más de un factor de 3, adecuadamente no más de un factor de 2,5, adecuadamente no más de un factor de 2,2.

25 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de fragmentos (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos a través de los protocolos del bioanalizador como se definen en la presente invención) presente dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (por ejemplo 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa térmicamente a 40°C (por ejemplo la composición se mantiene a una temperatura de 40°C) durante un periodo de 28 días, adecuadamente no más de un factor de 3, adecuadamente no más de un factor de 2,5, adecuadamente no más de un factor de 2,2.

30 Adecuadamente la turbidez (adecuadamente como se midió a través de nefelometría de acuerdo con los protocolos establecidos en la presente memoria) de la composición farmacéutica líquida aumenta no más de un factor de 2 (por ejemplo 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa térmicamente a 40°C (por ejemplo la composición se mantiene a una temperatura de 40°C) durante 28 días, adecuadamente no más de un factor de 1,5, adecuadamente no más de un factor de 1,2, y adecuadamente la turbidez no aumenta nada.

35 Adecuadamente el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (ya sea mediante aumento o disminución, aunque generalmente es por un descenso en el pH) no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se estresa térmicamente a 40°C (por ejemplo 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, el más adecuadamente el pH no cambia nada (con un decimal).

Parámetros cuando se somete a estrés mecánico

40 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de agregados (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente como se determinó mediante los protocolos SE-HPLC como se definen en la presente memoria) presente dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 2 (por ejemplo 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa mecánicamente (por ejemplo agitar según los protocolos indicados en la presente memoria) durante un periodo de 48 horas, adecuadamente no más de un factor de 1,5, adecuadamente no más de un factor de 1,2, adecuadamente no más de un factor de 1,1.

50 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de fragmentos (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos a través de los protocolos del bioanalizador como se definen en la presente memoria) presente dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 2 (por ejemplo 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa mecánicamente (por ejemplo agitar según los protocolos indicados en la presente memoria) durante un periodo de 48 horas, adecuadamente no más de un factor de 1,5, adecuadamente no más de un factor de 1,2, adecuadamente no más de un factor de 1,1.

55 Adecuadamente la turbidez (adecuadamente como se midió a través de nefelometría de acuerdo con los protocolos establecidos en la presente memoria) de la composición farmacéutica líquida aumenta no más de un factor de 2 (por ejemplo 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa mecánicamente (por ejemplo agitar según los protocolos indicados en la presente memoria) durante un periodo de

48 horas, adecuadamente no más de un factor de 1,5, adecuadamente no más de un factor de 1,2, adecuadamente no más de un factor de 1,1, y adecuadamente la turbidez no aumenta nada.

5 Adecuadamente el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (ya sea mediante aumento o disminución, aunque generalmente es por un descenso en el pH) no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se estresa mecánicamente (por ejemplo agitar según los protocolos indicados 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, el más adecuadamente el pH no cambia nada (con un decimal).

Parámetros cuando se somete a estrés lumínico

10 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de agregados (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente como se determinó mediante los protocolos SE-HPLC como se definen en la presente memoria) presente dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 50 (por ejemplo 50 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa lumínicamente (por ejemplo la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos que se divulgan en la presente memoria, por ejemplo 7 horas a 765 W/m²), adecuadamente no más de un factor de 45, adecuadamente no más de un factor de 35, adecuadamente no más de un factor de 30.

20 Adecuadamente la cantidad (o concentración) de fragmentos (adecuadamente derivados de adalimumab, y adecuadamente medidos a través de los protocolos del bioanalizador como se definen en la presente memoria) presente dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta en no más de un factor de 4 (por ejemplo 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa lumínicamente (por ejemplo la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos que se divulgan en la presente memoria, por ejemplo 7 horas a 765 W/m²), adecuadamente no más de un factor de 3, adecuadamente no más de un factor de 2,5, adecuadamente no más de un factor de 2.

25 Adecuadamente la turbidez (adecuadamente como se midió a través de nefelometría de acuerdo con los protocolos establecidos en la presente memoria) de la composición farmacéutica líquida aumenta no más de un factor de 2 (por ejemplo 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de comienzo arbitrario) cuando la composición se estresa lumínicamente (por ejemplo la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos que se divulgan en la presente memoria, por ejemplo 7 horas a 765 W/m²), adecuadamente no más de un factor de 1,5, adecuadamente no más de un factor de 1,2, y adecuadamente la turbidez no aumenta nada.

30 Adecuadamente el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (ya sea mediante aumento o disminución, aunque generalmente es por un descenso en el pH) no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se estresa lumínicamente (por ejemplo la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos que se divulgan en la presente memoria, por ejemplo 7 horas a 765 W/m²), adecuadamente no más de 0,2 unidades de pH, adecuadamente no más de 0,1 unidades de pH, el más adecuadamente el pH no cambia nada (con un decimal).

35 Adecuadamente el perfil de isoformas de adalimumab, particularmente el área integrada del pico principal, en la composición farmacéutica líquida (adecuadamente medida a través focalización isoeléctrica, adecuadamente cIEF, adecuadamente utilizando un iC280, adecuadamente empleando un protocolo como se establece en la presente memoria) es razonablemente estable cuando la composición se estresa lumínicamente (por ejemplo la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos que se divulgan en la presente memoria, por ejemplo 7 horas a 765 W/m²). Adecuadamente, el estrés lumínico se realiza de acuerdo con las pautas de la Agencia Europea de Medicamentos ICH Q1B vigente (en relación al ensayo de fotoestabilidad de nuevas sustancias activas y productos médicos), adecuadamente como se ilustra mediante el documento CPMP/ICH/279/95. Adecuadamente el perfil de isoformas de adalimumab dentro de la composición, como se midió por referencia al área integrada del "pico principal" relativo a adalimumab en un electroferograma producido por focalización isoeléctrica (adecuadamente focalización isoeléctrica capilar como se describe en la presente memoria, u opcionalmente otros protocolos de focalización isoeléctrica bien conocidos en la técnica), cambia no más del 20% cuando se someten a estrés lumínico (adecuadamente 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m², adecuadamente de acuerdo con las pautas de la Agencia Europea de Medicamentos ICH Q1B vigente, adecuadamente el documento CPMP/ICH/279/95). Adecuadamente el perfil de isoformas de adalimumab dentro de la composición (medido adecuadamente por referencia al área integrada del "pico principal" relativo a adalimumab) no cambia más del 15% (ya sea un incremento o reducción en el área del pico) cuando se estresa lumínicamente en esta manera, adecuadamente no más del 10%, adecuadamente no más del 5%, adecuadamente no más del 4%. Composiciones de adalimumab de la técnica anterior muestran una estabilidad del perfil de isoformas inferior debido al fenómeno de foto-oxidación que es debidamente inhibido a través del uso de un tampón citrato dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas particulares de la invención. Como tal, en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención adalimumab muestra una fotoestabilidad superior. En una realización particular, adalimumab tiene una fotoestabilidad en la composición farmacéutica líquida de la invención mayor que formulaciones comerciales de HUMIRA® como se define en la presente memoria (adecuadamente como se indica mediante los perfiles de isoformas relativas, particularmente en relación al pico principal de adalimumab). Se entenderá que el "pico principal" correspondiente a adalimumab se refiere al pico principal de adalimumab de un electroferograma (por ejemplo con el mayor área de pico integrado) resultante de las mediciones de focalización isoeléctrica, adecuadamente realizadas como se define

en la presente memoria. Adecuadamente el electroferograma se adquiere a 280 nm, adecuadamente durante tiempos de pre-focalización y focalización de 1 y 6 minutos respectivamente, adecuadamente a un voltaje de 1.500 V (pre-focalización) y 3.000 V (focalización). Adecuadamente los picos son picos de absorbancia, adecuadamente a 280 nm. La separación de las diversas isoformas se logra adecuadamente usando hidróxido sódico 100 mM (en 0,1% de metil celulosa) como una disolución catódica y adecuadamente 80 mM de ácido o-fosfórico (en 0,1% de metil celulosa) como una disolución anódica. Se preparan adecuadamente muestras para mediciones de focalización isoelectrica según un protocolo que se define en la presente memoria o en otro sitio en la técnica, pero en particular puede implicar adecuadamente uno o más o todos de: i) purificación; ii) eliminación de sales (por ejemplo con centrifugación adecuadamente con un punto de corte de 10 kDa); iii) pre dilución para proporcionar un contenido proteico de aproximadamente 5,0 mg/mL, adecuadamente aproximadamente 1,0 mg/mL, en donde el diluyente puede incluir opcionalmente metil celulosa, Pharmalyte 5-8 (GE Healthcare), Pharmalyte 8-10,5 (GE Healthcare), bajo marcador pI 7,05 (Proteína Simple), alto marcador pI 9,50 (Proteína Simple) y agua purificada; iv) uno o más etapas de centrifugación adicionales (por ejemplo 3 minutos a 10.000 rpm seguido adecuadamente por 2 minutos a 7.000 rpm, adecuadamente sobre una muestra de 150 microlitros). La focalización isoelectrica es adecuadamente la focalización isoelectrica capilar (cIEF), y se realiza adecuadamente utilizando un sistema iCE280 mediante Proteína Simple.

Métodos de estabilización del anticuerpo

En vista de los puntos anteriormente mencionados en esta sub-sección, y los datos presentados en los ejemplos, la presente invención proporciona también un método de estabilización de composiciones de adalimumab líquidas (químicamente y/o físicamente opcionalmente en relación a uno o más de los parámetros/propiedades anteriormente mencionados), que comprende mezclar adalimumab con cualquiera de los componentes relevantes requeridos para formar una composición farmacéutica como se define en la presente memoria. Diferentes realizaciones requerirán mezclar adecuadamente diferentes combinaciones de componentes, potencialmente en cantidades diferentes, y el experto puede deducir fácilmente tales combinaciones y cantidades por referencia a la divulgación anterior relativa a la composición farmacéutica líquida. Tales combinaciones de diferentes componentes pueden estabilizar composiciones de adalimumab líquidas en diferentes aspectos. Por ejemplo, mezclando adalimumab con los componentes anteriormente mencionados para formar una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria se puede estabilizar adalimumab:

- i) Incrementando la temperatura de desdoblamiento proteico de adalimumab;
- ii) Inhibiendo la formación de agregados;
- iii) Inhibiendo la formación de fragmentos;
- iv) Inhibiendo la formación de partículas sub-visibles (o ≤ 25 micras o ≤ 10 micras);
- v) Inhibiendo la turbidez;
- vi) Inhibiendo cambios de pH;
- vii) Inhibiendo la foto-oxidación; y/o
- viii) Reduciendo la inestabilidad en los ciclos de congelación/descongelación.

Como tal, la presente invención proporciona un método para lograr uno, alguno o todos los beneficios siguientes:

- i) Incremento de las temperaturas de desdoblamiento proteico para adalimumab;
- ii) Inhibición de la formación de agregados;
- iii) Inhibición de la formación de fragmentos;
- iv) Inhibición de la formación de partículas sub-visibles (o ≤ 25 micras ≤ 10 micras);
- v) Inhibición de la turbidez;
- vi) Inhibición de cambios de pH;
- vii) Inhibición de la foto-oxidación;
- viii) Reducción de la inestabilidad en los ciclos de congelación/descongelación; y/o
- ix) Estabilización del perfil de isoformas (especialmente con respecto al "pico principal" como se define en la presente memoria);

el método que comprende la fabricación de una composición farmacéutica líquida de adalimumab como se define en la presente memoria.

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 una temperatura 2-8°C.

Capacidad del experto en la técnica para optimizar propiedades fundamentales de estabilidad

La nueva combinación de componentes divulgada para el uso en composiciones farmacéuticas líquidas de la invención capacita al experto en la técnica para producir (y ajustar con sensatez) composiciones que muestran propiedades comparables o mejoradas relativas a las composiciones de la técnica anterior. En particular la presente divulgación proporciona actualmente al experto en la técnica todas las herramientas necesarias para optimizar la estabilidad de la formulación, y en particular optimizar una o más de: inhibición de la agregación, fragmentación, desdoblamiento proteico, precipitación, bajada de pH, y oxidación (especialmente foto-oxidación). Además, al experto en la técnica se le proporciona orientación de cómo lograr tales optimizaciones (a través de variaciones sensatas de las composiciones) y cómo minimizar, en el proceso, cualquiera de los efectos secundarios perjudiciales. La presente divulgación capacita al experto en la técnica para trabajar en todo el alcance de la invención para producir una variedad de composiciones específicas que muestran propiedades comparables o mejoradas en relación con las composiciones de la técnica anterior, y puede lograrse usando pocos componentes.

Realizaciones Particulares

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato, y un azúcar estabilizador en una razón molar de 1:14-40:288-865 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, un sistema tampón citrato, azúcar estabilizador, y un tonificante en una razón molar de 1:14-40:288-865:28-576 respectivamente. En una realización la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato, azúcar estabilizador, tonificante, y tensioactivo en una razón molar 1:14-40:288-865:28-576:0,1-3,2 respectivamente.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato, y un azúcar estabilizador en una razón molar de 1:14-40:548-605 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, un sistema tampón citrato, azúcar estabilizador, y un tonificante en una razón molar de 1:14-40:548-605:115-173 respectivamente. En una realización la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato, azúcar estabilizador, tonificante, y tensioactivo en una razón molar 1:14-40:548-605:115-173:2-2,4 respectivamente.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, y trehalosa en una razón molar de 1:5,7-145:288-865 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, trehalosa, y cloruro sodico en una razón molar de 1:5,7-145:288-865:28-576 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, trehalosa, cloruro sodico y polisorbato 80 en una razón molar de 1:5,7-145:288-865:28-576:0,002-11 respectivamente.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, y trehalosa en una razón molar de 1:14-40:548-605 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, trehalosa, y cloruro sodico en una razón molar de 1:14-40:548-605:115-173 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, trehalosa, cloruro sodico y polisorbato 80 en una razón molar de 1:14-40:548-605:115-173:2-2,4 respectivamente.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, y trehalosa en una razón molar de 1:28,8:576 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, trehalosa, y cloruro sodico en una razón molar de 1:28,8:576:144 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, sistema tampón citrato sodico/ácido cítrico, trehalosa, cloruro sodico y polisorbato 80 en una razón molar de 1:28,8:576:144:2,2 respectivamente.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato y trehalosa en una razón de peso de 25-75:0,38-9,6:15-140 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato, trehalosa y cloruro sodico en una razón de peso de 25-75:0,38-9,6:15-140:0,5-12 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato, trehalosa, cloruro sodico y polisorbato 80 en una razón de peso de 25-75:0,38-9,6:15-140:0,5-12:0,01-2 respectivamente.

5 En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato y trehalosa en una razón de peso de 45-55:0,96-2,69:65-72 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato, trehalosa y cloruro sódico en una razón de peso de 45-55:0,96-2,69:65-72:2,7-3,1 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato, trehalosa, cloruro sódico y polisorbato 80 en una razón de peso de 45-55:0,96-2,69:65-72:2,7-3,1:0,9-1,1 respectivamente.

