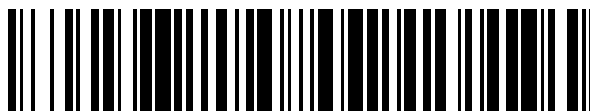


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 813**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61M 5/315** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.10.2011 PCT/US2011/054856**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.04.2012 WO12047954**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2011 E 11770625 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2624865**

54 Título: **Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-receptor de interleucina 4 (IL-4R)**

30 Prioridad:

**06.10.2010 US 390283 P**

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

**29.10.2018**

73 Titular/es:

**REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.  
(100.0%)  
777 Old Saw Mill River Road  
Tarrytown, NY 10591, US**

72 Inventor/es:

**DIX, DANIEL, B. y  
TANG, XIAOLIN**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 687 813 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

Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-receptor de interleucina 4 (IL-4R)

5 **Campo**

La presente invención se refiere al campo de las formulaciones de anticuerpos terapéuticos. Más específicamente, la presente invención se refiere al campo de las formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor de interleucina-4 humano.

10

**Antecedentes**

Las macromoléculas terapéuticas (por ejemplo, anticuerpos) deben formularse de una manera que no solo haga que las moléculas sean adecuadas para la administración a pacientes, sino que también mantengan su estabilidad durante el almacenamiento y el uso posterior. Por ejemplo, los anticuerpos terapéuticos en solución líquida son propensos a la degradación, la agregación o modificaciones químicas indeseadas a menos que la solución se formule apropiadamente. La estabilidad de un anticuerpo en una formulación líquida depende no solo de los tipos de excipientes utilizados en la formulación, sino también de las cantidades y proporciones de los excipientes entre sí. Además, deben tenerse en cuenta otras consideraciones aparte de la estabilidad cuando se prepara una formulación líquida de anticuerpo. Los ejemplos de dichas consideraciones adicionales incluyen la viscosidad de la solución y la concentración de anticuerpo que puede contener una formulación dada y la calidad visual o el atractivo de la formulación. Por tanto, cuando se formula un anticuerpo terapéutico, se debe tener gran cuidado para llegar a una formulación que permanezca estable, contenga una concentración adecuada de anticuerpo y posea una viscosidad adecuada, así como otras propiedades que permitan que la formulación se administre convenientemente a los pacientes.

Los anticuerpos contra el receptor alfa de interleucina 4 humano (hIL-4R $\alpha$ ) son un ejemplo de una macromolécula terapéuticamente relevante que requiere una formulación apropiada. Los anticuerpos anti-hIL-4R $\alpha$  son clínicamente útiles para el tratamiento o la prevención de enfermedades tales como la dermatitis atópica y el asma alérgica, y otras afecciones. Se describen anticuerpos anti-IL-4R $\alpha$  de ejemplo, entre otras, en las Patentes de los EE.UU. N.º 7.605.237; 7.608.693; 7.465.450; y 7.186.809; y las Solicitudes de Patente de los EE.UU. N.º 2010-0047254 y 2010-0021476. Wang et al, *J Pharm Sci*, 2007, 96: 1-26, revisan la estructura, la inestabilidad y la formulación de los anticuerpos. Aunque se conocen anticuerpos anti-hIL-4R $\alpha$ , sigue existiendo la necesidad en la técnica de nuevas formulaciones farmacéuticas que comprendan anticuerpos anti-hIL-4R $\alpha$  que sean suficientemente estables y adecuadas para la administración a pacientes.

**Sumario**

La presente invención satisface la necesidad mencionada anteriormente proporcionando formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor alfa de interleucina 4 humano (hIL-4R $\alpha$ ).

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida estable que comprende:

- 45 (i) un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor alfa de interleucina 4 humano (hIL-4R $\alpha$ ) a una concentración de hasta 200 mg/ml, en el que dicho anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$  consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR, por sus siglas en inglés) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR, por sus siglas en inglés) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera;
- 50 (ii) acetato a una concentración de 12,5 mM  $\pm$  2 mM;
- (iii) histidina a una concentración de 20 mM  $\pm$  3 mM;
- (iv) sacarosa a una concentración del 5 % p/v  $\pm$  0,75 % p/v;
- 55 (v) polisorbato 20 o polisorbato 80 a una concentración del 0,2 % p/v  $\pm$  0,03 % p/v; y
- (vi) arginina a una concentración de 25 mM  $\pm$  3,75 mM o a una concentración de 50 mM  $\pm$  7,5 mM;

en la que la formulación tiene un pH de 5,6 a 6,2, y

60 en la que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

En una realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml  $\pm$  50 mg/ml.

En otra realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml  $\pm$  15 mg/ml.

En una realización específica, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml.

65

En el anticuerpo (a), cada cadena pesada del anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada

- (HCVR) que comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada 1, 2 y 3 (HCDR1-HCDR2-HCDR3) comprendiendo, cada una, una secuencia de la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, respectivamente; y (b) cada cadena ligera del anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena ligera 1, 2 y 3 (LCDR1-LCDR2-LCDR3) comprendiendo, cada una, una secuencia de la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8, respectivamente. En el anticuerpo, cada cadena pesada comprende una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y cada cadena ligera comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, respectivamente.
- En una realización, el pH de la formulación líquida es aproximadamente  $\text{pH } 5,9 \pm 0,5$ . En una realización específica, el pH de la formulación líquida es aproximadamente  $\text{pH } 5,9 \pm 0,1$ . En una realización, el tampón farmacéutico líquido comprende uno o más tampones, que pueden tamponar de aproximadamente  $\text{pH } 5,6$  a aproximadamente  $\text{pH } 6,2$ .
- La formulación farmacéutica líquida comprende un sistema tampón que comprende al menos dos tampones. El primer tampón es un tampón de acetato y el segundo tampón es un tampón de histidina. El acetato está en una concentración de  $12,5 \text{ mM} \pm 1,9 \text{ mM}$  y la histidina está en una concentración de  $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ .
- La formulación farmacéutica líquida estable proporcionada comprende polisorbato 20 o polisorbato 80 a una concentración de aproximadamente el  $0,2 \% \pm 0,03 \% \text{ p/v}$  (peso a volumen).
- La formulación farmacéutica líquida estable comprende sacarosa como estabilizador térmico, comprendiendo la formulación sacarosa a una concentración del  $5 \% \text{ p/v} \pm 0,75 \% \text{ p/v}$ .
- En una realización, el reductor de la viscosidad es clorhidrato de arginina. En una realización específica, el reductor de la viscosidad es clorhidrato de L-arginina.
- La arginina está presente en la formulación farmacéutica líquida estable proporcionada a una concentración de  $25 \text{ mM} \pm 3,75 \text{ mM}$  o a una concentración de  $50 \text{ mM} \pm 7,5 \text{ mM}$ . En una realización específica, el reductor de la viscosidad es clorhidrato de L-arginina.
- En una realización, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es inferior o igual a aproximadamente  $35 \pm 3,5 \text{ cPoise}$ . En una realización, la viscosidad es de aproximadamente  $21,5 \pm 13,5 \text{ cPoise}$ , aproximadamente  $11 \pm 1,1 \text{ cPoise}$  o aproximadamente  $8,5 \pm 0,85 \text{ cPoise}$ . En una realización específica, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es de aproximadamente  $8,5 \pm 0,85 \text{ cPoise}$ .
- En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es inferior a aproximadamente  $450 \text{ mOsm/kg}$ . En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es de aproximadamente  $290 \pm 20 \text{ mOsm/kg}$ .
- Al menos el  $90 \%$  o al menos el  $95 \%$  de la forma nativa del anticuerpo anti-hIL-4R $\alpha$  se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de seis meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ , según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño. En una realización específica, al menos el  $98 \%$  de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a  $5 \text{ }^\circ\text{C}$ , según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.
- En una realización, al menos el  $90 \%$  de la forma nativa del anticuerpo se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de ocho semanas de almacenamiento a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.
- En una realización, menos del  $45 \%$  del anticuerpo, que se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de ocho semanas de almacenamiento a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , es una forma ácida, según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico.
- En una realización, se agrega menos de aproximadamente el  $4 \%$  del anticuerpo, que se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de seis meses de almacenamiento a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , según se determina mediante cromatografía de intercambio de exclusión por tamaño.
- En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida que comprende:
- (i)  $150 \text{ mg/ml} \pm 50 \text{ mg/ml}$  de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato  $12,5 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ ; (iii) histidina  $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ ; (iv) sacarosa al  $5 \% \pm 0,75 \%$ ; (v) polisorbato 20 al  $0,2 \% \pm 0,03 \%$ ; y (vi) arginina  $25 \text{ mM} \pm 3,75 \text{ mM}$ , a un

