

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 610 707**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.03.2013 PCT/US2013/028516**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2013 WO13134052**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.03.2013 E 13710214 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.10.2016 EP 2822590**

54 Título: **Formulación de anticuerpo IL-17**

30 Prioridad:

07.03.2012 US 201261607671 P

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

03.05.2017

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**CORVARI, VINCENT, JOHN;
WILLIAMS, BARBARA, ANN;
DONOVAN, PATRICK, DANIEL y
MARKHAM, AARON, PAUL**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 610 707 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

Formulación de anticuerpo IL-17

5 La presente invención se refiere al campo de la medicina. Más particularmente, la presente invención se refiere a una formulación farmacéutica de un anticuerpo anti-IL-17. Se espera que esta formulación farmacéutica de anticuerpo anti-IL-17 sea útil en el tratamiento de la artritis reumatoide (AR), psoriasis (Ps), espondilitis anquilosante (EA), artritis psoriásica (AP) o mieloma múltiple (MM).

10 Se necesitan formulaciones farmacéuticas de anticuerpos anti-IL-17 para el tratamiento de pacientes con AR, Ps, EA, AP o MM. Se necesitan ciertas concentraciones de anticuerpos anti-IL-17 para formulaciones farmacéuticas de manera que el anticuerpo pueda suministrarse por vía subcutánea al paciente. Esta formulación farmacéutica con una cierta concentración de anticuerpo anti-IL-17 debe mantener una estabilidad física y química del anticuerpo anti-IL-17, mientras evita una viscosidad que puede aumentar, de manera inaceptable, el tiempo de suministro y la fuerza necesaria desde una aguja o un dispositivo auto-inyector.

15 En el documento WO 07/70750 se describen anticuerpos anti-IL-17 que neutralizan la actividad biológica asociada con la IL-17 (SEQ ID N°: 1). Además, el documento WO 07/70750 divulga composiciones farmacéuticas de anticuerpos monoclonales anti-IL-17. Con ciertas formulaciones para mAb 126, un anticuerpo anti-IL-17 divulgado en el documento WO 07/70750, el presente solicitante ha descubierto como parte de la presente invención que existen tres problemas de estabilidad a concentraciones en soluciones mayores o iguales a 50 mg/ml: separación de fases líquido-líquido; formación de gel o cambio de fase sólida; e inestabilidad química. De esta manera, se necesitan formulaciones farmacéuticas para ciertas concentraciones de anticuerpos anti-IL-17 que eviten estos problemas observados. Existe una necesidad de formulaciones farmacéuticas alternativas de anticuerpos anti-IL-17. Además, existe una necesidad de formulaciones en soluciones farmacéuticas alternativas de anticuerpos anti-IL-17.

20 Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-17 a una concentración comprendida en el intervalo de 80 mg/ml a 150 mg/ml, tampón de citrato a una concentración de 20 mM, cloruro de sodio a una concentración de 200 mM, polisorbato-80 a una concentración comprendida en el intervalo del 0,02% (p/v) al 0,03% (p/v), y un pH de 5,7, en el que el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo con una cadena ligera (CL) y una cadena pesada (CP), en el que dicha CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y dicha CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5.

25 Preferentemente, la formulación farmacéutica según la presente invención tiene una concentración de anticuerpo anti-IL-17 de 80 mg/ml.

30 La formulación farmacéutica según la presente invención tiene preferentemente una concentración de polisorbato-80 del 0,03% (p/v).

La formulación es preferentemente una formulación de solución farmacéutica de anticuerpos anti-IL-17.

35 La presente invención proporciona también una formulación farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-17 a una concentración de 80 mg/ml, tampón de citrato a una concentración de 20 mM, cloruro de sodio a una concentración de 200 mM, polisorbato-80 a una concentración del 0,03%, y pH de 5,7, en el que el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo que comprende dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CPs), en el que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5.

40 Además, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de AR, Ps, EA, AP o MM comprende administrar a un paciente en necesidad de la misma una cantidad eficaz de una formulación farmacéutica de la presente invención. Más particularmente, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de Ps que comprende administrar a un paciente en necesidad de la misma una cantidad eficaz de una formulación farmacéutica de la presente invención. Además, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de AR que comprende administrar a un paciente en necesidad de la misma una cantidad eficaz de una formulación farmacéutica de la presente invención. Además, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de AP que comprende administrar a un paciente en necesidad de la misma una cantidad eficaz de una formulación farmacéutica de la presente invención. Además, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento de EA que comprende administrar a un paciente en necesidad de la misma una cantidad eficaz de una formulación farmacéutica de la presente invención.

50 Además, la presente invención proporciona la formulación farmacéutica de la presente invención para uso en terapia. Además, la presente invención proporciona la formulación farmacéutica de la presente invención para uso en el tratamiento de AR, Ps, EA, AP o MM. Más particularmente, la presente invención proporciona la formulación farmacéutica de la presente invención para uso en el tratamiento de Ps. Además, la presente invención proporciona la formulación farmacéutica de la presente invención para uso en el tratamiento de AR. Además, la presente invención proporciona la formulación farmacéutica de la presente invención para uso en el tratamiento de AP. Además, la

presente invención proporciona la formulación farmacéutica de la presente invención para uso en el tratamiento de EA.

Además, la presente invención proporciona el uso de la formulación farmacéutica de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de AR, Ps, EA, AP o MM. Más particularmente, la presente invención proporciona el uso de la formulación farmacéutica de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de Ps. Además, la presente invención proporciona el uso de la formulación farmacéutica de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de AR. Además, la presente invención proporciona el uso de la formulación farmacéutica de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de AP. Además, la presente invención proporciona el uso de la formulación farmacéutica de la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de EA.