10 En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato y trehalosa en una razón de peso de 50:1,9:68 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato, trehalosa y cloruro sódico en una razón de peso de 50:1,9:68:2,9 respectivamente. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende adalimumab, especies tampón citrato, trehalosa, cloruro sódico y polisorbato 80 en una razón de peso de 50:1,9:68:2,9:1 respectivamente.

15 Cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente se refieren a razones molares y/o de peso de los diversos componentes que pueden estar adicionalmente definidos en referencia a la ausencia (sustancial o total) o a bajos niveles del componente o componentes tales como arginina, aminoácidos, tensioactivos (opcionalmente con excepción del polisorbato 80), y/o sistemas/agentes tampón, como se define en cualquier lugar de la presente memoria.

20 Se apreciará que el agente tampón (por ejemplo citrato sódico) o sistema tampón (citrato/ácido cítrico) de cualquiera de las realizaciones anteriormente mencionadas se pueden incorporar directamente en las composiciones o se pueden producir *in situ*, por ejemplo, a través de una reacción ácido base, haciendo reaccionar adecuadamente un ácido conjugado del agente tampón (por ejemplo ácido cítrico) con una base (por ejemplo hidróxido sódico). Independientemente del método utilizado para proporcionar o producir el agente tampón o sistema tampón, adecuadamente la composición resultante comprende al final un equilibrio apropiado del agente tampón y de cualquier ácido/base conjugado para proporcionar el pH deseado. El experto en la técnica será capaz de calcular o determinar experimentalmente de una forma fácil, sin excesivo esfuerzo, el equilibrio apropiado del agente tampón y del ácido/base conjugado, y/o la cantidad de base que se necesita añadir al ácido conjugado para producir la cantidad apropiada del agente tampón y proporcionar el pH deseado.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende:

- 30 - de 45 a aproximadamente 55 mg/mL de adalimumab;
- de 5 a 14 mM de sistema tampón citrato sódico/ácido cítrico;
- de 190 a 210 mM de trehalosa;
- de 40 a 60 mM de cloruro sódico;
- opcionalmente 0,9 mg/mL y 1,1 mg/mL de polisorbato 80; y
- agua (para inyección);
- 35 - en donde la composición:
 - o tiene un pH de entre 5,7 y 5,9;
 - o está (sustancialmente o totalmente) libre de arginina (adecuadamente L-arginina) o comprende arginina a una concentración de como máximo 0,001 mM;
 - 40 o está (sustancialmente o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos (en conjunto) en una concentración de como máximo 0,001 mM.
 - o está (sustancialmente o totalmente) libre de tensioactivos con la excepción opcional del polisorbato 80 o comprende uno o más de dichos tensioactivos (opcionalmente excluyendo al polisorbato 80) en una (conjunto) concentración de como máximo 0,0001 mM; y
 - 45 o está (sustancialmente o totalmente) libre de agentes tampón fosfato (por ejemplo fosfato dihidrógeno sódico, fosfato dihidrógeno disódico) o comprende un sistema tampón fosfato en una concentración de como máximo 0,001 mM.

En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende:

- 50 mg/mL de adalimumab;
- 10 mM de sistema tampón citrato/ácido cítrico;
- 50 - 200 mM de trehalosa;

- 50 mM de cloruro sódico;
- opcionalmente 1,0 mg/mL de polisorbato 80; y
- agua (para inyección);
- en donde la composición:

- 5
 - o tiene un pH de 5,8;
 - o está libre de arginina;
 - o está libre de aminoácidos;
 - o está libre de tensioactivos con la excepción opcional del polisorbato 80; y
 - o está libre de sistemas tampón fosfato.

10 Preferiblemente, la composición farmacéutica líquida consiste esencialmente en:

- 50 mg/mL de adalimumab;
- 10 mM de sistema tampón citrato sódico/ácido cítrico;
- 200 mM de trehalosa;
- 50 mM de cloruro sódico;

- 15 - agua (para inyección);
 - o en donde la composición tiene un pH de 5,8.

Adecuadamente, la composición farmacéutica líquida se puede establecer según cualquiera de las realizaciones precedentes, excepto que la ausencia o niveles bajos del componente o componentes tales como arginina, aminoácidos, tensioactivos (opcionalmente con la excepción de polisorbato 80), y sistemas/agentes tampón fosfato, en lugar de estar definidos en referencia a la concentración o concentraciones (por ejemplo molaridad), se les pueden definir en cambio en referencia a las razones molares correspondientes del componente para el sistema tampón; o las razones molares correspondientes del componente para adalimumab. El experto en la técnica deducirá fácilmente para cada componente, a partir de las secciones relevantes de esta memoria relacionadas con ese componente específico, qué razones molares y de peso corresponden para cada concentración, ya que en la presente memoria se enumeran las razones molares y de peso relevantes que corresponden respectivamente a las concentraciones proporcionadas. Por ejemplo, en el caso de arginina las concentraciones opcionales de “como máximo 0,1 mM, más adecuadamente como máximo 0,01 mM, el más adecuadamente como máximo 0,001 mM” corresponden respectivamente con una razón molar de arginina para el sistema tampón de arginina de “como máximo 1:150...más adecuadamente como máximo 1:1.500, el más adecuadamente como máximo 1:15.000”, con una “razón de peso de arginina para adalimumab de como máximo 1:3.000...más adecuadamente como máximo 1:30.000 y el más adecuadamente 1:300.000”; y con una razón molar de arginina para adalimumab de como máximo 1:3,75...más adecuadamente como máximo 1:37,5, el más adecuadamente como máximo 1:375”. Se aplican las mismas correspondencias para los aminoácidos, tensioactivos y sistemas /agentes tampón.

Método de fabricación de una composición farmacéutica líquida

35 La presente divulgación proporciona un método de fabricación de una composición farmacéutica líquida, como se define adecuadamente en la presente memoria. El método comprende mezclar juntos adecuadamente, en cualquier orden particular considerado apropiado, cualquiera de los componentes relevantes requeridos para formar una composición farmacéutica líquida como se define en la presente invención. El experto en la técnica se puede referir a los Ejemplos o a las técnicas bien conocidos en la técnica para formar composiciones farmacéuticas líquidas (especialmente aquellas para inyección a través de una jeringa). Las diferentes realizaciones requerirán mezclar diferentes combinaciones de componentes, en cantidades potencialmente diferentes. El experto en la técnica puede deducir fácilmente tales combinaciones y cantidades por referencia a la divulgación anterior relativa a la composición farmacéutica líquida.

45 El método implica mezclar juntos adecuadamente los componentes relevantes adecuados, en un diluyente (por ejemplo agua), para que todos los componentes se disuelvan adecuadamente (sustancialmente o totalmente) en el diluyente.

50 El método puede implicar primero preparar una pre-mezcla (o pre-disolución) de algunos o todos los componentes (opcionalmente con algo o todo el diluyente) excluyendo a adalimumab, y puede mezclarse luego adalimumab por sí mismo (opcionalmente o pre-disolverse en algo de diluyente) o con la pre-mezcla (o pre-disolución) para proporcionar la composición farmacéutica líquida, o una composición a la que se añaden luego los componentes

5 finales para proporcionar la composición farmacéutica líquida final. El más adecuadamente, la pre-mezcla contiene todos los componentes excepto el adalimumab y opcionalmente también algo de diluyente (que se puede usar para pre-disolver el adalimumab), para que el adalimumab se añada adecuadamente a la mezcla que ofrece una estabilización óptima de adalimumab. La pre-mezcla anteriormente mencionada se prepara adecuadamente con el pH deseado para la formulación farmacéutica líquida final.

10 Adecuadamente, el método implica formar un sistema tampón, adecuadamente un sistema tampón que comprende un agente tampón como se define en la presente memoria. El sistema tampón se forma adecuadamente en una pre-mezcla anterior a la adición de adalimumab, aunque el sistema tampón se puede formar opcionalmente con el adalimumab presente. El sistema tampón se puede formar a través de una mezcla simple del agente tampón (suministrado ya preparado) con su ácido/base conjugado (adecuadamente en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado – éste se puede determinar por el experto en la técnica bien teóricamente o experimentalmente). En el caso del sistema tampón citrato, esto significa mezclar citrato sódico con ácido cítrico. Alternativamente, el sistema tampón se puede formar a través de la adición de un ácido fuerte (por ejemplo HCl) al agente tampón (por ejemplo citrato sódico) para formar *in situ* el ácido/base conjugado (por ejemplo ácido cítrico) (de nuevo adecuadamente en cantidades relativas adecuadas para proporcionar el pH deseado). Alternativamente, el sistema tampón se puede formar a través de la adición de una base fuerte (por ejemplo hidróxido sódico) al ácido/base conjugado (por ejemplo ácido cítrico) del agente tampón (por ejemplo citrato sódico) para formar *in situ* el agente tampón (de nuevo adecuadamente en cantidades relativas adecuadas para proporcionar el pH deseado). El pH de bien la pre-mezcla o bien la composición farmacéutica líquida final se puede ajustar con sensatez mediante adición de la cantidad de base fuerte o ácido fuerte requerido, o incluso una cantidad de agente tampón o ácido/base conjugado.

25 En ciertas realizaciones, el agente tampón y/o sistema tampón se realiza como una mezcla separada, y el sistema tampón se transfiere a un precursor de la composición farmacéutica líquida (que comprende alguno o todos los componentes reservados para el agente tampón y/o sistema tampón, que comprende adecuadamente adalimumab y potencialmente sólo adalimumab) a través de intercambio tampón (por ejemplo utilizando diafiltración hasta que se alcancen las concentraciones u osmolaridades relevantes). Después se pueden añadir si es necesario excipientes adicionales para producir la composición farmacéutica líquida final. El pH se puede ajustar antes o después de que todos los componentes estén presentes.

30 Cualquier, alguno, o todos los componentes se pueden pre-disolver o pre-mezclar con un diluyente antes de mezclarlos con otros componentes.

La composición farmacéutica líquida final se puede filtrar, para eliminar adecuadamente partículas de materia. Adecuadamente la filtración es a través de filtros de tamaño de 1µm o menos, adecuadamente de 0,22µm. Adecuadamente, la filtración es a través bien de filtros PES (polietersulfona) o bien de filtros PVDF (polivinilideno fluoruro), adecuadamente con filtros PES 0,22 µm.

35 La presente divulgación proporciona también una composición farmacéutica líquida obtenible por, obtenida por, o directamente obtenida mediante, el método de fabricación que se describe en la presente memoria.

Dispositivo de suministro del Fármaco

40 La presente invención proporciona un dispositivo de suministro del fármaco que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria. El dispositivo de suministro del fármaco comprende adecuadamente una cámara en la que se encuentra la composición farmacéutica. El dispositivo de suministro del fármaco es adecuadamente estéril.

45 El dispositivo de suministro del fármaco puede ser un vial, ampolla, jeringa, bolígrafo de inyección (por ejemplo que incorpora esencialmente una jeringa), o bolsa intravenosa. El dispositivo de suministro del fármaco más adecuado es una jeringa, adecuadamente un bolígrafo de inyección. Adecuadamente la jeringa es una jeringa de vidrio. La jeringa comprende adecuadamente una aguja, adecuadamente una aguja 29G ½”.

50 La presente divulgación proporciona un método de fabricación de un dispositivo de suministro del fármaco, adecuadamente como se define en la presente memoria, el método que comprende incorporar una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria dentro de un dispositivo de suministro del fármaco. Tal fabricación implica normalmente cargar la composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria a una jeringa, adecuadamente a través de una aguja fijada a ella. La aguja se puede después eliminar, reemplazar, o mantener.

La presente divulgación proporciona un dispositivo de suministro del fármaco obtenible por, obtenido por, o directamente obtenido mediante el método de fabricación que se describe en la presente memoria.

Envase

55 La presente divulgación proporciona un envase que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria. El envase comprende adecuadamente un dispositivo de suministro del fármaco

como se describe en la presente memoria, adecuadamente una pluralidad de dispositivos de suministros del fármaco. El envase puede comprender cualquier recipiente adecuado para contener uno o más dispositivos de suministro del fármaco.

5 La presente divulgación proporciona un método para fabricar un envase, el método que comprende incorporar una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria dentro de un envase. Esto se logra adecuadamente incorporando dicha composición farmacéutica líquida en uno o más dispositivos de suministro del fármaco e incorporando después el único o más dispositivos de suministro del fármaco pre-llenado en un recipiente presente en el envase.

10 La presente divulgación proporciona un envase obtenible por, obtenido por, o directamente obtenido por un método de fabricación que se define en la presente memoria.

Piezas del Kit

15 La presente divulgación proporciona un dispositivo de suministro del fármaco que comprende unas piezas del kit (sin la composición farmacéutica líquida incorporada en ella), una composición farmacéutica líquida como se define en la presente memoria (contenida opcionalmente en un envase o recipiente separado), y opcionalmente un conjunto de instrucciones con directrices referentes a la administración (por ejemplo sub-cutánea) de la composición farmacéutica líquida. El usuario puede llenar luego el dispositivo de suministro del fármaco con la composición farmacéutica líquida (que se puede proporcionar en un vial o ampolla o similar) antes de la administración.

Usos de la Composición Farmacéutica Líquida y Métodos de Tratamiento

20 La presente divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno médico; una composición farmacéutica líquida para usar en terapia; un uso de la composición farmacéutica líquida en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno; un método para tratar una enfermedad autoinmune relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α); una composición farmacéutica líquida para el uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α); un uso de una composición farmacéutica líquida en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor de factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α); un método para tratar la artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; y un uso de una composición farmacéutica líquida en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; como se define en la presente memoria.

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

35 Adecuadamente las composiciones farmacéuticas líquidas se administran parenteralmente, adecuadamente a través de inyección sub-cutánea.