pH de  $5,9 \pm 0,5$  y

en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

5 En una realización, la formulación farmacéutica líquida tiene una viscosidad de aproximadamente  $8,5 \pm 0,85$  cPoise a aproximadamente  $11 \pm 1,1$  cPoise. En una realización específica, la viscosidad de la formulación farmacéutica líquida es de aproximadamente  $8,5 \pm 0,85$  cPoise.

10 En una realización, la formulación farmacéutica líquida es fisiológicamente isotónica. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es de aproximadamente  $290 \pm 20$  mOsm/kg.

15 Al menos aproximadamente el 98 % de la forma nativa del anticuerpo anti-hIL4-R $\alpha$  se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

20 En una realización, al menos aproximadamente 90 % de la forma nativa del anticuerpo anti-hIL4-R $\alpha$  se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de ocho semanas de almacenamiento a 45 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

En una realización, menos de aproximadamente el 45 % del anticuerpo, que se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de ocho semanas de almacenamiento a 45 °C, es una forma ácida, según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico.

25 En una realización, se agrega menos del 4 % del anticuerpo, que se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de seis meses de almacenamiento a 25 °C, según se determina mediante cromatografía de intercambio de exclusión por tamaño.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica líquida estable:

30 (i) 150 mg/ml  $\pm$  50 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo  
35 cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  2 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 %; (v) polisorbato 80 al 0,2 %  $\pm$  0,03 %; y (vi) arginina 25 mM  $\pm$  3,75 mM, a un pH de  $5,9 \pm 0,5$  y

40 en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica líquida estable:

45 (i) 175 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada  
50 cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  2 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 %; (v) polisorbato 20 al 0,2 %  $\pm$  0,03 %; y (vi) arginina 50 mM  $\pm$  3,75 mM, a un pH de  $5,9 \pm 0,5$ , y

55 en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica líquida estable:

60 (i) 175 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada  
65 cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  2 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 %; (v) polisorbato 80 al 0,2 %  $\pm$  0,03 %; y (vi) arginina 50 mM  $\pm$  3,75 mM, a un pH de  $5,9 \pm 0,5$ , y

en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

5 También se desvela una formulación farmacéutica líquida isotónica estable de baja viscosidad, que contiene al menos 100 mg/ml de un anticuerpo anti-hIL4-R $\alpha$  estable. En una realización, el anticuerpo está en una concentración de aproximadamente 150 mg/ml  $\pm$  50 mg/ml. En una realización específica, la concentración de anticuerpo es de aproximadamente 150 mg/ml  $\pm$  15 mg/ml.

10 El anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y 2. El anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR) y una región variable de la cadena ligera (LCVR), en el que la combinación HCVR/LCVR comprende regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada y ligera (HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3), que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2 - 3 - 4/SEQ ID NO: 6 - 7 - 8, respectivamente. El anticuerpo comprende una HCVR y una LCVR, cada una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 5, respectivamente.

15 En algunos casos, la formulación tiene una viscosidad inferior a 35  $\pm$  3,5 cPoise, inferior a 20  $\pm$  2 cPoise, inferior a 15  $\pm$  1,5 cPoise o inferior a 10  $\pm$  1 cPoise. En un caso específico, la formulación líquida tiene una viscosidad de aproximadamente 8,5  $\pm$  2,5 cPoise.

20 En un caso, la formulación tiene una osmolaridad que es fisiológicamente compatible. En un caso específico, la formulación comprende una osmolalidad de 290  $\pm$  20 mOsm/kg.

25 En un caso, el anticuerpo es estable durante al menos aproximadamente seis meses a aproximadamente 5 °C. En un caso específico, al menos aproximadamente el 98 % del anticuerpo conserva su conformación nativa a aproximadamente seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

30 En un caso, el anticuerpo es estable durante al menos aproximadamente ocho semanas de almacenamiento a aproximadamente 45 °C. En un caso específico, al menos aproximadamente el 90 % del anticuerpo conserva su conformación nativa a aproximadamente ocho semanas de almacenamiento a 45 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño. En un caso específico, menos de aproximadamente el 45 % del anticuerpo comprende una forma ácida a aproximadamente ocho semanas de almacenamiento a 45 °C, según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico.

35 En un caso, el anticuerpo es estable durante al menos aproximadamente seis meses de almacenamiento a aproximadamente 25 °C. En un caso específico, menos de aproximadamente el 4 % del anticuerpo comprende una forma agregada a aproximadamente seis meses de almacenamiento a 25 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

40 En un caso, la formulación comprende un tampón y tiene un pH de aproximadamente pH 5,9  $\pm$  0,5. En un caso, el tampón comprende un tampón de acetato y un tampón de histidina. En una realización específica, el acetato está en una concentración de 12,5 mM  $\pm$  1,9 mM y la histidina está en una concentración de 20 mM  $\pm$  3 mM.

45 En un caso, la formulación comprende un cosolvente orgánico a una concentración de aproximadamente el 0,2 %  $\pm$  0,03 % a aproximadamente el 1 %  $\pm$  0,15 % p/v. En un caso, el cosolvente orgánico es un polímero no iónico que contiene un resto polioxitileno. En algún caso, el cosolvente orgánico es uno o más de polisorbato 20, poloxámero 181 y polietilenglicol 3350. En un caso específico, el cosolvente orgánico es polisorbato 20 a una concentración de aproximadamente el 0,2 %  $\pm$  0,03 % p/v.

50 En un caso, la formulación comprende un estabilizador térmico a una concentración de aproximadamente el 0,9 %  $\pm$  0,135 % p/v a aproximadamente el 10 %  $\pm$  1,5 % p/v. En un caso, el estabilizador térmico es un azúcar. En un caso, el azúcar se selecciona entre el grupo que consiste en sacarosa, manitol y trehalosa. En un caso específico, el estabilizador térmico es sacarosa a una concentración de aproximadamente el 5 %  $\pm$  0,75 % p/v.

55 En un caso, la formulación comprende un reductor de la viscosidad a una concentración que no es más de aproximadamente 100 mM. En un caso, el reductor de la viscosidad es arginina. En un caso específico, el reductor de la viscosidad es clorhidrato de L-arginina a 25 mM  $\pm$  3,75 mM.