10 Ciertas formulaciones farmacéuticas son preferentes. Las selecciones enumeradas siguientes describen dichas clases preferentes:

- 1) el anticuerpo anti-IL-17- comprende un anticuerpo con una RVCL y una RVCP, en el que dicha RVCL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 2 y dicha RVCP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 3; comprende un anticuerpo con una cadena ligera (CL) y una cadena pesada (CP), en el que dicha CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y dicha CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5; o comprende un anticuerpo que comprende dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CPs), en el que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5;
- 2) el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo con una cadena ligera (CL) y una cadena pesada (CP), en el que dicha CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y dicha CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5;
- 3) el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo que comprende dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CPs), en el que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5;
- 4) el anticuerpo anti-IL-17 a una concentración comprendida en el intervalo de aproximadamente 80 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml;
- 5) el anticuerpo anti-IL-17 a una concentración de aproximadamente 80 mg/ml;
- 6) el polisorbato-80 a una concentración comprendida en el intervalo de aproximadamente el 0,02% (p/v) a aproximadamente el 0,03% (p/v);
- 7) el polisorbato-80 a una concentración de alrededor el 0,03% (p/v).

Ciertas formulaciones en solución farmacéutica son preferentes. Las selecciones enumeradas siguientes describen dichas clases preferentes:

- 1) el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo con una RVCL y una RVCP, en el que dicha RVCL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 2 y dicha RVCP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 3; comprende un anticuerpo con una cadena ligera (CL) y una cadena pesada (CP), en el que dicha CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y dicha CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5; o comprende un anticuerpo que comprende dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CPs), en el que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5;
- 2) el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo con una cadena ligera (CL) y una cadena pesada (CP), en el que dicha CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y dicha CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5;
- 3) el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo que comprende dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CPs), en el que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5;
- 4) el anticuerpo anti-IL-17 a una concentración comprendida en el intervalo de aproximadamente 80 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml;
- 5) el anticuerpo anti-IL-17 a una concentración de aproximadamente 80 mg/ml;
- 6) el polisorbato-80 a una concentración comprendida en el intervalo de aproximadamente el 0,02% (p/v) a aproximadamente el 0,03% (p/v);

7) el polisorbato-80 a una concentración de aproximadamente el 0,03% (p/v).

En una realización, la presente divulgación proporciona también una formulación farmacéutica que comprende una concentración de anticuerpo anti-IL-17 de aproximadamente 80 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de anticuerpo anti-IL-17s comprendida en el intervalo de 68 mg/ml a 92 mg/ml. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de anticuerpo anti-IL-17 de aproximadamente 80 mg/ml. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de anticuerpo anti-IL-17 de aproximadamente 120 mg/ml. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de anticuerpo anti-IL-17 de aproximadamente 150 mg/ml.

En una realización, la presente divulgación proporciona también una formulación farmacéutica que está tamponada con tampón de citrato en el intervalo de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 25 mM. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que está tamponada con tampón de citrato en el intervalo de 15 mM a 25 mM. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que está tamponada con tampón de citrato a una concentración de aproximadamente 15 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente 25 mM, o aproximadamente 30 mM. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que está tamponada con tampón de citrato a una concentración de aproximadamente 20 mM.

En una realización, la presente divulgación proporciona también una formulación farmacéutica que comprende una concentración de NaCl de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de NaCl de 175 mM a 225 mM. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de NaCl de aproximadamente 200 mM, aproximadamente 250 mM o aproximadamente 300 mM. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de NaCl de aproximadamente 200 mM.

En una realización, la presente divulgación proporciona también una formulación farmacéutica que comprende una concentración de polisorbato-80 o polisorbato-20 de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 0,04%. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de polisorbato-80 o polisorbato-20 del 0,02% al 0,04%. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de polisorbato-80 o polisorbato-20 de aproximadamente el 0,01%, aproximadamente el 0,02%, aproximadamente el 0,03% o aproximadamente el 0,04%. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende una concentración de polisorbato-80 o polisorbato-20 de aproximadamente el 0,03%.

En una realización, la presente divulgación proporciona también una formulación farmacéutica que comprende un intervalo de pH de aproximadamente 5,4 a aproximadamente 6,0. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende un pH en el intervalo de 5,4 a 6,0. En otra realización, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende un pH de aproximadamente 5,4, aproximadamente 5,7 o aproximadamente 6,0. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende un pH de aproximadamente 5,7.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un tampón de citrato. El tampón de citrato puede prepararse con ácido cítrico, dihidrato de citrato trisódico y monohidrato de ácido cítrico; o monohidrato de ácido cítrico, fosfato dibásico de sodio y ácido cítrico. Además, puede prepararse un tampón de citrato que comprende citrato monobásico de sodio, sal trisódica de ácido cítrico, hidrato tribásico de citrato de sodio. Preferentemente, tampón de citrato se prepara con dihidrato de citrato de sodio y ácido cítrico.

El anticuerpo mAb 126 es un anticuerpo anti-IL-17 que consiste en dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CP), en el que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácido de la SEQ ID N°: 5, y en el que los CP están reticulados mediante enlaces disulfuro.

La estructura general de un "anticuerpo" es muy bien conocida en la técnica. Para un anticuerpo de tipo IgG, hay cuatro cadenas de aminoácidos (dos cadenas "pesadas" y dos cadenas "ligeras") que están reticuladas por medio de enlaces disulfuro, intra- e inter- cadenas. Cuando se expresan en ciertos sistemas biológicos, los anticuerpos que tienen secuencias Fc humanas no modificadas están glicosiladas en la región Fc. Los anticuerpos pueden estar glicosilados en otras posiciones también. Una persona con conocimientos en la materia apreciará que los anticuerpos para uso en la formulación de la presente invención pueden contener dicha glicosilación. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de los anticuerpos son bien conocidas en la técnica. Cada cadena pesada está compuesta de una región variable de cadena pesada ("RVCP") N-terminal y una región constante de cadena pesada ("HCCR"). La región constante de cadena pesada se compone de tres dominios (CH1, CH2, y CH3) para IgG, IgD e IgA;

y 4 dominios (CH1, CH2, CH3 y CH4) para IgM e IgE. Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de cadena ligera ("RVCL") y una región constante de cadena ligera ("LCCR"). Las regiones variables de cada par de cadenas ligera/pesada forman el sitio de unión del anticuerpo.