Ejemplos

Materiales y Equipamiento

40 Los siguientes materiales se usaron en la preparación de las formulaciones descritas en los Ejemplos (y Ejemplos Comparativos) que siguen:

| Ingrediente |
|---------------------------------------|
| Adalimumab DS |
| Monohidrocloruro de arginina |
| Acido aspártico |
| Acido cítrico monohidratado |
| Fosfato de sodio dibásico dihidratado |
| Hidrocloruro de lisina |
| Manitol |

ES 2 607 489 T3

| |
|---|
| Fosfato de sodio monobásico dihidratado |
| Poloxámero 188 |
| Polisorbato 80 |
| Cloruro sódico |
| Citrato sódico |
| Disolución de hidróxido sódico 30% |
| Trehalosa dihidratada |
| WFI |

Se usaron el equipamiento y materiales desechables siguientes en los Ejemplos (y Ejemplos Comparativos) y Experimentos de Cribado que siguen:

| Objeto | Código | Proveedor |
|--|--|------------------|
| Tubos Eppendorf (0,5 mL, 1,5 mL, 2,0 mL) | NA | Eppendorf |
| Falcon | 352096 (15 mL), 352070 (50 mL) tubos de polipropileno | Becton Dickinson |
| Membrana PES (0,22 µm) unidad de filtro | Membrana MillexGP Express PES REF SLGP033RS | Millipore |
| Frascos PETG | 3420-1000, 3420-0500, 2019-0250, 3420-0125, 3420-0060, 2019-0030 | Nalgene |

5 Se usó el siguiente envase en los Ejemplos (y Ejemplos Comparativos) y Experimentos de Cribado que siguen.

| Objeto | Código | Proveedor |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|
| Vial de vidrio Tipo I DIN2R | 0212060.6112 11200000A | Nuova Ompi |
| Tapa de 1 mL | S2-F451 RSV; D 21-7S RB2-40 | Daikyo Seiko, LTD |
| Tapón a presión de 13mm | 12000350 | MS-A |

Se usó el siguiente equipamiento en los Ejemplos (y Ejemplos Comparativos) y Experimentos de Cribado que siguen.

| Objeto | Modelo | Fabricante |
|-----------------------------------|------------------------|-----------------------|
| Balanzas analíticas | AX205, PG2002-S | Mettler Toledo |
| Instrumento de xenón de sobremesa | 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 |

| | | |
|-------------------------|-------------|-----------------|
| pHmetro | Seven Multi | Mettler Toledo |
| Refrigeradores | +2-8°C | Angelantoni |
| Software Design Expert | ver. 7.1.5 | Stat-Ease, Inc. |
| Cabinas termostáticas | +25°C,+40°C | Angelantoni |
| Turbidímetro | 2100AN IS | Hach Lange |
| Espectrofotómetro de UV | Lambda 35 | Perkin Elmer |

Técnicas Analíticas y Protocolos

Se emplearon los siguientes métodos analíticos y protocolos, en los Ejemplos (y Ejemplos Comparativos) y Experimentos de Cribado que siguen, para las razones indicadas en la tabla de abajo:

| Nº de Método | Método Analítico | Alcance de ensayo |
|--------------|-------------------------|-------------------------------|
| 1 | Bioanalizador | Pureza |
| 2 | DSF | Temperatura de desdoblamiento |
| 3 | iCE280 | Perfil de isoformas |
| 4 | OD | Contenido Proteico |
| 5 | SE-HPLC | Determinación de agregados |
| 6 | Nefelometría | Turbidez |
| 7 | Osmolalidad | Disolución de osmolalidad |
| 8 | pH | Determinación del pH |
| 9 | Partículas sub-visibles | Recuento de partícula |

5

Se describen abajo los protocolos individuales para cada uno de los métodos analíticos anteriores y a su vez, referencias en los Ejemplos (y Ejemplos Comparativos) y Experimentos de Cribado para cualquiera de tales métodos analíticos que usan estos protocolos.

1. *Pureza-Bioanalizador*

10 Se usó un Bioanalizador A2100. Los protocolos se encontraron en el manual de instrucciones relevante. Sin embargo, los protocolos se han perfeccionado como sigue.

Disoluciones:

Mezcla del Gel-Tinte (Disolución de tinción):

15 Añadir 25 µL del tinte concentrado 230plus al tubo de gel matriz 230plus proteico. Agitar bien, y centrifugar el tubo durante 15 segundos. Transferir a un filtro de centrifugación y centrifugar a 2.500 rpm durante al menos 20 minutos. La disolución está lista para usar. Almacenar la disolución a +5 ±3°C durante no más de 4 semanas.

Disolución de Tinción:

Pipeta de 650µL de gel matriz en un filtro de centrifugación. Centrifugar a 2.500 rpm durante al menos 25 minutos. Almacenar la disolución a +5 ±3°C durante no más de 4 semanas.

20 Muestra Tampón:

Se recomienda dividir la muestra tampón de 200 µL en alícuotas de 25 µL y descongelar la alícuota para cada chip. Almacenar la disolución de reserva de la muestra tampón y las alícuotas a -20°C, no más de la fecha de caducidad proporcionada por el proveedor.

Disolución de Reserva de Maleimida:

5 Disolver 23,4 mg de Maleimida en 1 mL de agua MiliQ (0,24 M). Agitar bien la disolución. Posteriormente diluir la disolución 1:4 con agua MiliQ (por ejemplo 50 µL de Disolución Reserva + 150 µL MiliQ). La concentración final de la disolución de Maleimida diluida es 60 mM. (Ya que no hay datos disponibles aún sobre la estabilidad de esta disolución, se debe preparar nuevamente antes del comienzo de cada sesión analítica).

Disolución-OTf

Para el análisis de las muestras de Adalimumab las disoluciones reductoras se deben preparar con DTT 1 M, por lo tanto disolver 154,0 mg de DTT en 1 mL agua MiliQ.

Disolución No-reductora:

10 Añadir 1 µL de Agua MiliQ a la muestra alícuota tampón (25 µL) y agitar durante 5 segundos. Usar la disolución no-reductora en su día de preparación.

Disolución Reductora:

Añadir 1 µL de la correspondiente Disolución-Dtf a la alícuota de la muestra tampón (25 µL) y agitar durante 5 segundos. Usar la disolución reductora en su día de preparación.

15 Preparación de la Muestra:

- Se analizan las muestras a la concentración de un intervalo entre 2,4-3 mg/mL.
- Si es necesario se pueden diluir las muestras a la concentración diana utilizando agua MiliQ.

20 Las muestras se preparan según la Guía de Kit de Reactivos utilizando las muestras tampón reductoras y no reductoras según las instrucciones de la Guía de Kit de Reactivos también mencionada anteriormente. Está claramente recomendado usar, de manera distinta a la guía, mayores volúmenes para lograr resultados reproducibles y precisos. Se presenta abajo un ejemplo de cómo preparar la escalera y las muestras:

Preparación de la muestra de la disolución en condición Reductora y No-Reductora

| Reactivo | Volumen µl | Volumen Total µL |
|---|---------------|---------------------|
| Muestra diluida a 3mg/mL | 3 µL | 6 µL |
| Muestra tampón (reductora o no reductora) | 2 µL | |
| Disolución Maleimida | 1 µL | |
| Las muestras se tienen que mezclar bien (mediante agitación) y centrifugar Todas las Muestras y Escaleras se calientan 5 minutos a 70°C | | |
| agua MilliQ | 84 µL | 90 µL |
| Agitar bien y centrifugar Cargar 6 µL de Todas las Muestras y Escaleras | | |

25 Nota 1: para los IPCs de aquellas concentraciones entre 2,4 mg/mL y 3 mg/mL, la preparación de la muestra sigue la tabla anterior pero el volumen de agua MiliQ añadida después de calentar la muestra se calcula para lograr una concentración proteica final de 0,1 mg/mL.

Se presenta aquí abajo un ejemplo de preparación de una muestra para una muestra que tiene una concentración entre 2,4 y 3,0 mg/mL:

Preparación de la disolución de la muestra en condición Reductora y No-Reductora

| Reactivo | Volumen µl | Volumen Total µL |
|---|---------------|---------------------|
| Muestra (2,6 mg/mL) | 3 µL | 6 µL |
| Muestra tampón (reductora o no reductora) | 2 µL | |
| Disolución Maleimida | 1 µL | |
| Las muestras se tienen que mezclar bien (mediante agitación) y centrifugar Todas las Muestras y las Escaleras se calientan 5 minutos a 70°C | | |
| agua MilliQ | 72 µL | 78 µL |
| Agitar bien y centrifugar Cargar 6 µL de Todas las Muestras y Escaleras | | |

Nota 2: Se tiene que cargar todos los pocillos. Si el número de muestras es menor que los pocillos disponibles, los pocillos vacíos se pueden usar para duplicados adicionales o muestras en vacío. Preparación del Sistema y el Chip:

- 5 - Limpiar el sistema antes así como también después de completar un análisis del "Electrodo Limpiador" con 600 ILL de Agua MiliQ y colocarlo en el Bioanalizador Agilent 2100, cerrar la cubierta y dejar al sistema terminar. No se requiere otra acción.
- Ajustar el plato-base de la estación de preparación del chip a la posición "A" y la pinza de la jeringa en su posición media.

10 Preparación del chip

| |
|---|
| Sistema de preparación |
| Insertar un Nuevo Chip Proteico en la estación de preparación |
| Pipeta de 12µL de Mezcla Gel-Tinción en el pocillo marcado G (Arriba a la derecha) |
| Fijar el émbolo a 1 mL y cerrar la estación de preparación del chip |
| Presionar el émbolo hasta que se ocupe por la pinza |
| Esperar 60 segundos y soltar entonces la pinza |
| Esperar 5 segundos y presionar lentamente de nuevo el émbolo a la marca de 1 mL |
| Abrir la pinza de la estación de preparación |
| Eliminar la disolución en este pocillo |
| Pipeta de 12µL de Mezcla de Gel-Tinción en el pocillo marcado G (Arriba a la derecha) y en todos los pocillos remanentes marcados con G |
| Pipeta de 12µL de Disolución de Tinción en el pocillo marcado con DS |

Carga de la Escalera y la Muestra:

- Transferir 6 µL de cada muestra en un pocillo de muestra así como 6 µL de la escalera en el pocillo indicado, que está claramente indicado con un símbolo escalera.

- 15 Colocar el chip en el Bioanalizador Agilent 2100 y comenzar el análisis en 5 minutos.

Ejemplo del conjunto de la muestra

| Pocillo | Muestra | Cantidad μL |
|-----------------|-------------------------------------|------------------------|
| 1 | Vacio | 6 |
| 2 | Vacio | 6 |
| 3 | Muestra 1 desconocida rep1 | 6 |
| 4 | Muestra 1 desconocida rep2 | 6 |
| 5 | Muestra 2 desconocida rep1 | 6 |
| 6 | Muestra 2 desconocida rep2 | 6 |
| 7 | Muestra 3 desconocida rep1 | 6 |
| 8 | Muestra 3 desconocida rep2 | 6 |
| 9 | Material de Referencia Vigente rep1 | 6 |
| 10 | Material de Referencia Vigente rep2 | 6 |
| Escalera | Escalera | 6 |

Datos de los Análisis y evaluación de los resultados:

Para obtener resultados se tienen que ejecutar como mínimo las siguientes operaciones

- 5
 - Colocar el chip en el lugar específico y cerrar la cubierta.
 - En el instrumento de Ensayo de contexto seleccionado – Electroforesis-Proteína-Proteína 230 Plus.
 - Apretar START para comenzar el análisis, que se completa en 30 minutos.
 - Los datos en bruto se muestran apretando “Datos de Análisis” donde se enumeran todos los experimentos, llevados a cabo hasta el momento. Apretar en el experimento de interés y seleccionarlo.
- 10
 - El gel que se genera a partir del experimento elegido se abre automáticamente.
 - Los datos se pueden mostrar como un electroferograma o una imagen tipo gel.

En el manual del programa informático se incluye información detallada sobre la integración de los picos en el electroferograma (para obtener los datos puros). La pureza de una muestra se proporciona automáticamente por el sistema mediante integración automática, pero si es necesario, se puede aplicar el manual de integración.

15 Resultados:

En condición no reductora los resultados se indican como %Pureza, y %LMW (suma de los picos antes del monómero).

En condición reductora los resultados indican como %Pureza, como suma de la cadena pesada (HC) y la cadena ligera (LC).

20 Los valores indicativos del peso molecular se presentan en la tabla de abajo:

Peso molecular indicativo de Adalimumab

| Condición | Resultados | KDa |
|---------------------|------------|-----|
| No reductora | Monomero | 151 |
| Reductora | LC | 27 |
| | HC | 58 |

2. Temperatura de Desdoblamiento-DSF

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

5 2 microlitros de Naranja Sypro (tinte gel proteína Naranja), cod. S6650, Life Technologies) previamente diluidos 500 veces en agua para inyección, se añadieron a 20 µL de la disolución del producto farmacológico. En la adición de Naranja Sypro, se llenaron las disoluciones DP (preparación por triplicado) en placas de 96 pocillos (MicroAmp Fast 96-W Reaction Plate 0,1 mL, cod. 4346907). Las placas se sellaron luego con una cubierta transparente, protectora (Película Adhesiva MicroAmp Optical, cod. 4311971) y se sometieron a centrifugación para eliminar las burbujas de aire. Las placas se insertaron luego en el sistema PCR Applied Biosystem 7500 Fast Real-Time AB y se escanearon para la emisión de los perfiles a temperaturas desde temperatura ambiente hasta 90-100°C. La dependencia de la intensidad de emisión de la fluorescencia sobre la temperatura es una curva que muestra normalmente un punto de inversión/discontinuación a la temperatura de desnaturalización, parámetro que se utiliza para comparar las diferentes composiciones

3. Perfil de isoformas-iCE280

cIEF mediante iCE280 (perfil de isoformas): Después de la purificación y eliminación de sales con centrifugación en dispositivos centrifugos Amicon Ultra-4 (punto de corte de 10 kDa), las muestras se pre-diluyeron con agua purificada a la concentración de 5,0 mg/mL. Luego se preparó una segunda dilución a 1,0 mg/mL con una disolución compuesta de: metil celulosa, Pharmalyte 5-8 (GE Healthcare), Pharmalite 8-10,5 (GE Healthcare), bajo marcador pI 7,05 (Proteína Simple), alto marcador pI 9,50 (Proteína Simple) y agua purificada. Las muestras en disolución se centrifugaron a 10.000 rpm durante 3 minutos. Luego se realizó una etapa de centrifugación adicional (2 minutos a 7.000 rpm) en 150 µL de cada muestra transferida en piezas de vidrio. El cIEF (focalización isoelectrica capilar) se llevó a cabo con el sistema iCE280 mediante Proteína Simple, utilizando cartuchos Fc con un recubrimiento ID de 100 micras y una longitud total de 50 nm (Cat. Nº. 101700/101701 mediante Proteína Simple). La separación de las distintas isoformas se realiza utilizando hidróxido sódico 100 mM (en 0,1% de metil celulosa) como una disolución catódica y ácido o-fosfórico 80 mM (en 0,1% de metil celulosa) como una disolución anódica. Se obtiene el electroferograma a 280 nm durante tiempos de pre-focalización y focalización de 1 y 6 minutos respectivamente, a un voltaje de 1.500 V (pre-focalización) y 3.000 V (focalización).

4. Contenido proteico-OD

Las mediciones OD (contenido proteico) se determinaron en muestras que se diluyeron inicialmente gravimétricamente (se realizaron diluciones triplicadas independientes) con tampón relevante o placebo a partir de la concentración de comienzo hasta aproximadamente 10 mg/mL. Las disoluciones diluidas se ensayaron por absorbancia a 280 y 320 nm en cubetas de cuarzo de 0,1 cm de longitud, a temperatura ambiente, con un espectrofotómetro de doble haz (Lambda35 por Perkin Elmer). Se usó el valor de 1,35 como el coeficiente de extinción molar de Adalimumab.

5. Determinación de agregados-SE-HPLC

Las muestras se diluyeron con DPBS 1X a una concentración de 0,5 mL y se inyectaron (volumen de inyección de 20 µL) en una Columna TSK de gel Super SW3000 4,6 mm ID X30,0 cm cod. 18675 mediante condiciones isocráticas de mantenimiento Tosoh (fase móvil: Fosfato Sódico 50 mM + perclorato Sódico 0,4 M, pH 6,3 ± 0,1). La detección UV se realizó a 214 nm a un caudal de 0,35mL. La duración de cada serie analítica fue de 15 minutos. Antes del análisis las muestras se mantuvieron a 2-8°C en el cargador de muestras automático del sistema HPLC Alliance Waters utilizado para este ensayo.