60 En un caso específico, la formulación farmacéutica líquida isotónica de baja viscosidad estable tiene una viscosidad de aproximadamente 8,5  $\pm$  2,5 cPoise y una osmolalidad de aproximadamente 290  $\pm$  20 mOsm/kg, y comprende: (i) 150 mg/ml  $\pm$  15 mg/ml de anticuerpo anti-hIL4-R $\alpha$ , en la que el anticuerpo comprende una HCVR y una LCVR, cada una de las cuales comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 5, respectivamente; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  1,9 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) polisorbato 20 al 0,2 %  $\pm$  0,03 % p/v; (v) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 % p/v; y (vi) clorhidrato de L-arginina al 25 mM  $\pm$  3,75 mM. De acuerdo con este caso, (i) al menos aproximadamente el 98 % del anticuerpo conserva su conformación nativa, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño, cuando se mantiene a 5 °C durante al menos aproximadamente seis meses,

65

(ii) al menos aproximadamente el 90 % del anticuerpo conserva su conformación nativa, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño, cuando se mantiene a 45 °C durante al menos aproximadamente ocho semanas, (iii) menos de aproximadamente el 45 % del anticuerpo comprende una forma ácida, según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico, cuando se mantiene a 45 °C durante aproximadamente

5 ocho semanas y (iv) menos de aproximadamente el 4 % del anticuerpo comprende una forma agregada, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño, cuando se mantiene a 25 °C durante aproximadamente seis meses.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida de la invención en un recipiente. En una realización, el recipiente es un vial de vidrio. En otra realización, el recipiente es un microinfusor. En otra realización, el recipiente es una jeringuilla. En una realización específica, la jeringuilla comprende un émbolo recubierto de fluorocarbono. En una realización específica, la jeringuilla es una jeringuilla de tungsteno bajo.

Otras realizaciones de la presente invención serán evidentes a partir de una revisión de la siguiente descripción detallada.

### Descripción detallada

Ha de entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente y no pretende ser limitante, puesto que el alcance de la presente invención estará limitado solamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico o un intervalo de valores particulares mencionados, significa que el valor puede variar del valor indicado en no más del 1 %. Por ejemplo, como se usa en el presente documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque puede usarse cualquier método y material similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen a continuación los métodos y materiales preferidos.

### Formulaciones farmacéuticas

Como se usa en el presente documento, la expresión "formulación farmacéutica" significa una combinación de al menos un principio activo (por ejemplo, una molécula pequeña, macromolécula, compuesto, etc. que es capaz de ejercer un efecto biológico en un animal humano o no humano) y al menos un ingrediente inactivo que, cuando se combina con el principio activo o uno o más ingredientes inactivos adicionales, es adecuado para la administración terapéutica a un animal humano o no humano. El término "formulación", como se usa en el presente documento, significa "formulación farmacéutica" a menos que se indique específicamente lo contrario. La presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido terapéutico. El polipéptido terapéutico es un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor alfa de interleucina 4 humano (hIL-4R $\alpha$ ) a una concentración de hasta 200 mg/ml, en el que dicho anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera. Las formulaciones farmacéuticas de la invención incluyen:

(i) el anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ ; (ii) un sistema tampón de acetato/histidina; (iii) un cosolvente orgánico que es un tensioactivo no iónico; (iv) estabilizador térmico que es un hidrato de carbono; y (v) un reductor de la viscosidad. Se describen en detalle a continuación componentes y formulaciones específicos de ejemplo incluidos en la presente invención.

### Anticuerpos que se unen específicamente a hIL-4R

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor alfa de interleucina 4 humano (hIL-4R $\alpha$ ) a una concentración de hasta 200 mg/ml, en las que dicho anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera. Como se usa en el presente documento, el término "hIL-4R $\alpha$ " significa un receptor de citocinas humano que se une específicamente a la interleucina 4 (IL-4). En determinadas realizaciones, el anticuerpo contenido en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención se une específicamente al dominio extracelular de hIL-4R $\alpha$ . Una secuencia de aminoácidos del receptor de IL-4 humano (hIL-4R $\alpha$ ) de ejemplo se describe en la SEQ ID NO: 25.

Se describen anticuerpos contra hIL-4R $\alpha$  en las Patentes de los EE.UU. N.º 7.605.237 y 7.608.693. El dominio extracelular de hIL-4R $\alpha$  se representa por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

5 El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, se refiere a moléculas de inmunoglobulina que consisten en cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H, por sus siglas en inglés) y dos cadenas ligeras (L, por sus siglas en inglés) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o V<sub>H</sub>) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o V<sub>L</sub>) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> se pueden subdividir adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas (FR, del inglés *framework region*). Cada V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: 15 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

A menos que se indique específicamente lo contrario, debe entenderse que el término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, abarca moléculas de anticuerpo completas.

20 Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, pretende referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$  está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos de hIL-4R $\alpha$ ).

25 La expresión "se une específicamente", o similar, significa que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica puede caracterizarse por una constante de disociación de al menos aproximadamente  $1 \times 10^{-6}$  M o mayor. Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmón superficial y similares. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$  puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de IL-4R de otras especies (ortólogos). Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular o productos químicos.

35 Se exponen anticuerpos anti-hIL-4R $\alpha$  de ejemplo que pueden incluirse en formulaciones farmacéuticas en el documento US 7.605.237 y el documento US 7.608.693, cuyas divulgaciones se incorporan como referencia en su totalidad.

40 El anticuerpo anti-hIL-4R $\alpha$  comprende una región determinante de complementariedad de la cadena pesada (HCDR) 1 de la SEQ ID NO: 2, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 3 y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 4. El anticuerpo anti-hIL-4R $\alpha$  comprende una HCVD de la SEQ ID NO: 1.

45 De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, el anti-hIL-4R $\alpha$  comprende una región determinante de complementariedad de la cadena ligera (kappa) 1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8. El anticuerpo anti-hIL-4R $\alpha$  comprende una LCVD de la SEQ ID NO: 5.

50 El anticuerpo utilizado en los Ejemplos del presente documento se denomina "mAb1". Este anticuerpo también se denomina, en el documento US 7.608.693, H4H098P. mAb1 (H4H098P) comprende un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que tienen las SEQ ID NO: 1/5 y dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 representados por las SEQ ID NO: 2 - 3 - 4/SEQ ID NO: 6 - 7 - 8.

55 También se desvela un anticuerpo denominado "mAb2". Este anticuerpo también se denomina, en el documento US 7.608.693, H4H083P. mAb2 (H4H083P) comprende un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que tienen las SEQ ID NO: 9/13 y dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 representados por las SEQ ID NO: 10 - 11 - 12/SEQ ID NO: 14 - 15 - 16.

60 También se desvela un anticuerpo denominado "mAb3". Este anticuerpo también se denomina, en el documento US 7.608.693, H4H095P. mAb3 (H4H095P) comprende un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que tienen las SEQ ID NO: 17/21 y dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 representados por las SEQ ID NO: 18 - 19 - 20/SEQ ID NO: 22 - 23 - 24.

65 La cantidad de anticuerpo contenida en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede variar dependiendo de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como de las circunstancias y propósitos particulares para los que se pretende usar las formulaciones. La formulación farmacéutica líquida estable de la invención comprende el anticuerpo a una concentración de hasta 200 mg/ml. En determinadas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas son formulaciones líquidas que pueden contener de aproximadamente  $120 \pm 12$  mg/ml a aproximadamente  $180 \pm 18$  mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente  $130 \pm 13$  mg/ml a

aproximadamente 170 ± 17 mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente 140 ± 14 mg/ml a aproximadamente 160 ± 16 mg/ml de anticuerpo; o aproximadamente 150 ± 15 mg/ml de anticuerpo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden comprender aproximadamente 90 mg/ml; aproximadamente 95 mg/ml; aproximadamente 100 mg/ml; aproximadamente 105 mg/ml; aproximadamente 110 mg/ml; aproximadamente 115 mg/ml; aproximadamente 120 mg/ml; aproximadamente 125 mg/ml; aproximadamente 130 mg/ml; aproximadamente 131 mg/ml; aproximadamente 132 mg/ml; aproximadamente 133 mg/ml; aproximadamente 134 mg/ml; aproximadamente 135 mg/ml; aproximadamente 140 mg/ml; aproximadamente 145 mg/ml; aproximadamente 150 mg/ml; aproximadamente 155 mg/ml; aproximadamente 160 mg/ml; aproximadamente 165 mg/ml; aproximadamente 170 mg/ml; aproximadamente 175 mg/ml; aproximadamente 180 mg/ml; aproximadamente 185 mg/ml; aproximadamente 190 mg/ml; aproximadamente 195 mg/ml; o aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo que se une específicamente a hIL-4Rα.