5 Un anticuerpo anti-IL-17 para su uso en las formulaciones de la presente invención puede producirse usando técnicas bien conocidas en la técnica, por ejemplo, tecnologías recombinantes, tecnologías de visualización de fagos, tecnologías sintéticas o combinaciones de dichas tecnologías u otras tecnologías ampliamente conocidas en la técnica. Los procedimientos para producir y purificar anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno son bien conocidos en la técnica y pueden encontrarse, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, capítulos 5-8 y 15, ISBN 0-87969-314-2.

10 Un anticuerpo anti-IL-17 para su uso en las formulaciones de la presente invención es un anticuerpo artificial que ha sido diseñado para tener marcos, regiones bisagra y regiones constantes de origen humano que son idénticos o sustancialmente idénticos (sustancialmente humanos) a los marcos y las regiones constantes derivadas de secuencias genómicas humanas. Los marcos, las regiones de bisagra y las regiones constantes totalmente humanas son aquellas secuencias de la línea germinal humana, así como secuencias con mutaciones somáticas de origen natural y/o
15 aquellas con mutaciones artificiales. Un anticuerpo para su uso en una formulación de la presente invención puede comprender regiones marco, bisagra o constantes derivadas de una región marco, bisagra o constante completamente humana que contiene una o más sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos en la misma. Además, un anticuerpo para uso en una formulación de la presente invención es sustancialmente no inmunogénica en seres humanos.

20 La estabilidad de un anticuerpo en solución depende de la estabilidad química y estabilidad física del anticuerpo en la formulación en la que se solubiliza el anticuerpo. La oxidación, la desamidación y la hidrólisis son ejemplos de problemas de estabilidad química que un anticuerpo puede tener en una formulación. La agregación y la formación de gel son ejemplos de problemas de estabilidad física que un anticuerpo puede tener en una formulación. Otro problema de estabilidad física con anticuerpos en una formulación en solución puede ser la separación de fases líquido-líquido (SFLL); típicamente, la SFLL en una solución de anticuerpo aparece primero como opalescencia, seguido de
25 separación en fases ligera y pesada. El punto de enturbiamiento o turbidez es la temperatura a la que se observa por primera vez SFLL para una condición determinada; el punto de enturbiamiento mide la temperatura a la que las soluciones se convierten en blancas opacas como resultado de la formación de micro-fases que, en última instancia, se resuelven en las fases pesada y ligera asociadas tradicionalmente con la separación de fases.

30 Una formulación farmacéutica es una formulación estable en la que el grado de degradación, modificación, agregación, pérdida de actividad biológica y similares, de las proteínas/anticuerpos en la misma es controlada de manera aceptable y no aumenta de manera inaceptable con el tiempo. La estabilidad puede evaluarse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica, incluyendo la medición de la dispersión de la luz por una muestra, la atenuación aparente de la luz (absorbancia o densidad óptica), el tamaño (por ejemplo, mediante cromatografía de exclusión de tamaño (CET)),
35 actividad biológica *in vitro* o *in vivo* y/o propiedades medidas mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB). Otros procedimientos para evaluar la estabilidad son bien conocidos en la técnica y pueden usarse también según la presente invención. Según la medición mediante CET, el % de monómero para una formulación farmacéutica anti-IL-17 debería ser mayor del 90% después de un almacenamiento a 5°C durante un período de 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses, 18 meses o preferentemente 2 años. Según la medición mediante cromatografía de intercambio catiónico (CIC), las variaciones porcentuales de ácido total no deberían exceder el 30% para una formulación farmacéutica anti-IL-17 después de un almacenamiento a 5°C durante un período de 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses, 18 meses o preferentemente 2 años. Para las mediciones de pureza mediante CE-SDS reducida, una formulación farmacéutica anti-IL-17 debería tener una pureza superior al 85% después de un almacenamiento a 5°C durante un período de 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses, 18 meses o preferentemente 2 años. Preferentemente, una formulación
45 farmacéutica de anticuerpos anti-IL-17 cumple uno de los criterios indicados anteriormente para la estabilidad a una temperatura de 5°C para una solución almacenada durante dos años. Más preferentemente, una formulación farmacéutica de anticuerpos anti-IL-17 cumple todos los estándares indicados anteriormente para la estabilidad a una temperatura de 5°C para una solución almacenada durante dos años.

50 Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar en la forma de dosificación líquida de una solución, emulsión o suspensión. Preferentemente, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención están en la forma de dosificación líquida de una solución.

La administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede ser mediante administración parenteral. La administración parenteral se entiende comúnmente en la bibliografía médica como la inyección al cuerpo de una forma de dosificación mediante una jeringa estéril o algún otro dispositivo mecánico, tal como una bomba de
55 infusión. Las vías parenterales pueden incluir las vías de administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. La administración subcutánea es una vía preferente.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden usarse para tratar sujetos con AR, Ps, EA, AP o MM.

Una cantidad eficaz de la formulación de anticuerpos anti-IL-17 de la presente invención es la cantidad que suministra una cantidad de anticuerpos anti-IL-17 que resulta en un efecto terapéutico y/o profiláctico deseado sin causar efectos secundarios inaceptables cuando se administra a un sujeto con niveles incrementados de IL-17.

Ejemplo 1

5 Formulación de mAb 126

Tabla 1: Formulación de producto farmacológico mAb 126

Componente	Concentración (mg/ml)
mAb 126	80
Dihidratado de citrato de sodio	5,106
Ácido cítrico anhidro	0,507
Cloruro de sodio	11,69
Polisorbato 80	0,30
Agua para inyección	c.s. a 1 ml
Ácido clorhídrico	ajuste de pH
Hidróxido de sodio	ajuste de pH

Tabla 2: Composición de excipiente de tampón

Componente	Concentración (mg/ml)
Dihidratado de citrato de sodio	5,106
Ácido cítrico anhidro	0,507
Cloruro de sodio	11,69
Polisorbato 80	0,414

10 El procedimiento de fabricación de la formulación de solución farmacéutica de anticuerpos anti-IL-17 para mAb 126 (Tabla 1) consiste en primero en combinar la composición de excipiente tampón (Tabla 2), seguido por la combinación de la formulación de producto farmacéutico final.