6. Turbidez-Nefelometría

La turbidez se ensayó mediante nefelometría (efecto basado en el efecto de difusión de la luz causado por partículas con dimensiones normalmente < 1µ) se realizaron mediciones con un Turbidímetro 2100AN IS de Hach a temperatura ambiente. Se colocaron cantidades mínimas de 3 mL de la disolución en cubetas de vidrio

de volumen reducido y se ensayaron mediante efecto de difusión después de la calibración anterior del instrumento con una serie de disoluciones estándar (0,1-7500 NTU).

7. *Determinación de la osmolalidad-Osmolalidad*

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

8. *Determinación del pH-pH*

10 El pH se determinó utilizando mediciones potenciométricas realizadas a temperatura ambiente con pHmetros Seven Multi Mettler Toledo.

9. *Recuento de partículas-partículas Sub-visibles*

Las muestras se diluyeron 5 veces con agua purificada hasta un volumen final de 25 mL. Se determinó el número de partículas a temperatura ambiente mediante PAMAS SVSS por Aminstrumens recopilando cuatro recorridos independientes y los resultados promedio para cada fracción dimensional respectiva de interés.

15 **Ejemplo 1 – Formulaciones para el cribado de la primera formulación**

El siguiente primer conjunto de formulaciones (a menudo referido en la presente memoria como formulaciones DoE1) se muestra en la Tabla 1 de abajo.

Tabla 1: Lista de formulaciones DoE1 para posteriores Experimentos de Cribado 1

| Formulación N° | Sal (NaCl) conc (mM) | Tipo de tampón (10mM) | pH | Estabilizador |
|----------------|----------------------|-----------------------|-----|---|
| 11 | 25 | Citrato | 5,4 | Trehalosa dihidratada (200mM) |
| 12 | 25 | Citrato | 5,4 | Monohidrocloreuro de arginina +Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) |
| 13 | 75 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) |
| 14 | 50 | Citrato | 5,6 | Hidrocloreuro de lisina (100 mM) |
| 15 | 100 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) |
| 16 | 100 | Citrato | 5,8 | Hidrocloreuro de lisina (100 mM) |
| 17 | 75 | Citrato | 5,8 | Monohidrocloreuro de arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) |

20 Las formulaciones de la Tabla 1 se prepararon a partir de material DS preformulado, libre de tensiactivo.

Las alícuotas de DS se sometieron a diafiltración con tampón citrato sódico 10 mM/ácido cítrico 10 mM a pH 5,2 hasta que se alcanzó un volumen de intercambio de 3 veces el tampón. Después se añadieron los excipientes requeridos para los materiales DS de intercambio-tampón y se ajustó el pH al pH diana mediante adición de una disolución diluida de hidroxido sódico. Cada formulación se filtró a través de filtros PES 0,22 µm.

25 En la Tabla 2, se presentan los resultados en términos de material de recubrimiento y la osmolalidad durante los 3 intercambios tampón de materiales DS.

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

| Tampón | Después del intercambio | | | | Recubrimiento (%) | Osmolalidad (mOsm/kg) | | |
|---------|----------------------------|-------------------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------------|
| | Volumen DS de partida (mL) | Concentración DS de partida (mg/mL) | Proteína tratada (mg) | Volumen final (mL) | | | Concentración final (mg/mL) | Proteína recubierta (mg) |
| Citrato | 200 | 63,3 | 12.660 | 200 | 54,5 | 10.900 | 86 | 39 |

Hubo un buen recubrimiento para el tampón citrato sódico ($\leq 90\%$). Los valores de osmolalidad indican el grado satisfactorio de intercambio del tampón alcanzado, con un mínimo de residuo de especies provenientes de DS original.

Ejemplo 2 – Formulaciones para el cribado de la segunda formulación

5 El siguiente segundo conjunto de formulaciones (a menudo referido en la presente memoria como formulaciones DoE2) se muestra en la Tabla 3 (como se deriva a partir de la Tabla 4 de abajo).

Tabla 3: Lista de formulaciones DoE2 para posteriores Experimentos de Cribado 2 (formulaciones derivadas a partir de las presentadas en la Tabla 4 con el tensioactivo extra indicado)

| Formulaciones | Concentración de Polisorbato 80 (mg/mL) | | |
|---|---|-----|---|
| | 0 | 0,5 | 1 |
| Formulación 4 (derivada de la Formulación B, Tabla 4) | x | - | - |
| Formulación 5 (derivada de la Formulación B, Tabla 4) | - | x | - |
| Formulación 6 (derivada de la Formulación B, Tabla 4) | - | - | x |

10 **Tabla 4:** Prototipo de formulación derivada del cribado DoE1

| Formulación | Sal (NaCl) mM | Tipo tampón (10 mM) | pH | Estabilizador |
|-------------|---------------|---------------------|-----|--------------------------------|
| B | 100 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) |

Las formulaciones DoE2 (Tabla 3) se prepararon a partir de material DS preformulado, libre de tensioactivo.

15 Tres alícuotas del material DS se sometieron a diafiltración hasta que se alcanzó un volumen de intercambio de 3 veces el tampón. Después se añadieron los excipientes requeridos para los materiales DS de intercambio-tampón y se ajustó el pH al pH diana mediante adición de una disolución diluida de hidróxido sódico. Cada formulación se filtró a través de filtros PES 0,22 μm .

En la Tabla 5, se presentan los resultados en términos de material de osmolalidad y turbidez durante el intercambio tampón de materiales DS.

20 Los valores de osmolalidad (≤ 40 mOs/kg) indicaron el grado satisfactorio de intercambio del tampón alcanzado, con un mínimo de residuo de especies provenientes de DS original.

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

| Tampón | Turbidez (NTU) | Osmolalidad (mOsm/kg) |
|---------|----------------|-----------------------|
| Citrato | 52 | 42 |

Ejemplo 3 – Formulaciones Comparativas para el primer y segundo cribado

25 Con los objetivos de comparación y control, se prepararon y obtuvieron tres formulaciones de referencia, incluyendo Ref-1 (composición Humira® fabricada por el Solicitante); Ref-2 (producto farmacológico comercial Humira®-RMP US de los E.E.U.U.); y Ref-3 (producto farmacológico comercial Humira®-RMP EU de EU). Todas estas formulaciones de referencia tenían la composición que se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6: Composición de Humira DP

| Ingrediente | Cantidad por recipiente (mg) (volumen de llenado= 0.8 mL) | Cantidad(mg/mL) |
|---|---|-----------------------------------|
| Adalimumab | 40 | 50 |
| Ácido Cítrico Monohidrato | 1,04 | 1,3 |
| Fosfato de sodio dibásico dihidratado | 1,22 | 1,53 |
| Manitol | 9,6 | 12 |
| Fosfato de sodio monobásico dihidratado | 0,69 | 0,86 |
| Polisorbato 80 | 0,8 | 1 |
| Cloruro sódico | 4,93 | 6,16 |
| Citrato sódico | 0,24 | 0,3 |
| WFI e hidróxido sódico | c.p. para ajustar el pH hasta 5.2 | c.p. para ajustar el pH hasta 5,2 |

Cribado

5 Un cribado de la primera formulación (DoE1) condujo a la identificación de varios factores (por ejemplo pH, presencia de NaCl, tipo de excipiente) responsables de la estabilidad proteica, y finalmente a la selección de formulaciones para proseguir en un segundo cribado (DoE2), que pretendían ajustar y evaluar como los tensioactivos tales como el Polisorbato 80 podían impactar en la estabilidad de la proteína.

10 Cada uno de los dos cribados implicaron varios ensayos analíticos como se define antes en la presente invención y referido más adelante, en un intervalo de formulaciones diferentes que se expusieron a diferentes niveles de estrés térmico, mecánico y lumínico durante periodos de tiempo prolongados (por ejemplo 1 mes). Estos cribados de formulación capacitaron la recopilación de una cantidad significativa de datos, que proporcionaron valiosas y sorprendentes aportaciones permitiendo el desarrollo de nuevas formulaciones ventajosas.

Los resultados de los cribados de las dos formulaciones se presentan abajo.

15 **Cribado del Experimento 1 – Análisis y Cribado de formulaciones del Ejemplo 1 frente a Formulaciones Comparativas del Ejemplo 3**

Antes del cribado DoE (Etapa 1) se evaluó el efecto que la fuerza iónica (proporcionada por NaCl), el pH y los diferentes estabilizadores ejercen sobre la proteína en el transcurso de los estudios de estabilidad a corto plazo.

Se aplicó el diseño estadístico Óptimo- respuesta de superficie D. Se consideraron tres factores:

- 20
- Longitud iónica (conducida por la concentración de NaCl, que varió en el intervalo 25 mM-100 mM y se estableció como un factor numérico),
 - pH (se investigó el intervalo 5,4-6,4 tamponado por citrato);
 - Estabilizador/Excipiente (factor categórico que comprende varios niveles: Hidrocloruro de lisina + Ácido Aspártico, Manitol, Trehalosa dihidratada).

25 Estas formulaciones se prepararon, como se describe en el Ejemplo 1 anterior, comenzando a partir de DS sin Polisorbato 80 y por lo tanto libre de tensioactivo.

La Tabla 7 de abajo resume las formulaciones ensayadas en este cribado. Además de las 7 formulaciones propuestas, se analizaron también dos controles como comparadoras:

- 30
- Producto farmacológico comercial Humira DP (Formulado según el Ejemplo 3 anterior)
 - Sustancia farmacológica MS formulada como DP comercial Humira (Formulada según el Ejemplo 3 anterior)

Tabla 7: Lista de formulaciones cribadas DoE1 (Etapa 1) mediante condiciones de estrés térmico (estabilidad a 40°C) y determinación del mayor rendimiento de la temperatura de desdoblamiento proteico (DSF).

| Formulación N° | Sal (NaCl) conc (mM) | Tipo de tampón (10 mM) | pH | Estabilizador |
|-----------------------|---|------------------------|-----|--|
| 11 | 25 | Citrato | 5,4 | Trehalosa dihidratada (200mM) |
| 12 | 25 | Citrato | 5,4 | Monohidrocloruro de arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) |
| 13 | 75 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) |
| 14 | 50 | Citrato | 5,6 | Hidrocloruro de lisina (100 mM) |
| 15 | 100 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) |
| 16 | 100 | Citrato | 5,8 | Hidrocloruro de lisina (100 mM) |
| 17 | 75 | Citrato | 5,8 | Monohidrocloruro de arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) |
| Ref-1 (MS) | Composición Humira (formulación preparada con la Sustancia Farmacológica MS)- Ejemplo 3 | | | |
| Ref-2 (RMP US) | DP Humira comercial (USA)- Ejemplo 3 | | | |
| Ref-3 (RMP EU) | DP Humira comercial (EU) – Ejemplo 3 | | | |

5 Las formulaciones se ensayaron según el plan presentado en la Tabla 8. Se consideró el estrés térmico hasta 1 mes a 40°C. El ensayo de alto rendimiento hecho con la técnica DSF (destinada a un cribado rápido basado en la determinación de la temperatura de desdoblamiento proteico) se realizó a T0.

Tabla 8: Tabla de los ensayos analíticos preliminares llevados a cabo en formulaciones DoE (Etapa 1): condiciones de estrés térmico de 1 mes a 40°C.

| Acelerados (40°C) | | Tiempo de estabilidad (semanas) | | |
|-------------------|---------------------|---------------------------------|----|----|
| Métodos | Ensayo | 0 | 2s | 4s |
| OD | Contenido | x | - | x |
| SE-HPLC | Agregados | x | x | x |
| Bionalizador | Pureza | x | x | x |
| pH | pH | x | x | x |
| Osmolalidad | Osmolalidad | x | - | - |
| DSF | T de Desdoblamiento | x | - | - |

10 1.1 Cribado de Osmolalidad

La osmolalidad de las formulaciones DoE1 compuestas en un inicio a partir de materiales DS de intercambio tampón (par. 5.1.1) se indican en la Tabla 9.

Muchas formulaciones se encontraban en el intervalo de osmolalidad de 250-400 mOsm/kg, mientras se observaron valores ligeramente mayores en las concentraciones de cloruro sódico más altas.

15

Tabla 9: Osmolalidad (mOsm/kg) registrada a tiempo 0 para el cribado de formulaciones DoE1

| Formulación N° | Sal (NaCl) conc (mM) | Tipo de tampón (10 mM) | pH | Estabilizador | Tiempo 0 |
|---|----------------------|------------------------|-----|--|--------------|
| 11 | 25 | Citrato | 5,4 | Trehalosa dihidratada (200mM) | 0,340 |
| 12 | 25 | Citrato | 5,4 | Monohidrocloruro de arginina +Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) | 0,276 |
| 13 | 75 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) | 0,422 |
| 14 | 50 | Citrato | 5,6 | Hidrocloruro de lisina (100 mM) | 0,331 |
| 15 | 100 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) | 0,473 |
| 16 | 100 | Citrato | 5,8 | Hidrocloruro de lisina (100 mM) | 0,432 |
| 17 | 75 | Citrato | 5,8 | Monohidrocloruro de arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) | 0,372 |
| Referencia propia (composición Humira, Merck Serono DS) | | | | | 0,374 |
| Humira RMP (USA) | | | | | NA |
| Humira RMP (EU) | | | | | 0,310 |

1.2 Contenido Proteico

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

- 5 La FIG. 1 es un gráfico de barras que muestra el contenido proteico (mg/mL) de las formulaciones DoE1 (de Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (que representan formulaciones HUMIRA® comparadoras), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 4 semanas (barras rojas) de haber calentado las formulaciones a 40°C.

- 10 Los resultados presentados en la FIG. 1, indicaron que no se producían cambios significativos a lo largo del tiempo. Todas las concentraciones estaban en consonancia con la concentración diana de 50 mg/mL.

1.3 Agregación (SE-HPLC)

- 15 La FIG. 2 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (que representan formulaciones HUMIRA® comparadoras), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras naranjas) de haber calentado las formulaciones a 40°C. En la FIG. 2 se representa gráficamente el total de agregados observados mediante SE-HPLC sobre la estabilidad a 40°C. Se observaron en todas las formulaciones un aumento mínimo en la agregación. Sin embargo, incluso después de 1 mes, todos los niveles de agregación ascendieron menos de 1%.

1.4 Fragmentación (Bioanalizador)

- 20 La FIG. 3 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, como se determinó mediante un Bioanalizador, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (que representan formulaciones HUMIRA® comparadoras), a un punto de comienzo arbitrario (barras azul oscuro, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rosas) y 4 semanas (barras azul claro) de haber calentado las formulaciones a 40°C.

- 25 En la FIG. 3, se presenta la variación de fragmentos a lo largo del tiempo como se determinó mediante un Bioanalizador. Las formulaciones a pH más ácido tienden a sufrir tasas de fragmentación más rápidas. Por otra parte, la presencia de aminoácidos a este intervalo de pH puede empeorar considerablemente el perfil de estabilidad. El efecto negativo de las especies aminoacídicas también se confirma a pH 5,4 (Formulación 12).