#### Excipientes y pH

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención comprenden uno o más excipientes. El término "excipiente", como se usa en el presente documento, significa cualquier agente no terapéutico añadido a la formulación para proporcionar una consistencia, viscosidad o efecto estabilizador deseados.

En determinadas realizaciones, la formulación farmacéutica de la invención comprende al menos un cosolvente orgánico en un tipo y en una cantidad que estabiliza el anticuerpo hIL-4Rα en condiciones de manipulación brusca, tales como, por ejemplo, agitación con formación de vórtice. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es evitar la formación de más del 2 % de anticuerpo agregado de la cantidad total de anticuerpo (sobre una base molar) en el curso de una manipulación brusca. En algunas realizaciones, la manipulación brusca es agitar con formación de vórtice una solución que contiene el anticuerpo y el cosolvente orgánico durante aproximadamente 120 minutos.

La formulación farmacéutica líquida estable proporcionada comprende polisorbato 20 o polisorbato 80 a una concentración del 0,2 % p/v ± 0,03 % p/v como cosolvente orgánico.

La cantidad de cosolvente orgánico contenido en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede variar dependiendo de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como de las circunstancias y propósitos particulares para los que se pretende usar las formulaciones. La formulación comprenderá polisorbato 20 o polisorbato 80 a una concentración del 0,2 % p/v ± 0,03 % p/v. En determinadas realizaciones, las formulaciones de la presente invención pueden comprender aproximadamente el 0,17 %; aproximadamente el 0,18 %; aproximadamente el 0,19 %; aproximadamente el 0,20 %; aproximadamente el 0,21 %; aproximadamente el 0,22 %; aproximadamente el 0,23 %; polisorbato 20 o poloxámero 181.

Los cosolventes orgánicos de ejemplo que estabilizan el anticuerpo hIL-4Rα incluyen polisorbato 20 al 0,2 % ± 0,02 %.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también comprenden uno o más estabilizadores térmicos en un tipo y en una cantidad que estabiliza el anticuerpo hIL-4Rα en condiciones de estrés térmico. La formulación proporcionada es una en la que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es mantener más de aproximadamente el 92 % del anticuerpo en una conformación nativa cuando la solución que contiene el anticuerpo y el estabilizador térmico se mantiene a aproximadamente 45 °C durante hasta aproximadamente 28 días. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es cuando menos de aproximadamente el 5 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el estabilizador térmico se mantiene a aproximadamente 45 °C durante hasta aproximadamente 28 días.

La formulación farmacéutica líquida estable de la invención comprende sacarosa como estabilizador térmico. Puede comprender adicionalmente trehalosa y/o manitol. La formulación de la invención comprende sacarosa a una concentración del 5 % p/v ± 0,75 p/v. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender sacarosa aproximadamente al 2,5 % ± 0,375 %; aproximadamente al 3 % ± 0,45 %; aproximadamente al 3,5 % ± 0,525 %; aproximadamente al 4,0 % ± 0,6 %; aproximadamente al 4,5 % ± 0,675 %; aproximadamente al 5,0 % ± 0,75 %.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender un tampón o sistema tampón, que sirve para mantener un pH estable y para ayudar a estabilizar el anticuerpo hIL-4Rα. La formulación de la invención es una en la que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es que menos del 3,0 % ± 0,5 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantiene a aproximadamente 45 °C durante hasta aproximadamente 14 días. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es que menos del 3,7 % ± 0,5 % del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantiene a



aproximadamente 25 °C durante hasta aproximadamente 6 meses. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es que al menos el 95 %  $\pm$  0,5 % del anticuerpo está en su conformación nativa según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantiene a aproximadamente 45 °C durante hasta aproximadamente 14 días. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es que al menos el 96 %  $\pm$  0,5 % del anticuerpo está en su conformación nativa según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantiene a aproximadamente 25 °C durante hasta aproximadamente 6 meses. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es que al menos el 62 %  $\pm$  0,5 % del anticuerpo está en su conformación neutra según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantiene a aproximadamente 45 °C durante hasta aproximadamente 14 días. En algunas realizaciones, lo que se entiende por "estabilizar" es que al menos el 54 %  $\pm$  0,5 % del anticuerpo está en su conformación neutra según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantiene a aproximadamente 25 °C durante hasta aproximadamente 6 meses. Por "conformación neutra" se entiende la facción del anticuerpo que eluye de una resina de intercambio iónico en el pico principal, que generalmente está flanqueado por más picos "básicos" en un lado y más picos "ácidos" en el otro lado.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden tener un pH de 5,6 a 6,2. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden tener un pH de aproximadamente 5,2; aproximadamente 5,3; aproximadamente 5,4; aproximadamente 5,5; aproximadamente 5,6; aproximadamente 5,7; aproximadamente 5,8; aproximadamente 5,9; aproximadamente 6,0; aproximadamente 6,1; aproximadamente 6,2. En algunas realizaciones, el pH es de aproximadamente 5,3  $\pm$  0,2; aproximadamente 5,9  $\pm$  0,2; o aproximadamente 6,0  $\pm$  0,2.

En algunas realizaciones, el tampón o sistema tampón comprende al menos un tampón que tiene un intervalo de tamponamiento que solapa por completo o en parte el intervalo de pH 5,2 - 6,4. En una realización, el tampón o sistema tampón comprende dos tampones, el primero de los cuales tiene un intervalo de pH eficaz dentro de 3,6 - 5,6 y el segundo de los cuales tiene un intervalo de pH eficaz dentro de 5,5 - 7,4. En una realización, el primer tampón tiene un pKa de aproximadamente 4,8  $\pm$  0,3 y el segundo tampón tiene un pKa de aproximadamente 6,0  $\pm$  0,3. El sistema tampón presente en una formulación de la invención comprende un tampón de acetato y un tampón de histidina. En determinadas realizaciones, la histidina está presente a aproximadamente 1,3 - 1,9 partes por 1 parte de acetato en moles. Una formulación de la presente invención comprende acetato a una concentración de 12,5 mM  $\pm$  2 mM e histidina a una concentración de 20 mM  $\pm$  3 mM. En determinadas realizaciones, la histidina está presente a aproximadamente 1,6  $\pm$  0,25 partes por 1 parte de acetato en moles. En determinadas realizaciones, el acetato está presente a una concentración de 10,5 mM a aproximadamente 14,5 mM; aproximadamente 12,5 mM  $\pm$  1,875 mM; de aproximadamente 11,0 mM a aproximadamente 14,0 mM; de aproximadamente 11,5 mM a aproximadamente 13,5 mM; o de aproximadamente 12,0 mM a aproximadamente 13,0 mM. En determinadas realizaciones, la histidina está presente a una concentración de aproximadamente 17 mM a aproximadamente 23 mM; de aproximadamente 18 mM a aproximadamente 22 mM; o de aproximadamente 19 mM a aproximadamente 21 mM. En determinadas realizaciones, el sistema tampón comprende acetato a aproximadamente 12,5 mM e histidina a aproximadamente 20 mM, a un pH de aproximadamente 5,9.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también comprenden excipientes, que sirven para mantener una viscosidad reducida o para reducir la viscosidad de formulaciones que contienen una alta concentración de proteína (por ejemplo, generalmente > 100 mg/ml de proteína). En algunas realizaciones, la formulación comprende arginina en una cantidad suficiente para mantener la viscosidad de la formulación líquida a menos de aproximadamente 35 cPoise, menos de aproximadamente 30 cPoise, menos de aproximadamente 25 cPoise, menos de aproximadamente 20 cPoise, menos de aproximadamente 15 cPoise, menos de aproximadamente 14 cPoise, menos de aproximadamente 13 cPoise, menos de aproximadamente 12 cPoise, menos de aproximadamente 10 cPoise o menos de aproximadamente 9 cPoise.