15 La composición de excipiente tampón (Tabla 2), se prepara, se filtra y se almacena para combinar la formulación del producto fármaco. Una cantidad apropiada de agua a una temperatura de 20 +/- 5°C se pesa en un recipiente vacío pesado previamente, de tamaño apropiado. Se añade y se mezcla la cantidad apropiada de citrato de sodio; a continuación se añade la cantidad apropiada de ácido cítrico y se mezcla. A continuación, se añade la cantidad apropiada de cloruro de sodio y se mezcla. El Polisorbato 80 se pesa con precisión en un recipiente de vidrio y se añade una cantidad apropiada de agua a una temperatura de 20 +/- 5°C al recipiente de vidrio para dar la concentración en la Tabla 2, y la solución se mezcla. Se añade todo el contenido de la solución de polisorbato 80 a los otros excipientes. El recipiente de la solución de polisorbato 80 se enjuaga con agua para asegurar que se transfiera todo el contenido. Después de la adición de la solución de polisorbato 80, la solución se mezcla. Una vez completados la disolución y el mezclado, se comprueba que el pH de la solución esté comprendido en 5,7 +/- 0,2; si es necesario, se realiza un ajuste con una solución de HCl o NaOH. La composición de excipiente de tampón se pasa a través de un filtro (fluoruro de polivinilideno [PVDF]) para reducir la carga biológica.

25 La composición de excipiente de tampón se complementa con polisorbato 80 adicional para tener en cuenta la concentración más baja (0,2 mg/ml de polisorbato-80) en el ingrediente farmacéutico activo (IFA) en comparación con la formulación del producto fármaco final. Debido a que la concentración de mAb 126 en el AFI puede variar, la cantidad de tampón necesaria para la dilución cambiará también. Esta variación requiere que la concentración de polisorbato 80 sea ajustada para la receta de la composición de excipiente de tampón con cada lote.

Los recipientes de IFA mAb 126 almacenados (mAb 126 se expresa en células, se purifica y se concentra, a continuación, el AFI resultante se congela a entre aproximadamente 150 mg/ml y aproximadamente 160 mg/ml de mAb 126 en tampón de citrato 20 mM, NaCl 200 mM, el 0,02% de polisorbato-80, a un pH de aproximadamente 5,7) se equilibran a una temperatura de 20 +/- 5°C. A continuación, la solución de AFI se mezcla con una cantidad apropiada de la solución de excipiente de tampón para conseguir el 80% del tamaño del lote teórico. Se comprueba que el pH de la solución esté comprendido entre 5,7 +/- 0,2. Después del ajuste del pH, la solución se mezcla y se toma una muestra para un ensayo UV en proceso para determinar la concentración de mAb 126. Se añade una cantidad apropiada de la solución de excipiente de tampón para conseguir el peso final de lote objetivo. Después del mezclado, se comprueba que el pH de la solución esté comprendido entre 5,7 +/- 0,2, y se comprueba que la osmolalidad de la solución esté comprendida entre 360 y a 480 mOsm/Kg. La solución de producto farmacéutico mAb 126 se pasa a través de un filtro de PVDF para reducir la carga biológica y se almacenó a 5°C.

Ejemplo 2

Separación de fases

Se encontró que mAb 126 tiene una propensión a la separación de fases mientras está en soluciones que están por debajo de 0°C. La separación de fases líquido-líquido (SFLL) debe resolverse ya que el almacenamiento del producto farmacéutico mAb 126 será a 5°C. El almacenamiento del producto farmacéutico a 5°C requiere estabilidad durante excursiones periódicas de la temperatura del refrigerador por debajo de 0°C. Se ha demostrado que la reducción de la concentración de NaCl baja la temperatura a la que se produce la SFLL en las formulaciones de mAb 126, y se ha demostrado también que el aumento de la concentración de citrato reduce la temperatura a la que se produce la SFLL en las formulaciones de mAb 126.

Los eventos de LLP se ensayan en base a una técnica desarrollada específicamente para el intervalo de temperaturas (produciéndose la separación de fases entre -12 y 0°C) encontrados para mAb 126. Muestras de dos mililitros (ml) de 10 a 200 mg/ml de mAb 126 se colocaron en una unidad de liofilización LyoStar II (FTS Systems) con el ciclo mostrado en la Tabla 3. La presión se mantuvo a la presión atmosférica para los experimentos. Las condiciones de las muestras se ensayan al menos tres veces y la desviación estándar es de aproximadamente 0,5°C para las muestras medidas por triplicado. Las muestras se supervisan visualmente durante el ciclo de liofilización para detectar signos de separación de fases, incluyendo el punto de enturbiamiento (aspecto blanco opaco) y la formación de una capa rica en proteínas, densa, en la parte inferior del vial. Las muestras aparecen cada vez más opalescentes durante el enfriamiento, pero este efecto es fácilmente diferenciable del punto de enturbiamiento. Cuando se produce el punto de enturbiamiento, la muestra se convierte en una solución blanca opaca en menos de un segundo frente a un aumento gradual de la opalescencia en el que un objeto detrás de un vial todavía es visible a través de la muestra.

Tabla 3: Ciclo de liofilización para el ensayo de separación de fases líquido-líquido

Etapas	1	2	3
Velocidad de enfriamiento (°C/min)	5	1	5
Objetivo (°C)	5	-30	20
Tiempo de retención (min)	10	20	>20

Tal como se muestra en la Tabla 4, un aumento de la concentración de NaCl reduce la temperatura de enturbiamiento. Los factores que limitan el aumento de la concentración de NaCl en la formulación farmacéutica de anticuerpo anti-IL-17 son la hiper-tonicidad y otros efectos distintos de la separación de fases; NaCl 200 mM evita estos problemas mientras todavía reduce la temperatura de enturbiamiento. Además, se muestra que la SFLL en mAb126 es bimodal en todas las concentraciones de NaCl, excepto NaCl 300 mM; la SFLL es más fuerte a una concentración de 100 mg/ml de mAb 126, y los efectos de separación de fases se reducen a medida que la concentración se hace más grande o más pequeña que 100 mg/ml.