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

- 30 Los datos se analizaron por medio de ANOVA que confirmó la significancia estadística del factor de pH (valor-p < 0,001), indicaban también que valores de pH > 5,0 podrían destinarse para minimizar la fragmentación.

El cloruro sódico no se encontró ser un factor crítico para la estabilidad en el intervalo de 25-100 mM.

1.5 Cribado de pH

5 La Tabla 10 muestra el pH de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (que representan formulaciones HUMIRA® comparadoras), a un punto de comienzo arbitrario (tiempo=0) y después de 2 semanas y 4 semanas de haber calentado las formulaciones a 40°C.

Como se puede ver en la Tabla 10, no se observaron desviaciones desde el pH diana.

Tabla 10: pH de las formulaciones de cribado DoE1 determinado durante la estabilidad a 40°C

| Formulación N° | Sal (NaCl) conc (mM) | Tipo de tampón (10 mM) | pH | Estabilizador | Tiempo de estabilidad | | |
|---|----------------------|------------------------|-----|---|-----------------------|----------------|----------------|
| | | | | | Tiempo 0 | 2 semanas 40°C | 4 semanas 40°C |
| 11 | 25 | Citrato | 5,4 | Trehalosa dihidratada (200mM) | 5,5 | 5,5 | 5,3 |
| 12 | 25 | Citrato | 5,4 | Monohidrocloreuro de arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) | 5,4 | 5,5 | 5,3 |
| 13 | 75 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) | 5,6 | 5,6 | 5,5 |
| 14 | 50 | Citrato | 5,6 | Hidrocloreuro de lisina (100 mM) | 5,6 | 5,6 | 5,5 |
| 15 | 100 | Citrato | 5,6 | Manitol (200 mM) | 5,6 | 5,6 | 5,5 |
| 16 | 100 | Citrato | 5,8 | Hidrocloreuro de lisina (100 mM) | 5,8 | 5,8 | 5,7 |
| 17 | 75 | Citrato | 5,8 | Monohidrocloreuro de arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM) | 5,8 | 5,8 | 5,7 |
| Referencia propia (composición Humira, Merck Serono DS) | | | | | 5,2 | 5,2 | 5,2 |
| Humira RMP (USA) | | | | | 5,3 | 5,3 | 5,3 |
| Humira RMP (EU) | | | | | 5,3 | 5,3 | 5,3 |

1.6 Temperatura de Desdoblamiento (DSF)

10 DSF es un método de alto rendimiento que se dirige a la determinación de la temperatura de desdoblamiento de proteínas mediante la cualidad del incremento de las interacciones con sondas fluorescentes cuando se aplican rampas de temperatura a las muestras. Cuando las proteínas comienzan a desdoblarse trozos hidrofóbicos se expondrán progresivamente al disolvente atrayendo a las sondas fluorescentes que pasarán de un estado libre en disolución (no fluorescente) al estado unido (a través de interacciones hidrofóbicas) con la proteína, incrementando
15 por tanto el grado de la señal fluorescente.

A partir de la evaluación de la señal fluorescente, fue posible determinar el punto medio de las curvas sigmoidales, que indican el punto de transición de cada formulación. Se asume que el mayor punto de transición, es el mayor punto de resistencia de la fórmula al estrés térmico.

20 En la FIG.4 se presentan los resultados del ensayo que se realizó sobre las formulaciones de cribado DoE1. La FIG. 4 es un gráfico de barras que muestra la temperatura de desdoblamiento (°C), como se determinó mediante DSF, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con estándares de referencia (que representan formulaciones HUMIRA® comparadoras).

Conclusión del Cribado del Experimento 1

Se evaluaron combinadamente los resultados obtenidos a partir del Bioanalizador y del ensayo DSF mediante el modelo ANOVA para superficies de respuesta para determinar las mejores composiciones que pueden posiblemente garantizar la mayor estabilidad térmica de la proteína.

- 5 En la Tabla 12 se presenta la lista de las composiciones recomendadas, que compara también los rendimientos de las formulaciones prototipo resultantes con Humira RMP, en términos de variación de la temperatura de desdoblamiento y de la fragmentación durante 1 mes a 40°C.

10 La formulación B se extrapola mediante el programa informático y por lo tanto los valores que se incluyen en la Tabla son teóricos. Comparando estas fórmulas con la de RMP se puede concluir que el comportamiento de estas formulaciones prototipo en respuesta al estrés térmico es comparable con el observado para la de RMP.

Tabla 12: Resultado de los experimentos DoE1: composiciones recomendadas para el segundo cribado

| Fórmula | Sal (NaCl) mM | Tipo de Tampón (10 mM) | pH | Estabilizador |
|---------|------------------|---------------------------|-----|--------------------------------|
| B | 100 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) |

15 En cierto modo inesperado, las formulaciones que contienen Trehalosa dihidratada como único estabilizador obtuvieron resultados excelentes, especialmente en términos de inhibición de la fragmentación, inhibición del desdoblamiento, y mantenimiento del pH. Tales formulaciones basadas en trehalosa también mostraron buen rendimiento en términos de agregación y precipitación. Que la trehalosa fuera una fuerte candidata como estabilizador, especialmente por sí sola, era extremadamente prometedor en vista de sus propiedades antioxidantes, que impartiría más estabilidad química a largo plazo (especialmente frente a la oxidación y/o foto-oxidación) a las formulaciones de adalimumab. Además, que la trehalosa se pueda usar en solitario y muestre aún un rendimiento excelente, se consideraba especialmente alentador y facilitaba el camino de formulaciones menos complejas que emplean pocos componentes – esto a su vez reduciría el proceso y los costes asociados con la producción de productos farmacológicos relevantes de adalimumab. Como tal, estas formulaciones basadas en trehalosa se tuvieron en cuenta para una segunda ronda de experimentos de cribado para ajustar las formulaciones.

25 **Cribado del Experimento 2- Análisis y Cribado de formulaciones del Ejemplo 2 frente a Formulaciones Comparativas del Ejemplo 3**

Se identificó una formulación prototipo a partir del cribado previo (Tabla 12). Ya que la etapa previa se realizó sin añadir tensioactivo, la segunda etapa se dirige al cribado de una serie de niveles del compuesto tensioactivo Polisorbato 80 (intervalo: 0-1 mg/mL) para evaluar si la adición de tensioactivo se requería para favorecer la estabilidad proteica.

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

Normalmente, se ha observado que los tensioactivos se oponen al estrés mecánico-se han realizado por lo tanto ensayos de estrés por agitación y que inducen la agregación para evaluar cómo afecta el Polisorbato 80 a la estabilidad proteica y a la respuesta de agitación.

- 35 Como en la Etapa 1, las composiciones de referencia se describen en el Ejemplo 3 se evaluaron también para proporcionar una referencia para el desarrollo de una nueva formulación.

En la Tabla 13 se presenta la lista completa de los análisis realizados en esta serie de formulaciones. En este segundo cribado, las formulaciones respectivas se expusieron a tres tipos de estrés diferentes, térmico, mecánico, y lumínico.

40

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

| A. Estrés térmico a 40°C | | | | |
|---------------------------------|---------------------|--|-----------|-----------|
| Acelerados (40°C) | | Tiempo de estabilidad (semanas) | | |
| Métodos | Ensayo | 0 | 2s | 4s |
| OD | 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 de desdoblamiento | x | - | - |

| B. Condiciones de estrés por agitación | | | | |
|---|---------------|--------------------------------------|-------------|-------------|
| Estrés por agitación (200 rpm) | | Tiempo de estabilidad (horas) | | |
| Métodos | Ensayo | 0 | 24 h | 48 h |
| OD | Contenido | x | - | - |
| SE-HPLC | Agregados | x | x | x |
| Bioanalizador | Pureza | x | x | x |
| pH | pH | x | x | x |
| Nefelometría | Turbidez | x | x | x |

| C. Exposición lumínica de 7 horas de exposición a 765W/m² (ICH Q1 B). | | | |
|---|-------------------------|----------------|-----------------|
| Exposición lumínica | | Muestra | |
| Métodos | Tiempo de Ensayo | Time 0 | Expuesta |
| OD | Contenido | x | - |
| iCE280 | Isoformas | x | x |
| SE-HPLC | Agregados | x | x |
| Bioanalizador | Pureza | x | x |
| pH | pH | x | x |
| Nefelometría | Turbidez | x | x |

- 5 Los ensayos de **estrés térmico** se realizaron por simple calentamiento de una muestra de las formulaciones relevantes a la temperatura estipulada durante la cantidad de tiempo estipulada (normalmente 2 semanas o 4 semanas/1 mes).

Los ensayos de **estrés mecánico** se realizaron por simple agitación de una muestra de las formulaciones relevantes a temperatura ambiente a 200 rpm durante el período de tiempo estipulado (normalmente 24 horas o 48 horas).

Los ensayos de **estrés lumínico** se realizaron por simple exposición de una muestra de las formulaciones relevantes a una luz de 765 W/m² (de acuerdo con las pautas de la Agencia Europea de Medicamentos ICH Q1B vigente en relación al ensayo de estabilidad de nuevas sustancias activas y productos médicos) durante 7 horas.

2.1 Osmolalidad

En la Tabla 14 se presenta la osmolalidad de las formulaciones de cribado DoE2. Los valores, comprendidos en el intervalo de 378-401 mOsm/kg están probablemente sobrestimados debido a la presencia de Trehalosa dihidratada que puede conducir a algún incremento de la viscosidad afectando al punto crioscópico de las disoluciones y por consiguiente la osmolalidad. Se confirmó mediante mediciones en relación a otras formulaciones de ensayo, que se diluyeron 3-veces con WFI antes del ensayo de osmolalidad para descender la viscosidad: la osmolalidad real de todas estas fórmulas es <350 mOsm/kg.

Tabla 14: Osmolalidad del cribado de las formulaciones DoE2 (ensayadas sin diluir)

| Fórmula N° | Sal (NaCl) Concentración (mM) | Tipo de Tampón (10 mM) | pH | Estabilizador | Tensioactivo (Polisorbato 80) concentración (mg/mL) | Tiempo 0 |
|------------|-------------------------------|------------------------|-----|--------------------------------|---|------------|
| DoE2-4 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0 | 391 |
| DoE2-5 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0,5 | 401 |
| DoE2-5 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 1 | 394 |

15 2.2 Contenido Proteico (OD)

El contenido proteico de todas las formulaciones DoE2 a tiempo 0 estaban en consonancia con la concentración diana de 50 mg/mL (Tabla 15).

Tabla 15: Contenido Proteico (OD) del cribado de formulaciones DoE2 (ensayadas sin diluir)

| Fórmula N° | Sal (NaCl) Concentración (mM) | Tipo de Tampón (10 mM) | pH | Estabilizador | Tensioactivo (Polisorbato 80) concentración (mg/mL) | Tiempo 0 |
|------------|-------------------------------|------------------------|-----|--------------------------------|---|-------------|
| DoE2-4 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0 | 50,3 |
| DoE2-5 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0,5 | 50,4 |
| DoE2-5 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 1 | 50,4 |

20 2.3 Agregados con estrés térmico (SE-HPLC)

En la FIG.5 se presentan las variaciones en el total de agregados mediante SE-HPLC. La FIG.5 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del

Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (que representan formulaciones HUMIRA® comparadoras), a un punto de comienzo arbitrario (barras rojas, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras moradas) de haber calentado las formulaciones a 40°C.

5 En todas las formulaciones se observaron cambios mínimos, siendo el total de la cantidad de agregados después de 1 mes a 40°C inferior del 1%.

Los rendimientos de las formulaciones de cribado DoE2 son comparables con los de los materiales RMP.

2.4. Fragmentación con estrés térmico (Bioanalizador)

10 En la FIG.6 se presentan las variaciones en los fragmentos mediante un Bioanalizador. La FIG.6 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, como se determinó mediante un Bionalizador, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (que representan formulaciones HUMIRA® comparadoras), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de haber calentado las formulaciones a 40°C.

En el citrato sódico, se observaron variaciones comparables con las observadas en las RMP. Entre las tres formulaciones se pueden observar diferencias insignificantes.

15 2.5 Perfil de isoformas con estrés térmico (iCE280)

En las FIGs 7 y 8 respectivamente se presentan cambios en el pico principal del grupo ácido de las tres formulaciones durante 1 mes a 40°C.

20 La FIG.7 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de haber calentado las formulaciones a 40°C.

25 La FIG.8 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico o picos del grupo ácido, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de haber calentado las formulaciones a 40°C.

Los resultados, en términos del grupo ácido, están en consonancia con las observaciones realizadas para el pico principal.

2.6 cribado de pH con estrés térmico

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

Como se muestra en la Tabla 16, se observó que el pH desciende en DoE2-5. Esto puede derivarse de posibles contaminaciones/proliferación de bacterias en las muestras.

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

| Fórmula N° | Sal (NaCl) Concentración (mM) | Tipo de Tampón (10 mM) | pH | Estabilizador | Tensioactivo (Polisorbato 80) concentración (mg/mL) | Tiempo 0 | 2 semanas (40°C) | 4 semanas (40°C) |
|------------|-------------------------------|------------------------|-----|--------------------------------|---|----------|------------------|------------------|
| DoE2-4 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0 | 5,8 | 5,8 | 5,8 |
| DoE2-5 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0,5 | 5,8 | 5,8 | 5,2 |
| DoE2-6 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 1 | 5,8 | 5,8 | 5,9 |

2.7. Turbidez con estrés térmico (Nefelometría)

La FIG.9 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, como se determinó mediante Nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de haber calentado las formulaciones a 40°C.

- 5 La turbidez de las tres formulaciones está, a tiempo 0, normalmente en el intervalo de las disoluciones opalescentes (NTU 6-18). Con respecto a los materiales DS originales, de turbidez normal de NTU 19-52, las disoluciones DP se consideran clarificadas después de filtración aséptica.

2.8 Agregados con estrés mecánico (SE-HPLC)

- 10 La FIG.10 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de haber agitado mecánicamente las formulaciones (agitación).

En la FIG.10 se presentan las variaciones en el total de agregados mediante SE-HPLC.

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

2.9 Fragmentación con estrés mecánico (Bioanalizador)

- 15 La FIG.11 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, como se determinó mediante un Bioanalizador, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de haber agitado mecánicamente las formulaciones (agitación).

- 20 En la FIG.11 se presentan las variaciones en los fragmentos mediante Bioanalizador. Se observaron mínimos cambios, siendo todos los valores registrados iguales o inferiores de 0,5%.

Después de 48 horas de agitación a temperatura ambiente todas las muestras presentaron una fragmentación en el intervalo 0,2-0,4%.

No existe una tendencia al aumento marcado de la fragmentación en la agitación mecánica.