La formulación farmacéutica de la presente invención contiene arginina, preferentemente como clorhidrato de L-arginina, a una concentración de aproximadamente 25 mM  $\pm$  3,75 mM, aproximadamente 50 mM  $\pm$  7,5 mM o aproximadamente 100 mM  $\pm$  15 mM. En determinadas realizaciones, la arginina está a aproximadamente 20 mM a aproximadamente 30 mM, de aproximadamente 21 mM a aproximadamente 29 mM, de aproximadamente 21,25 mM a aproximadamente 28,75 mM, de aproximadamente 22 mM a aproximadamente 28 mM, de aproximadamente 23 mM a aproximadamente 27 mM o de aproximadamente 24 mM a aproximadamente 26 mM.

#### Formulaciones

La formulación líquida estable de la invención es una que comprende

(i) un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor alfa de interleucina 4 humano (hIL-4R $\alpha$ ) a una concentración de hasta 200 mg/ml, en la que dicho anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada

cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera;

(ii) acetato a una concentración de  $12,5 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ ;

(iii) histidina a una concentración de  $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ ;

(iv) sacarosa a una concentración del  $5 \% \text{ p/v} \pm 0,75 \% \text{ p/v}$ ;

(v) polisorbato 20 o polisorbato 80 a una concentración del  $0,2 \% \text{ p/v} \pm 0,03 \% \text{ p/v}$ ; y

(vi) arginina a una concentración de  $25 \text{ mM} \pm 3,75 \text{ mM}$  o a una concentración de  $50 \text{ mM} \pm 7,5 \text{ mM}$ ;

en la que la formulación tiene un pH de 5,6 a 6,2, y

en la que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a  $5^\circ\text{C}$ , según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

También se desvela una formulación farmacéutica que es una formulación líquida en general fisiológicamente isotónica, de baja viscosidad, que comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$  (por ejemplo, mAb1, mAb2 o mAb3 [citado anteriormente]), en una concentración de aproximadamente 100 mg/ml o mayor; (ii) un sistema tampón que proporciona suficiente tamponamiento a aproximadamente  $5,9 \pm 0,6$ ; (iii) un azúcar que sirve, entre otras cosas, como estabilizador térmico; (iv) un cosolvente orgánico, que protege la integridad estructural del anticuerpo; y (v) un aminoácido, que sirve para mantener la viscosidad manejable para la inyección subcutánea.

También se desvela una formulación farmacéutica que comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$  y que comprende una región variable de la cadena pesada de tipo IGHV3-9 sustituida y una región variable de la cadena ligera de tipo IGLV2-28 sustituida (por ejemplo, mAb1) a una concentración de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml; (ii) un sistema tampón que comprende acetato e histidina, que tampona eficazmente a aproximadamente pH  $5,9 \pm 0,6$ ; (iii) sacarosa como estabilizador térmico; (iv) un polisorbato como cosolvente orgánico; y (v) arginina como reductor de la viscosidad.

También se desvela una formulación farmacéutica que comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$  y que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 2, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 3, una HCDR3 de la SEQ ID NO: 4, una LCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 8, a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml  $\pm$  25 mg/ml; (ii) acetato a aproximadamente  $12,5 \text{ mM} \pm 1,9 \text{ mM}$  e histidina a aproximadamente  $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ , que tampona eficazmente a aproximadamente pH  $5,9 \pm 0,3$ ; (iii) sacarosa a aproximadamente el  $5 \% \text{ p/v} \pm 0,75 \% \text{ p/v}$ ; (iv) polisorbato 20 a aproximadamente el  $0,2 \% \text{ p/v} \pm 0,03 \% \text{ p/v}$ ; y (v) arginina como clorhidrato de L-arginina a aproximadamente  $25 \text{ mM} \pm 3,75 \text{ mM}$ .

Se exponen en otra parte del presente documento ejemplos adicionales no limitantes de formulaciones farmacéuticas abarcadas por la presente invención, incluyendo los Ejemplos de trabajo que se presentan a continuación.

#### Estabilidad y viscosidad de las formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención normalmente presentan niveles altos de estabilidad. El término "estable", como se usa en el presente documento en referencia a las formulaciones farmacéuticas, significa que los anticuerpos en las formulaciones farmacéuticas conservan un grado aceptable de estructura química o función biológica después del almacenamiento en condiciones definidas. Una formulación puede ser estable incluso aunque el anticuerpo contenido en la misma no mantenga el 100 % de su estructura química o función biológica después del almacenamiento durante un período de tiempo definido. En ciertas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % de la estructura o función de un anticuerpo después del almacenamiento durante un período de tiempo definido puede considerarse "estable".

La estabilidad puede medirse, entre otras cosas, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo nativo que permanece en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura definida. El porcentaje de anticuerpo nativo puede determinarse, entre otras cosas, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño [HPLC-ET]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esa frase en el presente documento, significa que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. En determinadas realizaciones, puede detectarse al menos aproximadamente el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % de la forma nativa del anticuerpo en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura definida. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad es de al

menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura definida a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad es de 5 °C.

- 5 Una formulación de la invención es una en la que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño. Una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente el 90 %, el 95 %, el 96 %, el 97 % o el 98 % de anticuerpo nativo mediante HPLC-ET. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de  
10 almacenamiento a 5 °C, se detecta más de aproximadamente el 90 %, el 95 %, el 96 %, el 97 % o el 98 % de anticuerpo nativo mediante HPLC-ET.

La estabilidad puede medirse, entre otras cosas, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo que se conforma en un agregado dentro de la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo  
15 definido a una temperatura definida, en la que la estabilidad es inversamente proporcional al porcentaje de agregado que se forma. El porcentaje de anticuerpo agregado puede determinarse, entre otras cosas, mediante cromatografía de exclusión por tamaño (por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño [HPLC-ET]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esa frase en el presente documento, significa que como máximo el 5 % del anticuerpo está en forma agregada detectada en la formulación después del almacenamiento durante un  
20 período de tiempo definido a una temperatura dada. En determinadas realizaciones, un grado aceptable de estabilidad significa que como máximo aproximadamente el 5 %, el 4 %, el 3 %, el 2 %, el 1 %, el 0,5 % o el 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en un agregado en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad es de al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11  
25 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura a la que puede almacenarse la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad es de 5 °C. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, se detecta menos de aproximadamente el 5 %, el 4 %, el 3 %, el 2 %, el 1 %, el 0,5 % o el 0,1 % del anticuerpo en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de almacenamiento a 5 °C, se  
30 detecta menos de aproximadamente el 5 %, el 4 %, el 3 %, el 2 %, el 1 %, el 0,5 % o el 0,1 % del anticuerpo en forma agregada.