Tabla 4: Separación de fases líquido-líquido: Efectos de la concentración de NaCl y mAb 126

(Punto de enturbiamiento °C)

mAb 126 Conc. (Mg/ml)	10	50	100	150	200
50 NaCl mM	-4,1	2,1	5		

(Cont.)

100 NaCl mM		-1,2	2,7	1,1	
150 NaCl mM		-7,5	-4	-5,7	-10,4
200 NaCl mM		-8,5	-7	-10,2	-10,8
250 NaCl mM			-6,8	-11,3	
300 NaCl mM		-12,5	-9,9	-12,4	-8,8

5 Se mide el efecto del pH sobre el punto de enturbiamiento de una solución de mAb 126. Se encontró que el punto de enturbiamiento se minimizaba en dos pH, pH 4 y pH 6. El pH 6 debe ser considerado óptimo con relación al pH 4 cuando se selecciona una formulación para mAb 126, ya que la inestabilidad química de mAb 126 a pH 4 excluye el uso del punto de enturbiamiento bajo a pH 4. Debido a la formación de gel a un pH de 6,3 - 6,4, mostrada en el Ejemplo 3, para las formulaciones farmacéuticas de mAb 126, el pH 5,7 +/- 0,3 es preferente sobre el pH 6 +/- 0,3 con el fin de permitir un intervalo de pH que permanece estable durante la vida útil de la formulación farmacéutica.

10 Se exploran los efectos de diversos tampones usados comúnmente sobre la separación de fases líquido-líquido para entender cuál sería el sistema de tampón óptimo para mAb 126 (Tabla 5); se encuentra que el tampón de citrato es más eficaz para reducir la temperatura a la que se produce la SFLL. Estos estudios se llevan a cabo con NaCl 150 mM. El tampón de acetato es comparable a un tampón de citrato a pH 5 en términos del efecto sobre el punto de enturbiamiento; sin embargo, la inestabilidad química a pH 5 hace que esta condición de pH sea menos favorable.

15 Se muestra que la concentración de citrato afecta positivamente a la SFLL (Tabla 6). Aunque el citrato reduce el punto de enturbiamiento hasta 50 mM; se ha informado también de que el tampón de citrato causa más dolor en la inyección. De esta manera, es probable que las concentraciones de citrato mayores de 30 mM sean inaceptables desde un punto de vista cumplimiento del paciente.

Tabla 5: Efectos de tampón sobre la temperatura de punto de enturbiamiento con 150 mg/ml de mAb 126

Tampón	mM	pH	Punto de enturbiamiento (°C)
Acetato	10	5	-4,1
Citrato	10	5	-4,4
Histidina	10	6	-2,2
Citrato	10	6	-8,1

20 **Tabla 6: Separación de fases líquido-líquido: Efectos de la concentración de citrato con 150 mg/ml de mAb 126**

Conc. citrato	Punto de enturbiamiento (°C)
5 nM	-6,3
10 mM	-8,2
20 mM	-10,2
30 mM	-13,6
40 mM	-14,6

Ejemplo 3

Formación de gel

Los productos farmacéuticos biológicos se almacenan a 5°C +/- 3°C para minimizar la degradación química y física

durante la vida útil de un producto. Típicamente, los eventos tales como el cambio de fase sólida termodinámica o la formación de gel no son aceptables, aunque sean reversibles, ya que pueden afectar negativamente a la estabilidad y pueden obstaculizar la inspección visual requerida de las muestras antes de su uso.

5 El cambio de fase sólido se observa en las muestras de alta concentración de mAb 126 bajo condiciones de pH <pH 5 y pH 7> a 5°C. Se demuestra que este evento termodinámico es reversible equilibrando los viales a temperatura ambiente. Por consiguiente, las muestras se ensayan a diversas condiciones de pH y se supervisan para detectar cambios termodinámicos con el fin de encontrar los límites de fase de manera más precisa. Estos ensayos se llevan a cabo dializando las muestras a pH 7, tampón de citrato a 5°C para inducir el cambio de fase. A continuación, el material sólido se dializa, a la misma temperatura bajo las condiciones de interés para determinar si las muestras volverían o no al estado de solución. El procedimiento de ensayo de equilibrio es preferente para el almacenamiento de muestras a largo plazo con inspecciones intermitentes ya que, aunque una formulación particular puede ser termodinámicamente inestable, en algunos casos pueden requerirse meses para que se produzca la cinética del cambio de fase sólida.

10 Los estudios se llevan a cabo con 100 mg/ml o 150 mg/ml de mAb 126 en NaCl 200 mM, tampón de citrato 10 mM en incrementos de pH de 0,1 para encontrar dónde están los límites para la formación de fase sólida. Se encuentra que la transición entre las fases es entre pH 6,3 y 6,4 a 5°C. Debido a los límites de fase, el pH objetivo para una formulación de mAb 126 se reduce desde pH 6 a 5,7 para asegurar una ventana de almacenamiento estable.

15 Se llevan a cabo dos experimentos con 80 mg/ml de mAb 126 a 5°C en tampón de citrato 20 mM, NaCl 200 mM y 0,03% de polisorbato-80; no hay formación de gel a o por debajo de pH 6,1, mientras que se produce formación de gel por encima de pH 6,1. Estos experimentos indican que la formulación con 80 mg/ml de mAb 126 tiene una ventana de pH 5.7 +/- 0.3 unidades de pH de ancho que evita la formación de gel.