2.10 Cribado de pH con estrés mecánico

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

Tabla 17: cribado de DoE2: pH (agitación mecánica)

| Fórmula N° | Sal (NaCl) Concentración (mM) | Tipo de Tampón (10 mM) | pH | Estabilizador | Tensioactivo (Polisorbato 80) concentración (mg/mL) | Tiempo 0 | 24 horas | 48 horas |
|------------|-------------------------------|------------------------|-----|--------------------------------|---|----------|----------|----------|
| DoE2-4 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0 | 5,8 | 5,8 | 5,8 |
| DoE2-5 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0,5 | 5,8 | 5,8 | 5,8 |
| DoE2-6 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 1 | 5,8 | 5,9 | 5,9 |

2.11 Turbidez con estrés mecánico (Nefelometría)

- 30 La FIG.12 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, como se determinó mediante Nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a un punto de comienzo arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24

horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de haber agitado mecánicamente las formulaciones (agitación). No se observaron cambios.

2.12 Agregados con estrés lumínico (SE-HPLC)

5 La FIG.13 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, como se determinó mediante SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (que representan 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/m² (barras rojas).

10 Se realizaron también comparaciones con muestras de Humira (de E.E.U.U. y de EU) tratadas a las mismas condiciones. En la RMP, la agregación aumenta hasta 9-15% en la exposición a la luz (a tiempo 0 los agregados eran inferiores del 1%). Todas las formulaciones DoE2 presentan aumentos menores o comparables y por lo tanto mejor/similar resistencia al estrés térmico. En mayor detalle:

- Formulaciones en tampón citrato: 4,2→6,1% total de agregados en exposición a la luz

2.13 Fragmentación con estrés lumínico (Bioanalizador)

15 La FIG.14 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, como se determinó mediante un Bioanalizador, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (que representan 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/m² (barras rojas).

Se destacaron mínimos incrementos (+0,3% como máximo, después de la exposición). Todas las fragmentaciones estaban por debajo del 1% después de 7 horas de exposición (FIG.14).

20 2.14 Perfil de isoformas con estrés lumínico (iCE280)

La FIG.15 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (que representan 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/m² (barras rojas).

25 La FIG.16 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico o picos del grupo ácido, como se determinó mediante análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con estándares de referencia (que representan 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/m² (barras rojas).

30 En la Humira RMP la exposición a la luz determina efectos significativos: en forma más relevante se observaron descensos en cuanto al pico principal (alrededor de -9%) y aumento simultáneo en el grupo ácido (hasta +15%), relacionado al fenómeno de fotoxidación.

Las fórmulas en tampón citrato pueden mejorar considerablemente la resistencia de la proteína ante el fenómeno de degradación: los descensos en cuanto al pico principal están alrededor del -3,5% o menos, los aumentos en el grupo ácido consiguieron hasta un máximo del +4%.

35 2.15 Turbidez con estrés lumínico (Nefelometría)

La FIG.17 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, como se determinó mediante Nefelometría, de las formulaciones 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/m² (barras rojas). Esencialmente, no se observaron cambios.

2.16 Cribado de pH con estrés lumínico

40 En la Tabla 18 se muestra la variación en el pH de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) a lo largo de un periodo de tiempo durante el cual las formulaciones se exponen a la luz durante 7 horas a 765 W/m². No se observaron cambios.

Tabla 18: cribado de DoE2: pH (exposición lumínica)

| Fórmula Nº | Sal (NaCl) Concentración (mM) | Tipo de Tampón (10 mM) | pH | Estabilizador | Tensioactivo (Polisorbato 80) concentración (mg/mL) | Tiempo 0 | Después de la exposición |
|------------|----------------------------------|------------------------|-----|--------------------------------|--|----------|--------------------------|
| DoE2-4 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0 | 5,8 | 5,8 |
| DoE2-5 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 0,5 | 5,8 | 5,8 |
| DoE2-6 | 50 | Citrato | 5,8 | Trehalosa dihidratada (200 mM) | 1 | 5,8 | 5,9 |

Conclusión del Cribado del Experimento 2

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

Las formulaciones en tampón citrato/ácido cítrico 10 mM a pH 5,8 (DoE2-4, DoE2-5, DoE2-6):

- Tras estrés térmico, los rendimientos comparables a los de Humira fueron destacables.
 - Mínimo incremento en la agregación tras agitación mecánica.
 - Rendimientos mejorados con respecto a los de Humira cuando se sometieron a irradiación continua (7 horas).
- 10

En base al trabajo de cribado llevado a cabo sobre diferentes formulaciones variando el tampón/pH, el estabilizador, la cantidad del agente de isotonicidad (NaCl) y el nivel de tensioactivo (Polisorbato 80), la mejor composición, que muestra características comparables o incluso mejoradas con respecto a Humira tras diferentes condiciones de estrés (térmico, mecánico, lumínico) se ha identificado como:

| Ingrediente | Cantidad (mg/mL) |
|---|-------------------------------|
| Adalimumab | 50 |
| Ácido cítrico monohidrato | 2,10 * |
| Trehalosa dihidratada | 75,67 ** |
| Polisorbato 80 | 1,00 |
| Cloruro sódico | 2,92 *** |
| WFI e hidróxido sódico | c.p. para ajustar el pH a 5,8 |
| * correspondiente a tampón citrato sódico/ácido cítrico 10 mM; ** correspondiente a 200 mM; *** correspondiente a 50 mM | |

15

Tales formulaciones se pueden incorporar fácilmente en jeringas de vidrio pre-llenadas con agujas 29G½".

Abreviaturas

| | |
|---------|--|
| DoE | Diseño del experimento |
| DP | Producto farmacológico |
| DS | Sustancia farmacológica |
| DSF | Fluorometría de barrido diferencial |
| FT-IR | Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier |
| MS-A | Merck Serono-Aubonne |
| MS-V | Merck Serono-Vevey |
| OD | Densidad óptica |
| PES | Polietersulfona |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| RT | Temperatura ambiente |
| SE-HPLC | Cromatografía líquida de alta eficacia por exclusión de tamaño |
| SMI | Compendio de instrucciones de fabricación |
| SOP | Procedimiento operativo estándar |
| WI | Instrucciones de trabajo |

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica líquida que comprende:
 - de 45 a 55 mg/mL de adalimumab;
 - sistema tampón citrato sódico/ácido cítrico de 5 a 14 mM;
 - 5 - trehalosa de 190 a 210 mM;
 - cloruro sódico de 40 a 60 mM ;
 - opcionalmente de 0,9 mg/mL a 1,1 mg/mL de polisorbato 80; y
 - agua (para inyección);
 - en donde la composición:
 - 10 ○ tiene un pH entre 5,7 y 5,9;
 - está libre de arginina o comprende arginina en una concentración de como máximo 0,001 mM;
 - está libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos (conjunto) en una concentración de como máximo 0,001 mM.
 - 15 ○ está libre de tensioactivos con la excepción opcional de polisorbato 80 o comprende uno o más de dichos tensioactivos (opcionalmente, excluyendo a polisorbato 80) en una (conjunto) concentración de como máximo 0,0001 mM; y
 - está libre de agentes tampón fosfato o comprende un sistema tampón fosfato en una concentración de como máximo 0,001 mM.
2. La composición farmacéutica líquida según la reivindicación 1, en donde la composición comprende:
 - 20 - 50 mg/mL de adalimumab;
 - sistema tampón citrato sódico/ácido cítrico 10 mM;
 - trehalosa 200 mM;
 - cloruro sódico 50 mM;
 - opcionalmente 1,0 mg/mL de polisorbato 80; y
 - 25 - agua (para inyección);
 - en donde la composición:
 - tiene un pH de 5,8;
 - está libre de arginina;
 - está libre de aminoácidos;
 - 30 ○ está libre de tensioactivos con la excepción opcional del polisorbato 80; y
 - está libre de agentes tampón fosfato.
3. La composición farmacéutica líquida según la reivindicación 1, en donde la composición consiste en:
 - 50 mg/mL de adalimumad;
 - sistema tampón citrato sódico/ácido cítrico 10 mM;
 - 35 - trehalosa 200 mM;
 - cloruro sódico 50 mM;
 - agua (para inyección);

en donde la composición tiene un pH de 5,8.

4. La composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición comprende polisorbato 80.
5. La composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la osmolalidad de la composición está entre 200 y 405 mOsm/kg.
- 5 6. La composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la temperatura de desdoblamiento de la proteína de adalimumab en la composición farmacéutica líquida es mayor o igual que 65°C.
7. Un dispositivo de suministro de fármaco que comprende una composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.
- 10 8. El dispositivo de suministro de fármaco según la reivindicación 7, en donde el dispositivo de suministro de fármaco es un vial, ampolla, jeringa, bolígrafo de inyección, o una bolsa intravenosa que comprende la composición farmacéutica líquida.
- 15 9. Una composición farmacéutica líquida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para el uso en el tratamiento de la artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil.