La estabilidad puede medirse, entre otras cosas, mediante la determinación del porcentaje de anticuerpo que migra en una fracción más ácida durante el intercambio iónico ("forma ácida") o en la fracción principal de anticuerpo  
35 ("conformación neutra"), en la que la estabilidad es inversamente proporcional a la fracción de anticuerpo en la forma ácida. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la desamidación del anticuerpo puede provocar que el anticuerpo se cargue más negativamente y, por tanto, sea más ácido con respecto al anticuerpo no desamidado (véase, por ejemplo, Robinson, N., *Protein Deamidación*, PNAS, 16 de abril de 2002, 99 (8): 5283-5288). El porcentaje de anticuerpo "acidificado" o "desamidado" puede determinarse, entre otras cosas, mediante cromatografía de  
40 intercambio iónico (por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico [HPLC-IC]). Un "grado aceptable de estabilidad", como se usa esta frase en el presente documento, significa que como máximo el 45 % del anticuerpo se encuentra en una forma más ácida detectada en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura definida. En determinadas realizaciones, un grado aceptable de estabilidad significa que como máximo aproximadamente el 45 %, el 40 %, el 35 %, el 30 %, el 25 %, el  
45 20 %, el 15 %, el 10 %, el 5 %, el 4 %, el 3 %, el 2 %, el 1 %, el 0,5 % o el 0,1 % del anticuerpo puede detectarse en una forma ácida en la formulación después del almacenamiento durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad es de al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12  
50 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura a la cual la formulación farmacéutica es de 5 °C.

Pueden usarse otros métodos para evaluar la estabilidad de las formulaciones de la presente invención tales como, por ejemplo, calorimetría diferencial de barrido (CDB) para determinar la estabilidad térmica, agitación controlada para determinar la estabilidad mecánica y absorbancia a aproximadamente 350 nm o aproximadamente 405 nm a  
55 determinar las turbideces de la solución. Por ejemplo, una formulación puede considerarse estable si, después de 6 o más meses de almacenamiento a aproximadamente 5 °C a aproximadamente 25 °C, el cambio en la DO<sub>405</sub> de la formulación es inferior aproximadamente 0,05 (por ejemplo, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01 o menos) de la DO<sub>405</sub> de la formulación en el tiempo cero.

60 La estabilidad también puede evaluarse midiendo la actividad biológica o la afinidad de unión del anticuerpo a su diana. Por ejemplo, una formulación puede considerarse estable si, después del almacenamiento a 5 °C, etc. durante un período de tiempo definido de al menos seis meses (por ejemplo, de 6 a 12 meses), el anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$  contenido en la formulación se une a IL-4R $\alpha$  con una afinidad que es al menos el 90 %, el 95 % o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento. La afinidad de unión puede determinarse  
65 mediante, por ejemplo, ELISA o resonancia de plasmón. La actividad biológica puede determinarse mediante un ensayo de actividad de IL-4R $\alpha$ , tal como, por ejemplo, poniendo en contacto una célula que expresa IL-4R $\alpha$  con la

formulación que comprende el anticuerpo anti IL-4R $\alpha$ . La unión del anticuerpo a una célula de este tipo puede medirse directamente, tal como, por ejemplo, mediante análisis por FACS (separación de células activadas por fluorescencia, por sus siglas en inglés). Como alternativa, la actividad corriente abajo del sistema IL-4R $\alpha$  puede medirse en presencia del anticuerpo y un agonista de IL-4R $\alpha$  y puede compararse con la actividad del sistema IL-4R $\alpha$  en ausencia de anticuerpo. En algunas realizaciones, el IL-4R $\alpha$  puede ser endógeno para la célula. En otras realizaciones, el IL-4R $\alpha$  puede expresarse ectópicamente en la célula.

Se demuestran métodos adicionales para evaluar la estabilidad de un anticuerpo en la formulación en los Ejemplos que se presentan a continuación.

Las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente invención pueden, en determinadas realizaciones, presentar niveles de viscosidad bajos a moderados. "Viscosidad" como se usa en el presente documento puede ser "viscosidad cinemática" o "viscosidad absoluta". La "viscosidad cinemática" es una medida del flujo resistivo de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos de igual volumen se colocan en viscosímetros capilares idénticos y se dejan fluir por gravedad, un fluido viscoso tarda más que un fluido menos viscoso en fluir a través del capilar. Por ejemplo, si un fluido tarda 200 segundos en completar su flujo y otro fluido tarda 400 segundos, el segundo líquido es dos veces más viscoso que el primero en una escala de viscosidad cinemática. La "viscosidad absoluta", a veces denominada viscosidad dinámica o simple, es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido (Viscosidad absoluta = Viscosidad cinemática x Densidad). La dimensión de la viscosidad cinemática es  $L^2/T$  en la que L es una longitud y T es un tiempo. Habitualmente, la viscosidad cinemática se expresa en centistokes (cSt). La unidad SI de viscosidad cinemática es  $mm^2/s$ , que es 1 cSt. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad SI de viscosidad absoluta es el milipascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s.

Como se usa en el presente documento, un nivel bajo de viscosidad, en referencia a una formulación fluida de la presente invención, presentará una viscosidad absoluta de menos de aproximadamente 15 cPoise (cP). Por ejemplo, se considerará que una formulación fluida de la invención tiene "baja viscosidad", si, cuando se mide usando técnicas de medición de viscosidad convencionales, la formulación presenta una viscosidad absoluta de aproximadamente 15 cP, aproximadamente 14 cP, aproximadamente 13 cP, aproximadamente 12 cP, aproximadamente 11 cP, aproximadamente 10 cP, aproximadamente 9 cP, aproximadamente 8 cP o menos. Como se usa en el presente documento, un nivel moderado de viscosidad, en referencia a una formulación fluida de la presente invención, presentará una viscosidad absoluta de entre aproximadamente 35 cP y aproximadamente 15 cP. Por ejemplo, se considerará que una formulación fluida de la invención tiene "viscosidad moderada", si cuando se mide usando técnicas de medición de viscosidad convencionales, la formulación presenta una viscosidad absoluta de aproximadamente 34 cP, aproximadamente 33 cP, aproximadamente 32 cP, aproximadamente 31 cP, aproximadamente 30 cP, aproximadamente 29 cP, aproximadamente 28 cP, aproximadamente 27 cP, aproximadamente 26 cP, aproximadamente 25 cP, aproximadamente 24 cP, aproximadamente 23 cP, aproximadamente 22 cP, aproximadamente 21 cP, aproximadamente 20 cP, aproximadamente 19 cP, 18 cP, aproximadamente 17 cP, aproximadamente 16 cP o aproximadamente 15,1 cP.

Como se ilustra en los ejemplos a continuación, los presentes inventores han realizado el sorprendente descubrimiento de que las formulaciones líquidas de viscosidad baja a moderada que comprenden altas concentraciones de un anticuerpo anti-hIL-4R $\alpha$  (por ejemplo, desde aproximadamente 100 mg/ml hasta 200 mg/ml) pueden obtenerse formulando el anticuerpo con arginina de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 100 mM. Además, se descubrió adicionalmente que la viscosidad de la formulación podría reducirse aún más ajustando el contenido de sacarosa a menos de aproximadamente el 10 %.