20 **Ejemplo 4**

Inestabilidad química

Para que una formulación farmacéutica consiga estabilidad, es necesario hacer frente a las fuentes de inestabilidad, tanto físicas como químicas, en la formulación. La inestabilidad química puede resultar en la degradación del anticuerpo.

30 Con el fin de evaluar el efecto del pH sobre la estabilidad química de mAb 126 a 100 y 150 mg/ml, las muestras de mAb 126 se analizan para detectar aumentos del % total de variantes ácidas mediante cromatografía. El intervalo de pH de 4 a 7 se explora en incrementos de semi-unidades de pH. El tampón para el estudio incluye tampón de citrato 10 mM, NaCl 150 mM y 0,02% de polisorbato 80. Soluciones de dos ml se almacenan en viales de vidrio de 3 ml con tapones de suero. Las muestras en estos entornos de pH se almacenan a 5°C, 25°C y 40°C con el fin de modelar de manera más precisa el efecto de la temperatura sobre las diferentes formas de degradación. Las muestras se analizan mediante HPLC de intercambio catiónico (CIC) usando un detector UV y una columna Dionex ProPac WCX-10 (4x250mm) con un pH de 6 Bis Tris propano 10 mM (fase móvil A) y pH 9,6 Bis Tris propano 10 mM, NaCl 50 mM (fase móvil B).

35 Mediante CIC, los aumentos en % total de variantes de ácido (%AV) son el indicador más fiable de la degradación para el mAb 126. CIC muestra que los viales de mAb 126 almacenados a 25°C son más estables entre pH 5-6 y son menos estables en condiciones de pH más alcalinas. Cuando las muestras se almacenan a 40°C, pH 5 y 5,5 son los más estables, y pH 6 aparece sólo ligeramente más estable que los entornos de pH más altos. Estos resultados muestran que el pH de la formulación de solución farmacéutica para mAb 126 debería estar comprendido entre pH 5 y pH 6.

40 **Ejemplo 5**

Estudio de diseño de experimento (DDE)

45 El estudio DDE usa un enfoque multivariable para examinar la estabilidad física y química de las formulaciones en solución de mAb 126. Las formulaciones en solución de mAb 126 se preparan según la Tabla 7. Cada variable se explora a cinco niveles para medir cualquier curvatura que pudiera existir en los parámetros de respuesta de salida o interacciones entre las variables de entrada. La condición de punto central para el experimento es citrato 20 mM, NaCl 200 mM, pH 5,7, 0,02% de polisorbato 80. Tres puntos centrales se encuentran dispersos en todo el diseño. La preparación independiente de tres puntos centrales proporciona una estimación de la certeza de los datos analíticos sin requerir que todas las condiciones sean preparadas y analizadas por duplicado o por triplicado. Las muestras se almacenan a cuatro condiciones de temperatura (5, 25, 30 y 40°C). Este intervalo de temperaturas permite estimaciones de las energías de activación para los resultados. Además, el almacenamiento a temperaturas más altas permite predicciones más tempranas de las condiciones de formulación óptimas.

50 Se seleccionan una serie de técnicas de análisis para supervisar la estabilidad química y física, incluyendo cromatografía de exclusión de tamaño (CET), cromatografía de intercambio catiónico (CIC) HPLC, análisis de

ES 2 610 707 T3

partículas basado en HIAC, análisis de partículas basado en imagen digital mediante formación de imágenes por microflujo (MFI, Protein Simple/Brightwell Model DPA 4200 con intervalo de tamaños de 2-100 μm), aspecto visual, Bioanalyzer Lab-on-a-chip (LoC) reducido y no reducido, pH, viscosidad y absorción UV (para medir el contenido de proteína).

- 5 Usando los datos de todas las temperaturas a partir del período inicial de tres meses, las energías de activación (E_a) se calculan empleando un modelo cinético Arrhenius (de orden cero o de primer orden). Las energías se encuentran usando regresión no lineal de todas las ejecuciones. A continuación, el modelo se emplea para extrapolar tendencias a partir de los 24 meses a la temperatura de almacenamiento comercial relevante (5°C). El modelado Arrhenius de orden
- 10 cero se usa para CET (monómero, polímero Rel. Sub/impurezas), CIC (variantes de ácido), LoC reducido/no reducido, y contenido de UV. El mejor ajuste para las tendencias de variantes básicas CIC es un modelo de primer orden.

Tabla 7. Diseño experimental

Ejecución	pH	[PS80]	[NaCl]	[mAb 126]	[Tampón]	Tipo tampón
1	5,7	0,02	200	120	20	Citrato
2	6	0,01	150	105	25	Citrato
3	6	0,03	150	105	15	Citrato
4	5,7	0	200	120	20	Citrato
5	5,4	0,03	150	135	15	Citrato
6	6	0,01	250	105	15	Citrato
7	5,7	0,02	200	90	20	Citrato
8	5,7	0,02	100	120	20	Citrato
9	6,3	0,02	200	120	20	Citrato
10	5,1	0,02	200	120	20	Citrato
11	6	0,03	250	105	25	Citrato
12	5,4	0,01	150	105	15	Citrato
13	5,4	0,03	250	135	25	Citrato
14	6	0,03	150	135	25	Citrato
15	5,7	0,02	200	120	20	Citrato
16	5,7	0,02	200	120	10	Citrato
17	5,4	0,01	250	135	15	Citrato
18	5,4	0,01	150	135	25	Citrato
19	6	0,03	250	135	15	Citrato
20	5,7	0,04	200	120	20	Citrato
21	5,4	0,03	250	105	15	Citrato
22	6	0,01	150	135	15	Citrato
23	5,4	0,03	150	105	25	Citrato
24	5,7	0,02	300	120	20	Citrato
25	5,7	0,02	200	15	20	Citrato

(Cont.)

26	6	0,01	250	135	25	Citrato
27	5,4	0,01	250	105	25	Citrato
28	5,7	0,02	200	120	30	Citrato
29	5,7	0,02	200	120	20	Citrato

Cromatografía de exclusión por tamaño

5 Las dos variables con el mayor efecto sobre el porcentaje de monómero en base a los resultados de CET son el pH y la concentración de mAb 126. El efecto de la concentración de mAb 126 es lineal con el aumento de la concentración de proteína que resulta en una menor pureza del monómero.