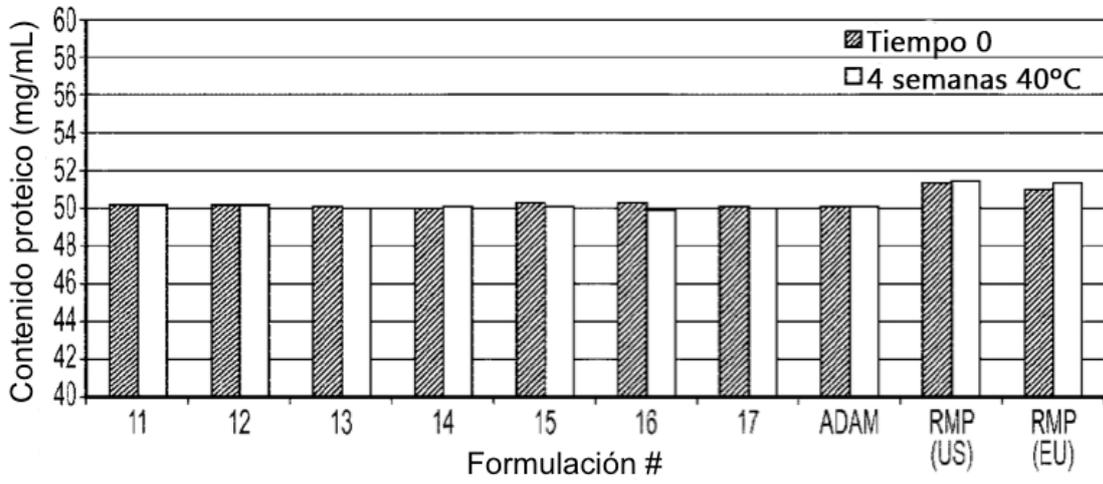


FIG. 1

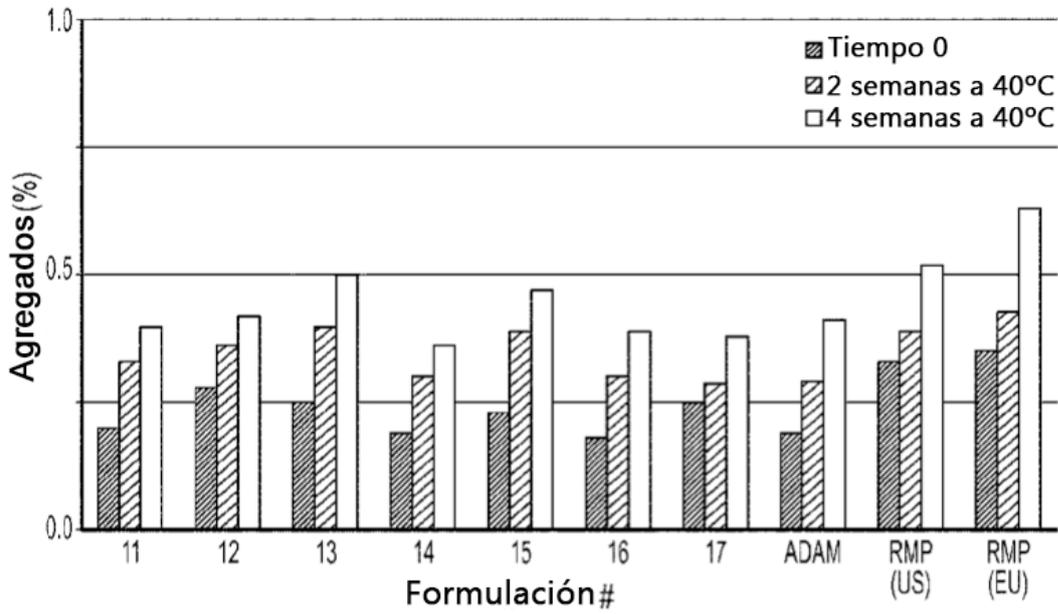


FIG. 2

9

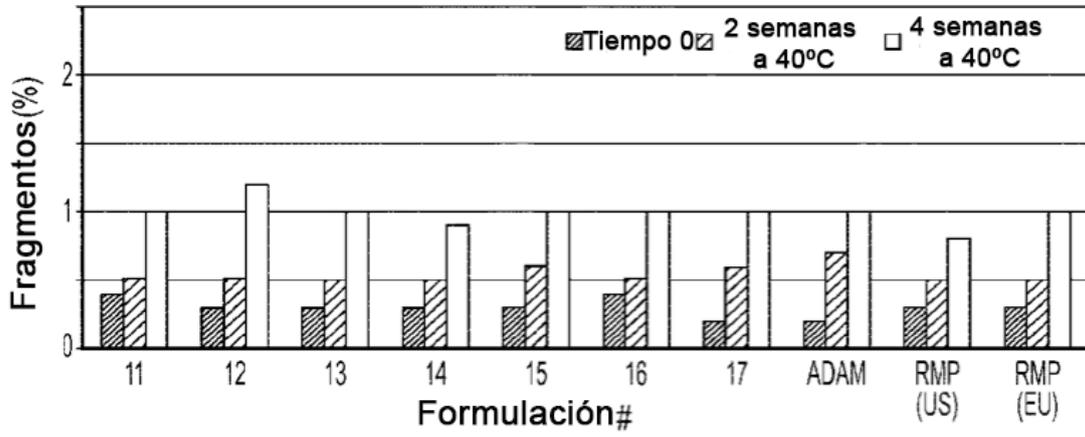


FIG. 3

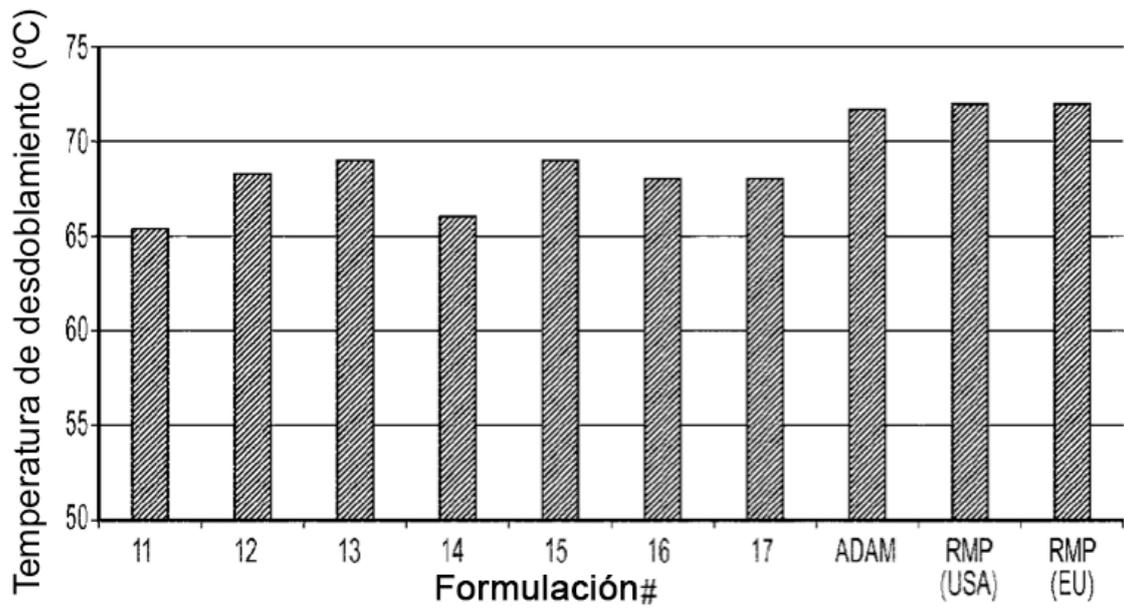


FIG. 4

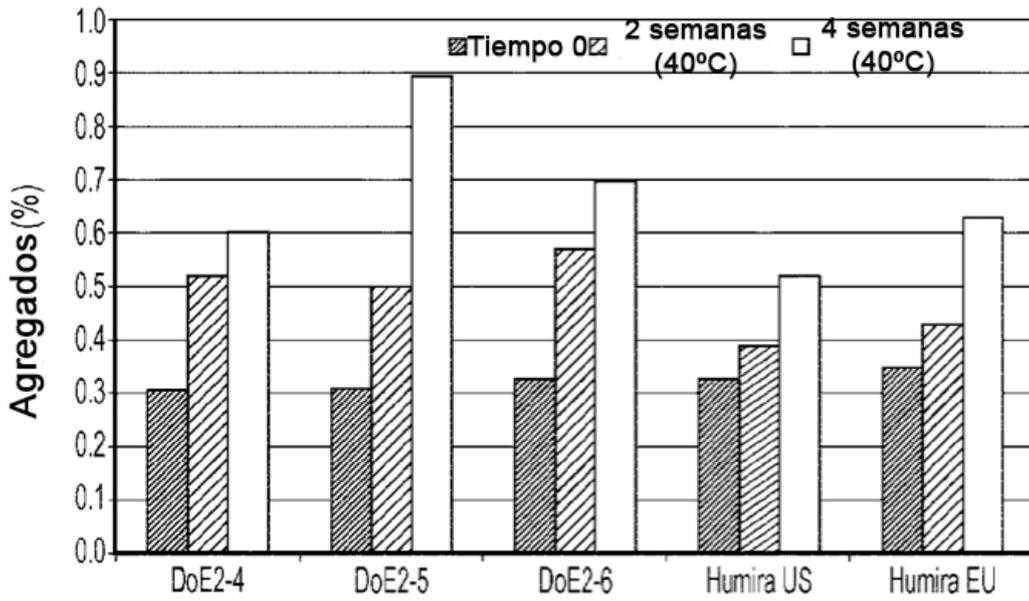


FIG. 5

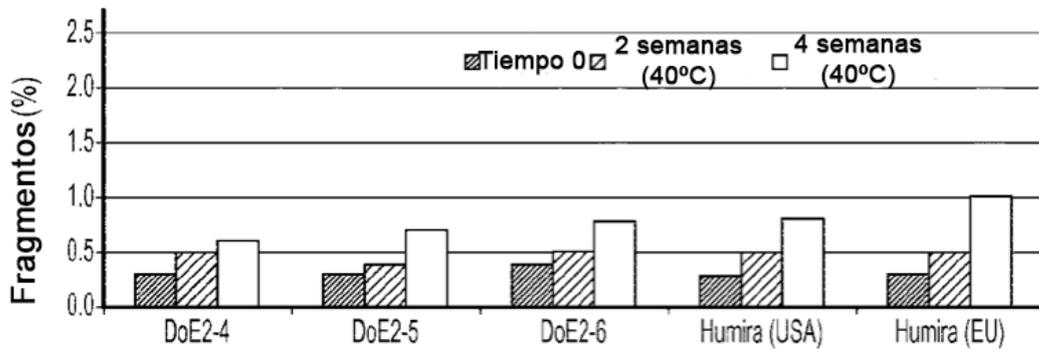


FIG. 6

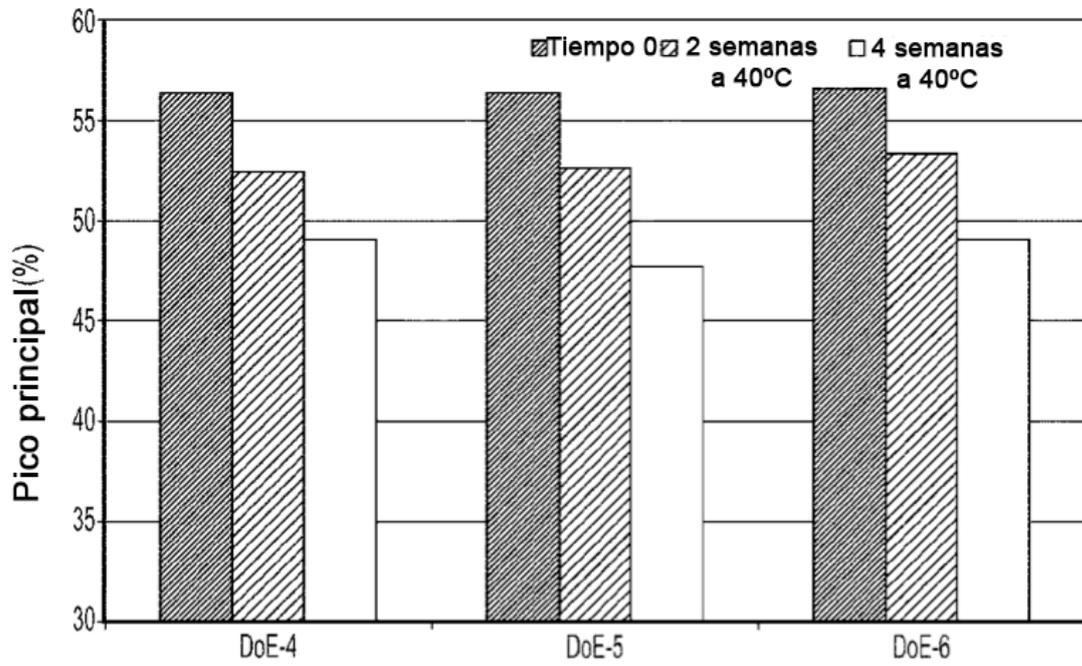


FIG. 7

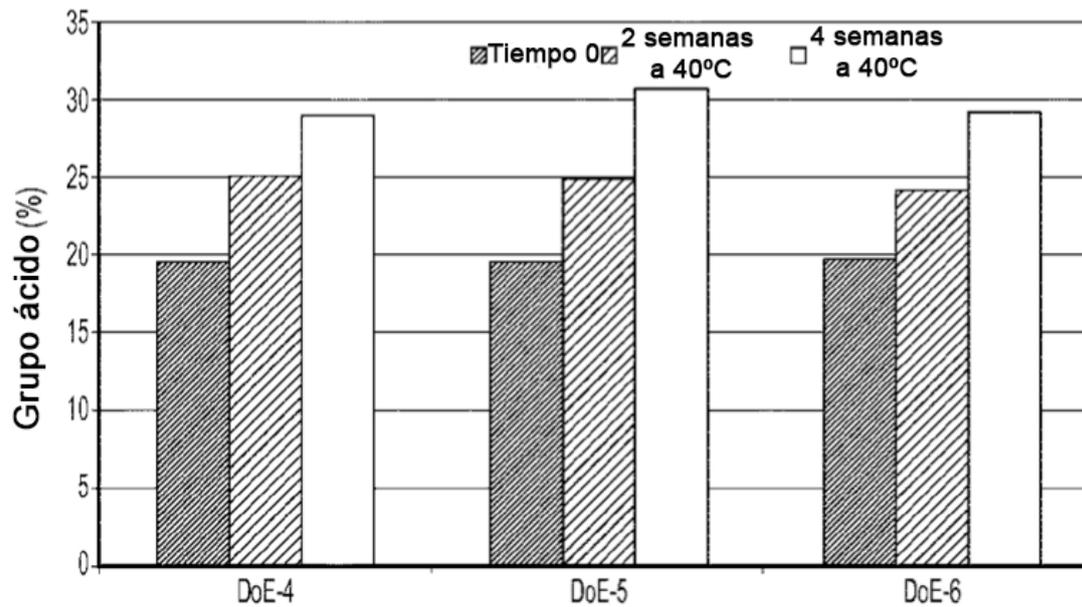


FIG. 8

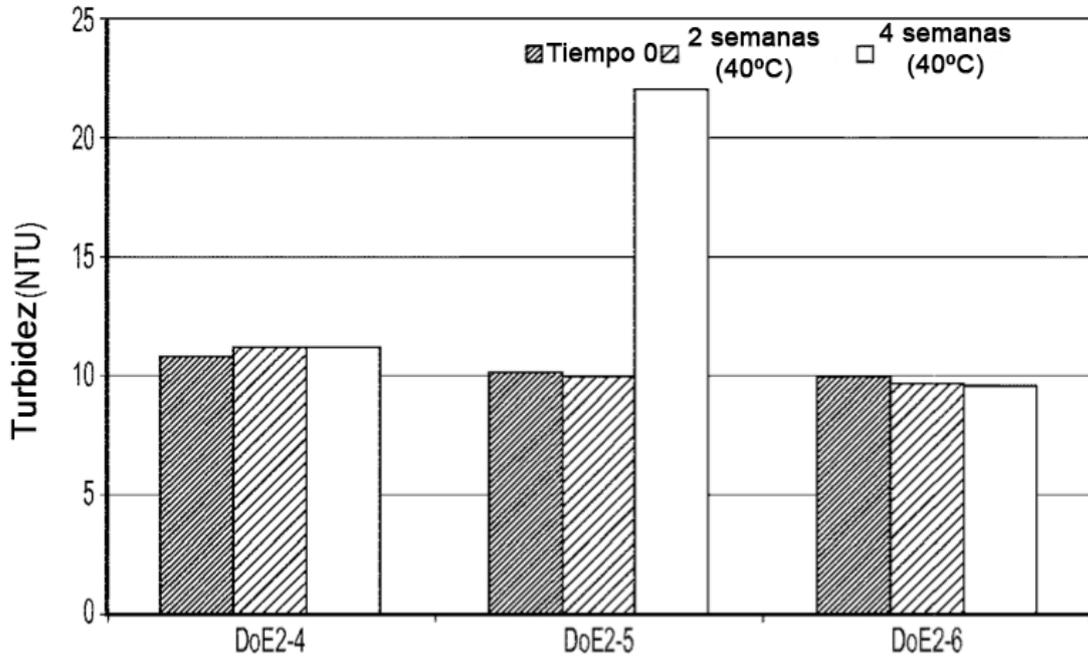