#### Recipientes para las formulaciones farmacéuticas y métodos de administración

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar contenidas dentro de cualquier recipiente adecuado para el almacenamiento de medicamentos y otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de un recipiente de plástico o vidrio sellado y esterilizado que tiene un volumen definido tal como un vial, ampolla, jeringuilla, cartucho o frasco. Pueden usarse diferentes tipos de viales para contener las formulaciones de la presente invención incluyendo, por ejemplo, viales de vidrio o plástico transparentes u opacos (por ejemplo, ámbar). Análogamente, puede usarse cualquier tipo de jeringuilla para contener o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar contenidas dentro de jeringuillas de "tungsteno normal" o jeringuillas de "tungsteno bajo". Como apreciarán los expertos en la materia, el proceso de fabricación de jeringuillas de vidrio implica generalmente el uso de una varilla de tungsteno caliente que actúa perforando el vidrio creando de este modo un orificio desde el cual pueden extraerse y expulsarse líquidos de la jeringuilla. Este proceso da como resultado la deposición de pequeñas cantidades de tungsteno en la superficie interior de la jeringuilla. Pueden usarse el lavado posterior y otras etapas de procesamiento para reducir la cantidad de tungsteno en la jeringuilla. Como se usa en el presente documento, la expresión "tungsteno normal" significa que la jeringuilla contiene más de 500 partes por billón (ppb) de tungsteno. La expresión "tungsteno bajo" significa que la jeringuilla contiene menos de 500 ppb de tungsteno. Por ejemplo, una jeringuilla de tungsteno bajo, de acuerdo con

la presente invención, puede contener menos de aproximadamente 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 o menos ppb de tungsteno.

Los émbolos de goma utilizados en las jeringuillas y los tapones de goma utilizados para cerrar las aberturas de los viales pueden estar recubiertos para evitar la contaminación del contenido medicinal de la jeringuilla o el vial, o para preservar su estabilidad. Por tanto, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, de acuerdo con determinadas realizaciones, pueden estar contenidas dentro de una jeringuilla que comprende un émbolo recubierto o dentro de un vial que está sellado con un tapón de goma recubierto. Por ejemplo, el émbolo o el tapón pueden estar recubiertos con una película de fluorocarbono. Se mencionan ejemplos de tapones o émbolos recubiertos adecuados para su uso con viales y jeringuillas que contienen las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, por ejemplo, en las Patentes de los EE.UU. N.º 4.997.423; 5.908.686; 6.286.699; 6.645.635; y 7.226.554. Los tapones y émbolos de caucho recubiertos particulares de ejemplo que pueden usarse en el contexto de la presente invención están disponibles en el mercado con el nombre comercial "FluroTec®", disponibles en West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA).

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de una jeringuilla de tungsteno bajo que comprende un émbolo recubierto con fluorocarbono.

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente mediante vías parenterales tales como inyección (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o administración percutánea, mucosa, nasal, pulmonar u oral. Pueden usarse numerosos dispositivos de administración de autoinyección o pluma reutilizables para administrar por vía subcutánea las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RU), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Alemania). Los ejemplos de dispositivos de entrega de pluma o autoinyección desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a la pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), la FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y la KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, LP) y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL).

El uso de un microinfusor para entregar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también se contempla en el presente documento. Como se usa en el presente documento, el término "microinfusor" significa un dispositivo de entrega subcutánea diseñado para administrar lentamente volúmenes grandes (por ejemplo, hasta aproximadamente 2,5 ml o más) de una formulación terapéutica durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30 minutos o más). Véase, por ejemplo, el documento US 6.629.949; el documento US 6.659.982; y Meehan et al., *J. Controlled Release* 46: 107-116 (1996). Los microinfusores son particularmente útiles para la entrega de grandes dosis de proteínas terapéuticas contenidas en altas concentraciones (por ejemplo, aproximadamente 100, 125, 150, 175, 200 mg/ml) o soluciones viscosas.

En una realización, la formulación farmacéutica líquida que contiene aproximadamente anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$  150 mg/ml  $\pm$  15 mg/ml se administra por vía subcutánea en un volumen de aproximadamente 1 ml  $\pm$  0,15 ml de una jeringuilla precargada en un autoinyector. En otra realización, la formulación se administra en un volumen de entre aproximadamente 1 ml y 2,5 ml desde un dispositivo microinfusor. La formulación puede precargarse en una bolsa o un cartucho para su uso en el microinfusor.

#### Usos terapéuticos de las formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención son útiles, entre otras cosas, para el tratamiento, la prevención o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado a la actividad de IL-4, incluyendo enfermedades o trastornos mediados por la activación de IL-4R $\alpha$ . Las enfermedades y trastornos de ejemplo, no limitantes, que pueden tratarse o prevenirse mediante la administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen diversas enfermedades atópicas tales como, por ejemplo, dermatitis atópica, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica, asma y otras enfermedades mediadas por IgE/Th2.

Por tanto, también se desvelan métodos de tratamiento, prevención o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado a la actividad de IL-4 o la activación de IL-4R $\alpha$  (incluyendo cualquiera de las enfermedades, trastornos y afecciones de ejemplo mencionados anteriormente). Los métodos terapéuticos comprenden administrar a un sujeto cualquier formulación que comprenda un anticuerpo anti-hIL-4R $\alpha$  como se desvela en el presente documento. El sujeto al que se administra la formulación farmacéutica puede ser, por ejemplo, cualquier animal humano o no humano que necesite dicho tratamiento, prevención o mejora o que se beneficiaría de otro modo de la inhibición o atenuación de IL-4 o la actividad mediada por IL-4R $\alpha$ . Por ejemplo, el sujeto puede ser un individuo que se diagnostica con, o que se considera en riesgo de sufrir alguna de las enfermedades o trastornos anteriormente mencionados. La presente invención incluye adicionalmente el uso de cualquiera de las formulaciones farmacéuticas

desveladas en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento, la prevención o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado a la actividad de IL-4 o la activación de IL-4R $\alpha$  (incluyendo cualquiera de las anteriores enfermedades, trastornos y afecciones de ejemplo mencionados).

## 5 Ejemplos

Los siguientes ejemplos se presentan de manera de proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completas de cómo fabricar y usar los métodos y composiciones de la invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en moles, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión está a la presión atmosférica o cercana a ella.

Las actividades iniciales de desarrollo de formulación implicaron seleccionar cosolventes orgánicos, estabilizadores térmicos y tampones en formulaciones líquidas de mAb1 (anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$  de la invención) para identificar excipientes que sean compatibles con la proteína y potenciar su estabilidad, manteniendo al mismo tiempo la osmolalidad y la viscosidad para la inyección subcutánea. Las condiciones del tampón también se examinaron para determinar el pH óptimo para la estabilidad máxima de la proteína.

### 20 Ejemplo 1. Cosolventes orgánicos

Se observó que mAb1 es inestable cuando se somete a estrés por agitación. El análisis por cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (HPLC-FI) y cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño (HPLC-ET) demostró una pérdida de proteína y un aumento de agregados proteicos cuando el mAb1 se agitó con formación de vórtice a temperatura ambiente (Tabla 1, véanse datos "Sin cosolvente"). La adición de cosolventes orgánicos a la solución de mAb1 evitó la degradación de la proteína, según se midió mediante HPLC-ET y HPLC-FI (Tabla 1). Sin embargo, se observó que las adiciones de algunos de los cosolventes orgánicos disminuyeron la estabilidad térmica de mAb1 (Tabla 2). Se observó una pérdida de recuperación de proteína en formulaciones que contenían PEG 3350 (3 %) y PEG 300 (10 % y 20 %) según se determinó mediante HPLC-FI después de estrés térmico (Tabla 2). Además, hubo más formación de agregado en las formulaciones que contenían PLURONIC F68 (poloxámero 181) (0,2 %), PEG 300 (10 % y 20 %) y Propilenglicol (20 %) que en la formulación sin cosolvente según se determinó mediante HPLC-ET. El polisorbato 20 (0,2 %) y el polisorbato 80 (0,2 %) proporcionaron una estabilidad comparable a la agitación y al estrés térmico.