10 Tres variables de entrada (pH, concentración de NaCl y concentración de tampón) muestran curvatura en su efecto sobre el porcentaje de monómero. Con respecto a NaCl y la concentración de citrato, los valores cercanos al punto central son los más estables. Las condiciones de pH menor son ligeramente más estables que el punto central, pero otros resultados de la vía de degradación hacen que la disminución del pH objetivo sea menos atractiva.

Se producen interacciones entre el efecto del pH y la concentración de proteína, reduciéndose los efectos de la concentración de proteína en condiciones de pH por debajo de 5,7. La predicción de dos años para la pureza del monómero en las condiciones del punto central del estudio es ligeramente inferior al 96,7%. La concentración de polisorbato 80 tiene poco efecto sobre de estabilidad desde el 0,02-0,04%.

15 Cromatografía de intercambio catiónico

20 El análisis CIC se centra en el crecimiento de las especies ácidas con el tiempo. El modelado estadístico de CIC% AV (Ea es de 23,7 kcal/g-mol) muestra que debería esperarse pocas modificaciones químicas después de 24 meses de almacenamiento a 5°C. La generación variantes ácidas se minimiza cerca del punto central para el pH, pero aumenta con una mayor concentración de citrato. Las tendencias de la concentración de mAb 126 y polisorbato 80 sugieren que el punto central está cerca de la posición menos óptima; sin embargo, en base a la magnitud de la escala del eje y, la diferencia en la estabilidad del punto central a otras condiciones es esencialmente insignificante.

Bioanalyzer LoC reducido

25 El porcentaje de pureza de LoC reducido es una combinación de los porcentajes relativos de las cadenas pesadas y ligeras. Las dos variables de entrada con la mayor influencia sobre las predicciones de 24 meses son el pH y la concentración de NaCl. El porcentaje de pureza se maximiza cerca del punto central de NaCl 200 mM. El porcentaje de pureza aumenta con el aumento del pH. Incluso en las condiciones de formulación extremas ensayadas en el estudio DDE, la molécula es todavía > 98% pura, lo que indica que el anticuerpo es estable según se mide por LoC reducido sobre el rango del análisis multivariante. La EA es 21,8 kcal/g-mol.

Proyecciones combinadas

30 Todas las condiciones en el espacio de diseño estudiado durante este experimento tienen proyecciones de 2 años de vida útil que predicen una degradación <5%. Sin embargo, otros factores físicos excluyen condiciones de pH por encima de pH 6,3; por lo tanto, las condiciones objetivo para la formulación no deberían estar cerca de este límite de pH. Además, es importante seleccionar un objetivo que esté en un máximo global óptimo para las variables de entrada exploradas. En base a consideraciones de fabricación, que indican que se necesita > 0,01% de polisorbato 80 para el bombeo, el objetivo de polisorbato 80 es del 0,03%. En base a los resultados de este estudio, las condiciones de formulación óptimas son citrato 20 mM, NaCl 200 mM, pH 5,7 con 0,03% de polisorbato 80.

Ejemplo 6

Estabilidad a 80 mg/ml de mAb 126

40 La estabilidad de 80 mg/ml de mAb 126 en citrato 20 mM, NaCl 200 mM, pH 5,7 con 0,03% de polisorbato 80 se ensaya a 24 meses. Para el almacenamiento a 5°C, la estabilidad de la formulación farmacéutica de anticuerpo anti-IL-17 se mide a 0, 1, 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses. La temperatura de almacenamiento esperada será de 5°C para la formulación farmacéutica de anticuerpos anti-IL-17. Los estudios de estabilidad acelerada a 25°C se ejecutan para 1, 3 y 6 meses.

5 Se seleccionan una serie de técnicas de análisis para supervisar la estabilidad química y física, incluyendo cromatografía HPLC de exclusión por tamaño, cromatografía HPLC de intercambio de cationes, apariencia visual, pH y absorción UV. Se lleva a cabo una CE-SDS usando el kit de pureza/heterogeneidad Beckman Coulter IgG Purity/Heterogeneity con un instrumento Beckman Coulter ProteomeLab PA800 Enhanced o Plus capillary electrophoresis (CE). Para una CE-SDS reducida, las muestras se analizaron en un capilar de sílice fundida bajo condiciones de reducción, desnaturalizada, mediante tamizado molecular a través de una matriz de polímero gel reemplazable después de cada inyección de muestra. Para la CE-SDS no reducida, las muestras se diluyeron a aproximadamente 5 mg/ml en agua y posteriormente se diluyeron en diluyente de muestra (IAM 20 mM en Tris 100 mM, 1% de SDS, pH 9,0) a aproximadamente 1 mg/ml. Posteriormente, las muestras se analizaron en un capilar de sílice fundida bajo condiciones no reductoras, desnaturalizadas, mediante tamizado molecular a través de una matriz de polímero gel reemplazable a voltaje constante. Para ambos procedimientos, la detección UV se realizó a 214 nm. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Datos de estabilidad para mAb 126 a 80 mg/ml