FIG. 9

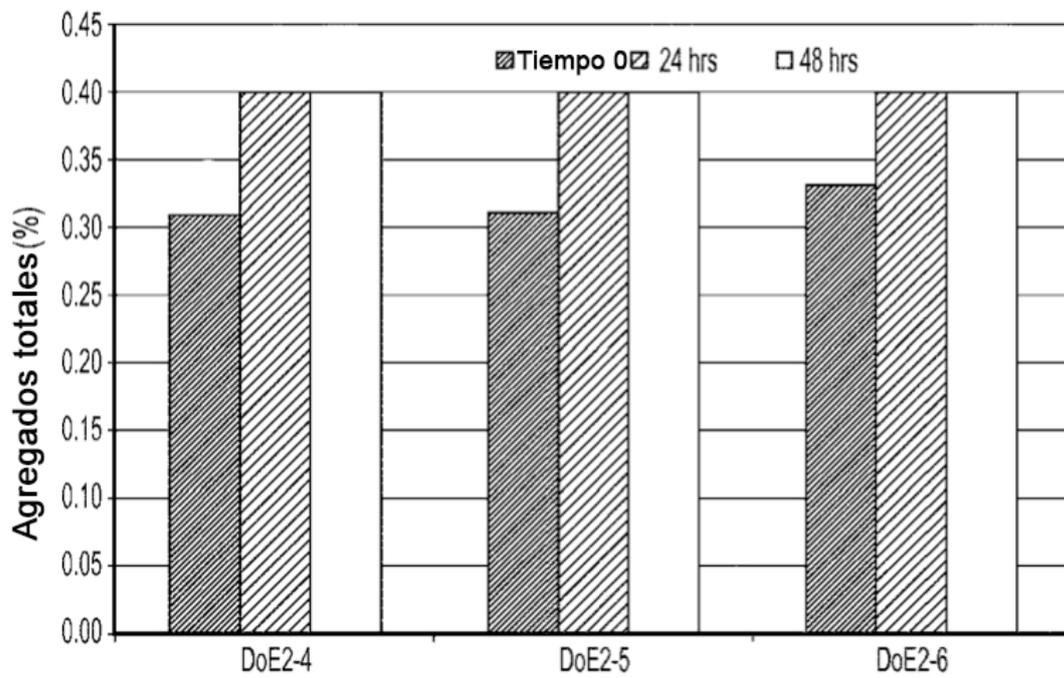


FIG. 10

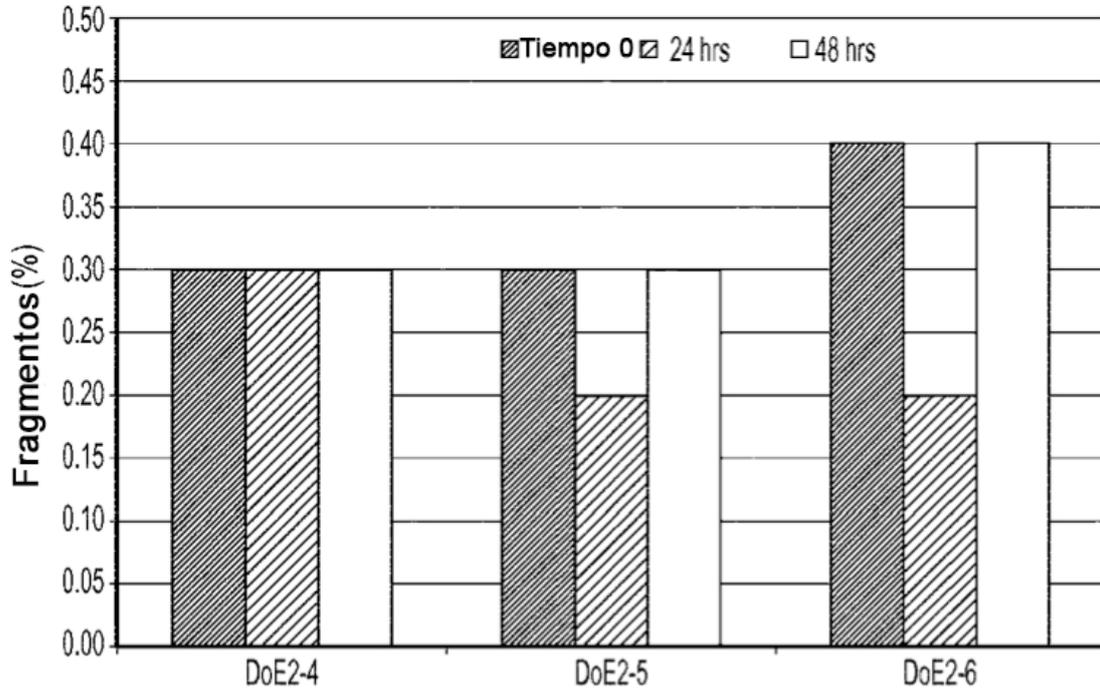


FIG. 11

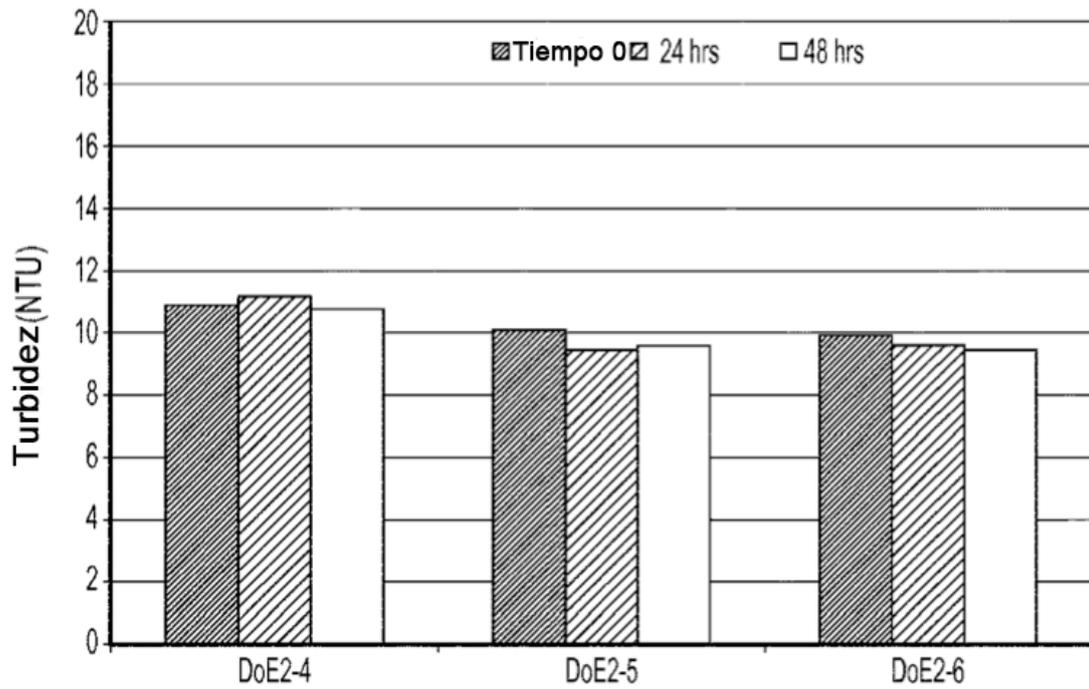


FIG. 12

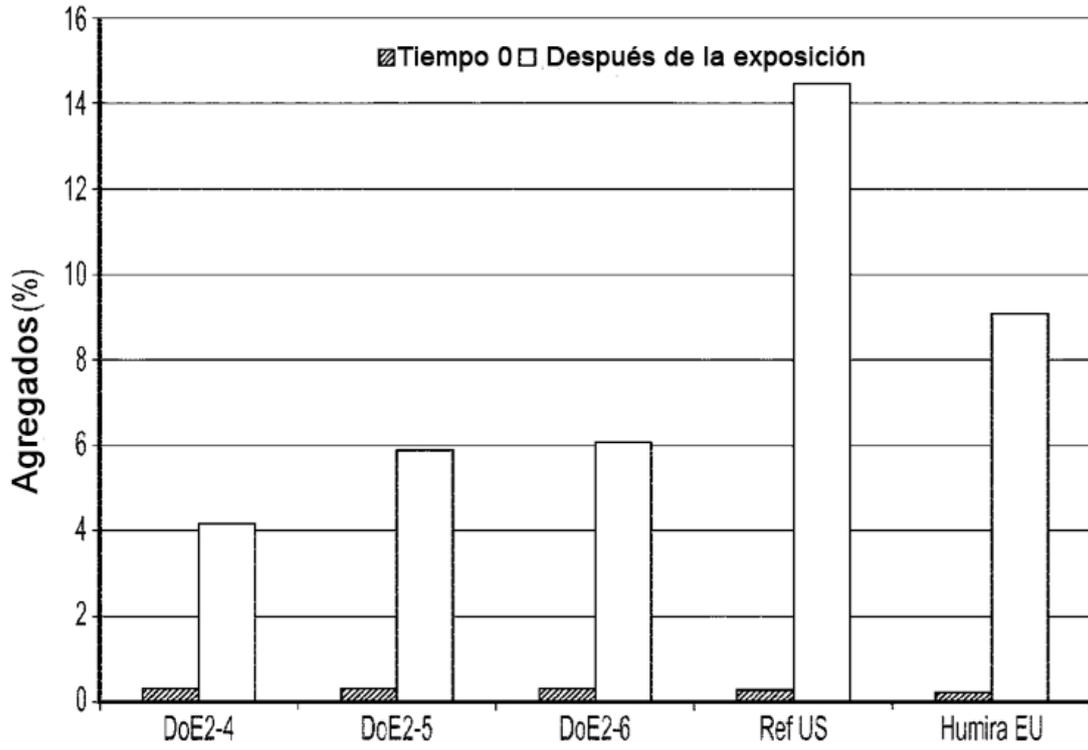


FIG. 13

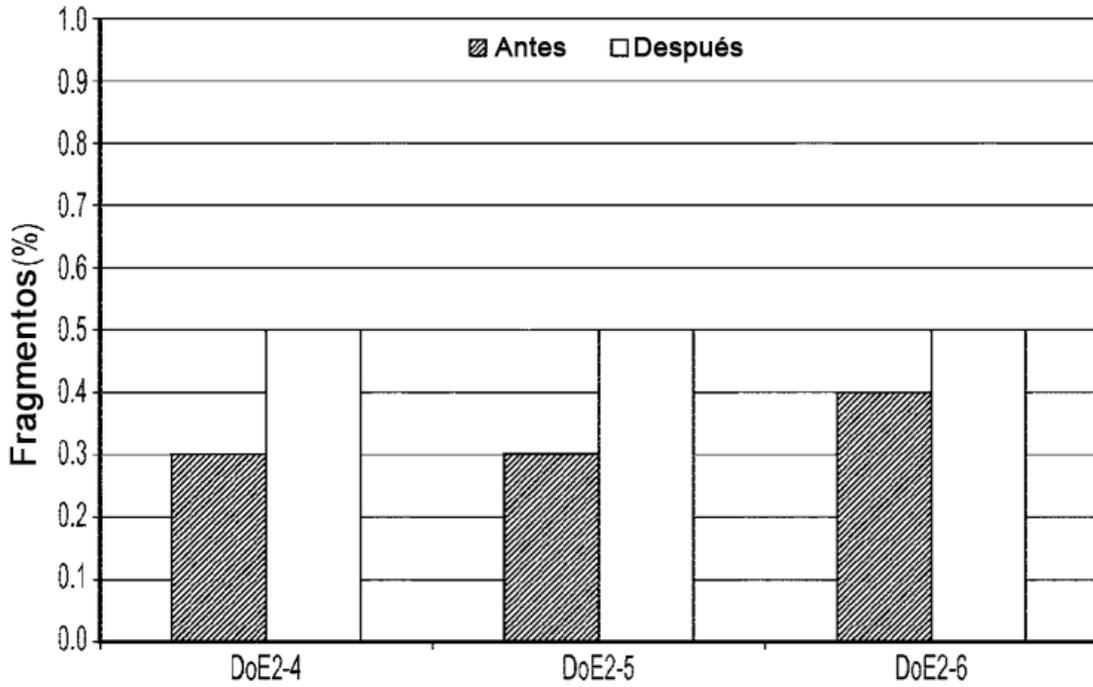


FIG. 14

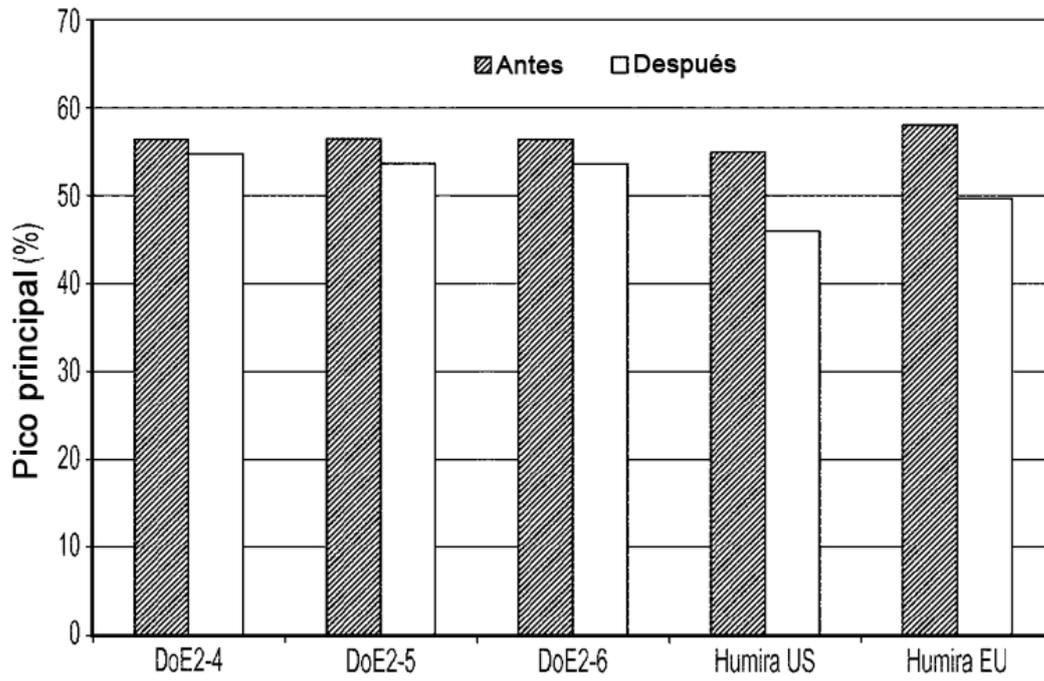


FIG. 15

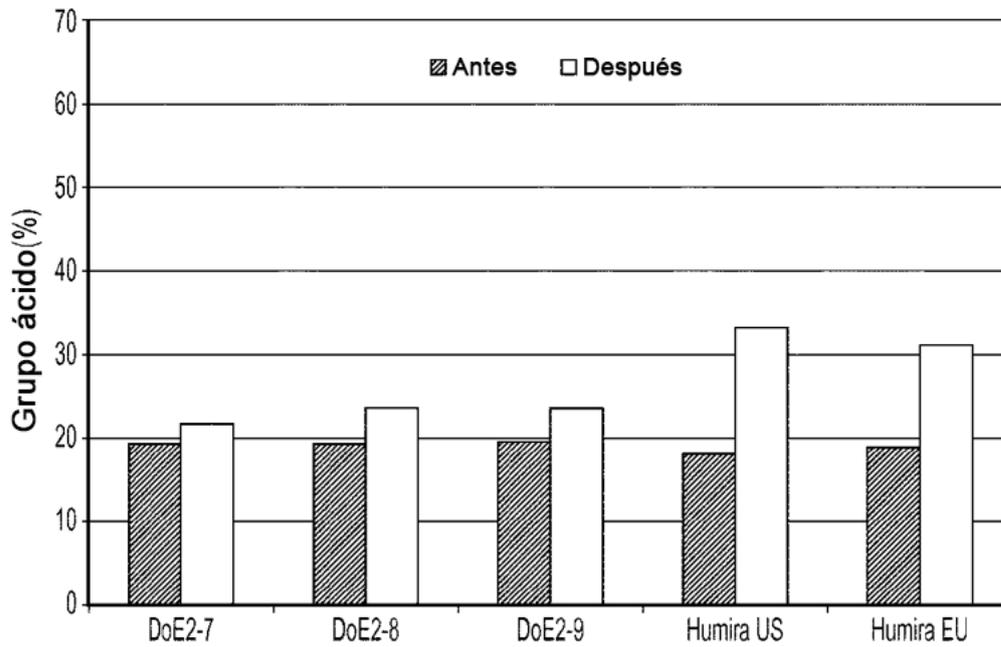


FIG. 16

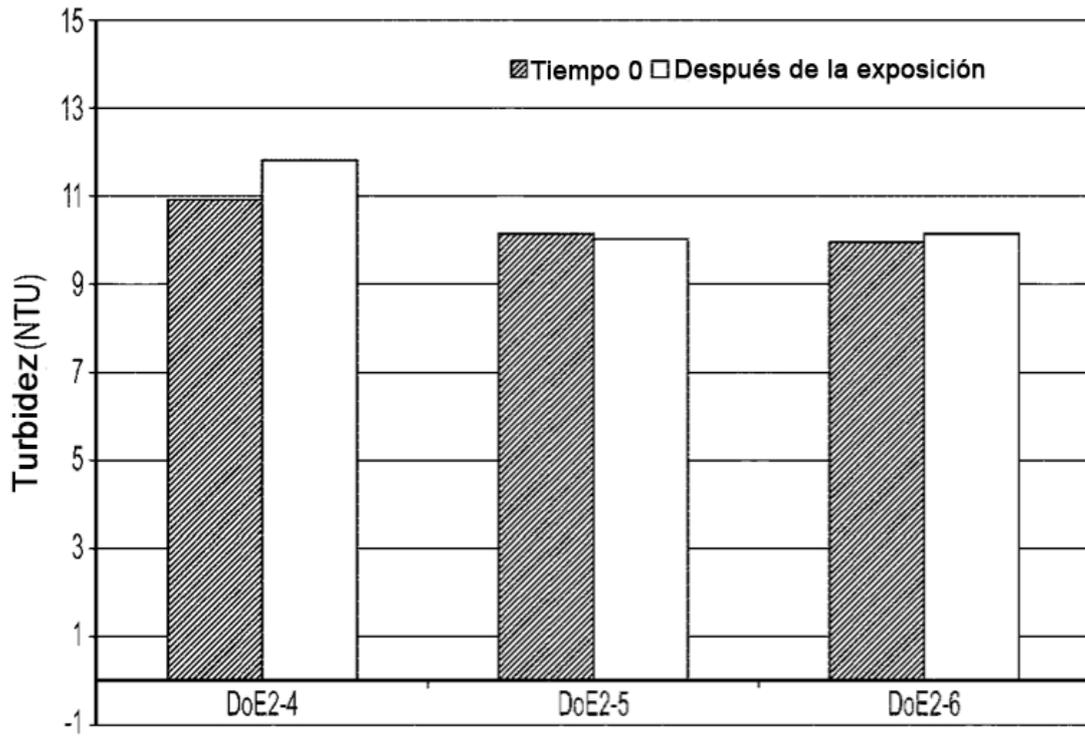


FIG. 17