Propiedad analítica	Condición de almacenamiento	Mes				
		0	1	3	6	9
Potencia (bioensayo),%	5°C	87	--	--	--	108
	25°C/60° HR		106	--	109	--
Cantidad (UV), mg/ml	5°C	75,4	--	76,2	75,5	75,4
	25°C/60° HR		75,3	76,0	76,5	--
Pureza de monómero (CET),%	5°C	98,3	--	98,1	98,3	97,9
	25°C/60° HR		98,3	97,6	97,6	--
Rel Subs/Impurezas: Total (CET),%	5°C	1,7	--	1,9	1,7	2,1
	25°C/60° HR		1,7	2,4	2,4	--
Pureza mAb 126 (CE-SDS, Reducida),%	5°C	97,8	--	97,4	97,3	97,2
	25°C/60° HR		97,4	96,9	96,3	--
Heterogeneidad de carga (CIC) [Pico Principal],%	5°C	53,9	--	53,0	54,1	55,1
	25°C/60° HR		56,7	59,7	60,0	--
Heterogeneidad de carga (CIC) [Variantes ácidas],%	5°C	13,4	--	15,4	15,3	16
	25°C/60° HR		15,8	21,4	27,4	--
Heterogeneidad de carga (CIC) [Variantes básicas],%	5°C	32,8	--	31,6	30,7	28,9
	25°C/60° HR		27,5	18,8	13,0	--
pH	5°C	5,7	--	5,7	5,7	5,7
	25°C/60° HR		5,7	5,7	5,7	--
Apariencia física	5°C	NT	Aprobada ¹			Aprobada
	25°C/60° HR		NT	--	--	--
Materia en partículas (mayor o igual a 10 micrómetros), partículas por recipiente	5°C	289	--	131	184	63
	25°C/60° HR		194	177	369	--

(Cont.)

Materia en partículas (mayor o igual a 25 micrómetros), partículas por recipiente	5°C	9	--	8	31	3
	25°C/60° HR		4	60	20	--
¹ La apariencia física no se llevó a cabo en la liberación de lotes o el punto de tiempo de 1 mes. Los resultados mostrados se obtuvieron después de un almacenamiento a 5°C durante aproximadamente 2,5 meses.						

Listado de secuencias

SEQ ID N°: 1 (IL-17 humana)

5 MTPGKTSLSV LLLLLSLEAI VKAGITIPRN PGCPNSEDKN FPRTVMVNLN
 IHNRNTNTNP KRSSDYNRS TSPWNLHRNE DPERYPSVIW EAKCRHLGCI
 NADGNVDYHM NSVPIQQEIL VLRREPPHCP NSFRLEKILV SVGCTCVTPI
 VHHVA

10 SEQ ID N°: 2 (RVCL)

DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCRSSRSLV HSRGNTYLHW YLQKPGQSPQ
 LLIYKVSNR F IGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQSTHLP
 FTFGQGTKLE IK

15 SEQ ID N°: 3 (RVCP)

QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSFT DYHIHWVRQA PGQGLEWMGV
 INPMYGTDDY NQRFKGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARYD
 YFTGTGVYWG QGTLVTVSS

20 SEQ ID N°: 4 (cadena ligera)

DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCRSSRSLV HSRGNTYLHW YLQKPGQSPQ
 LLIYKVSNR F IGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCSQSTHLP
 FTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
 25 VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

SEQ ID N°: 5 (cadena pesada)

5 QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYSFT DYHIHWVRQA PGQGLEWMGV
INPMYGTDDY NQRFKGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARYD
YFTGTGVYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD
YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTKTY
TCNVDHKPSN TKVDKRVESK YGPPCPPCPA PEFLGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVVDVSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTYR
10 VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD
GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSLG

Listado de secuencias

[0059]

<110> Eli Lilly and Company

15

<120> FORMULACIÓN ANTICUERPO IL-17

<130> X19157

20

<150> 61/607671

<151> 2012-03-07

<160> 5

25

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 155

<212> PRT

30

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 610 707 T3

Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ser
1 5 10 15

Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly
20 25 30

5 Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn
35 40 45

Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser
50 55 60

10 Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu
65 70 75 80

Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His
85 90 95

15 Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser
100 105 110

Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His
115 120 125

20 Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys
130 135 140

Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala
145 150 155

<210> 2

25 <211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

30 <223> constructo sintético

<400> 2

ES 2 610 707 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Val His Ser
20 25 30

5 Arg Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ile Gly Val Pro
50 55 60

10 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

15 Thr His Leu Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 3

<211> 119

<212> PRT

20 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> constructo sintético

25 <400> 3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Met Tyr Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

ES 2 610 707 T3

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

5 Ala Arg Tyr Asp Tyr Phe Thr Gly Thr Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

10 <210> 4

<211> 219

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> constructo sintético

<400> 4

20 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Arg Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Arg Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ile Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Leu Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

ES 2 610 707 T3

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

5 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

10 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

15 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 5

<211> 445

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> constructo sintético

25

<400> 5

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

His Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

35 Gly Val Ile Asn Pro Met Tyr Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Gln Arg Phe
 50 55 60

ES 2 610 707 T3

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Asp Tyr Phe Thr Gly Thr Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

ES 2 610 707 T3

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-IL-17 a una concentración comprendida en el intervalo de 80 mg/ml a 150 mg/ml, tampón de citrato a una concentración de 20 mM, cloruro de sodio a una concentración de 200 mM, polisorbato-80 a una concentración comprendida en el intervalo del 0,02% (p/v) al 0,03% (p/v), y pH a 5,7, en el que el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo con una cadena ligera (CL) y una cadena pesada (CP), en el que dicha CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y dicha CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5.
2. Formulación farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la concentración de anticuerpo anti-IL-17 es de 80 mg/ml.
- 10 3. Formulación farmacéutica según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la concentración de polisorbato-80 es del 0,03% (p/v).
4. Formulación farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la formulación es una formulación de solución farmacéutica de anticuerpos anti-IL-17.
- 15 5. Formulación farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende un anticuerpo anti-IL-17 a una concentración de 80 mg/ml, tampón de citrato a una concentración de 20 mM, cloruro de sodio a una concentración de 200 mM, polisorbato-80 a una concentración del 0,03%, y pH a 5,7, en el que el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo que comprende dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CPs), en el que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5.
- 20 6. Formulación según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el anticuerpo anti-IL-17 comprende un anticuerpo que comprende dos cadenas ligeras (CL) y dos cadenas pesadas (CP), en la que cada CL es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 4 y cada CP es la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID N°: 5.
7. Formulación farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en terapia.
8. Formulación farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso en el tratamiento de artritis reumatoide, psoriasis, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica o mieloma múltiple.

25