De acuerdo con la Tabla 1, se sometieron 0,3 ml de 15 mg/ml de mAb1 en fosfato 10 mM, pH 6,0 y diversos cosolventes orgánicos en un vial de vidrio de 2 ml a agitación con formación de vórtice durante aproximadamente 120 minutos. La turbidez se evaluó mediante densidad óptica (DO) a 405 nm y se notificó como el cambio relativo en la DO a 405 nm en comparación con el material de partida. El porcentaje de mAb1 total recuperado se determinó mediante HPLC de fase inversa (HPLC-FI). El porcentaje de mAb1 nativo y agregado se determinó mediante HPLC de exclusión por tamaño (HPLC-ET). Los resultados de HPLC-ET presentados en los resultados de "Material inicial" son el promedio de los valores de cada una de las formulaciones en ausencia de agitación con formación de vórtice.

**Tabla 1**

| Cosolvente orgánico                              | Aspecto visual | Turbidez | pH  | % de mAb1 total (HPLC-FI) | % de mAb1 nativo (HPLC-ET) | % de agregado de mAb1 (HPLC-ET) |
|--|----------------|----------|-----|---------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| Material de partida <sup>2</sup> (sin agitación) | Aprobado       | 0,00     | 6,0 | 100                       | 96,8                       | 1,8                             |
| Sin cosolvente                                   | Suspenso       | 0,87     | 6,0 | 86                        | 95,6                       | 3,5                             |
| Polisorbato 20 al 0,2 %                          | Aprobado       | 0,01     | 5,9 | 98                        | 97,0                       | 1,7                             |
| Polisorbato 80 al 0,2 %                          | Aprobado       | 0,00     | 5,9 | 100                       | 96,6                       | 2,0                             |
| Pluronic F68 al 0,2 %                            | Aprobado       | 0,00     | 5,9 | 99                        | 96,9                       | 1,7                             |
| PEG 3350 al 3 %                                  | Aprobado       | 0,00     | 6,0 | 102                       | 96,7                       | 2,0                             |
| PEG 3350 al 1 %                                  | Aprobado       | 0,01     | 6,0 | 99                        | 96,8                       | 1,8                             |
| PEG 300 al 20 %                                  | Aprobado       | 0,01     | 5,9 | 101                       | 96,1                       | 2,6                             |
| PEG 300 al 10 %                                  | Aprobado       | 0,01     | 6,0 | 100                       | 96,7                       | 2,0                             |
| Propilenglicol al 20 %                           | Aprobado       | 0,00     | 6,0 | 101                       | 96,7                       | 2,0                             |

De acuerdo con la Tabla 2, se mantuvieron 0,3 ml de 15 mg/ml de mAb1 en fosfato 10 mM, pH 6,0 y diversos cosolventes orgánicos en un vial de vidrio de 2 ml a aproximadamente 45 °C durante aproximadamente 28 días. La turbidez se evaluó mediante densidad óptica (DO) a 405 nm y se notificó como el cambio relativo en la DO a 405 nm en comparación con el material de partida. El porcentaje de mAb1 total recuperado se determinó mediante HPLC de fase inversa (HPLC-FI). El porcentaje de mAb1 nativo y agregado se determinó mediante HPLC de exclusión por tamaño (HPLC-ET). Los resultados de HPLC-ET presentados en los resultados de "Material de partida" son el

promedio de los valores de cada una de las formulaciones en ausencia de estrés térmico.

**Tabla 2**

| Cosolvente orgánico                                | Aspecto visual | Turbidez | pH  | % de mAb1 total (HPLC-FI) | % de mAb1 nativo (HPLC-ET) | % de agregado de mAb1 (HPLC-ET) |
|--|----------------|----------|-----|---------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| Material de partida <sup>2</sup> (sin aceleración) | Aprobado       | 0,00     | 6,0 | 100                       | 96,8                       | 1,8                             |
| Sin cosolvente                                     | Aprobado       | 0,00     | 6,2 | 98                        | 94,9                       | 3,5                             |
| Polisorbato 20 al 0,2 %                            | Aprobado       | 0,00     | 6,3 | 98                        | 94,6                       | 3,6                             |
| Polisorbato 80 al 0,2 %                            | Aprobado       | 0,00     | 6,2 | 97                        | 94,3                       | 3,8                             |
| Pluronic F68 al 0,2 %                              | Aprobado       | 0,00     | 6,2 | 96                        | 93,0                       | 5,1                             |
| PEG 3350 al 3 %                                    | Aprobado       | 0,00     | 6,2 | 73                        | 96,5                       | 1,4                             |
| PEG 3350 al 1 %                                    | Aprobado       | 0,01     | 6,0 | 97                        | 94,6                       | 3,8                             |
| PEG 300 al 20 %                                    | Aprobado       | 0,04     | 4,5 | 74                        | 8,5                        | 87,5                            |
| PEG 300 al 10 %                                    | Aprobado       | 0,02     | 4,8 | 93                        | 57,7                       | 38,1                            |
| Propilenglicol al 20 %                             | Aprobado       | 0,00     | 6,3 | 97                        | 93,6                       | 4,7                             |

### 5 Ejemplo 2. Estabilizadores térmicos

Se examinaron diversos estabilizadores térmicos, tales como azúcares, aminoácidos y sales inorgánicas, en cuanto a su capacidad para inhibir la degradación de mAb1 cuando se mantuvieron a aproximadamente 45 °C. En la Tabla 3 se presenta un resumen de los estabilizadores térmicos estudiados. Las formulaciones que contenían sacarosa o trehalosa tenían el mayor efecto estabilizador para mAb1 en solución cuando se incubaron a temperatura elevada (según se determina mediante HPLC-ET). Se seleccionó sacarosa como el estabilizador puesto que tiene un historial de uso seguro en formulaciones de anticuerpos monoclonales.

De acuerdo con la Tabla 3, se mantuvieron 0,3 ml de 25 mg/ml de mAb1 en acetato 10 mM, pH 5,3 y diversos estabilizadores térmicos en un vial de vidrio de 2 ml a aproximadamente 45 °C durante aproximadamente 28 días. La turbidez se evaluó mediante densidad óptica (DO) a 405 nm y se notificó como el cambio relativo en la DO a 405 nm en comparación con el material de partida. La turbidez fue insignificante para todas las muestras. El porcentaje de mAb1 total recuperado se determinó mediante HPLC de fase inversa (HPLC-FI). El porcentaje de mAb1 nativo y agregado se determinó mediante HPLC de exclusión por tamaño (HPLC-ET). Las especies ácidas o básicas se definen como la suma de los picos de mAb1 que eluyen de la columna de intercambio catiónico (HPLC-IC) con tiempos de retención más tempranos o más tardíos que el pico principal, respectivamente. Los resultados de HPLC-ET presentados en los resultados de "Material de partida" son el promedio de los valores de cada una de las formulaciones en ausencia de estrés térmico.

**Tabla 3**

| Tampón y pH                                  | pH  | % de mAb1 total (HPLC-FI) | % de mAb1 nativo (HPLC-ET) | % de mAb1 agregado (HPLC-ET) | % de mAb1 (HPLC-IC) |                |             |
|--|-----|---------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------|----------------|-------------|
|  |     |                           |                            |                              | Pico ácido          | Pico principal | Pico básico |
| Material de partida (sin incubación a 45 °C) | 5,3 | 100                       | 97,8                       | 1,2                          | 17,6                | 68,2           | 13,2        |
| Sin estabilizador térmico                    | 5,4 | 106                       | 91,9                       | 5,8                          | 28,1                | 56,5           | 15,4        |
| Sacarosa al 8,5 %                            | 5,4 | 105                       | 93,3                       | 4,6                          | 29,5                | 54,7           | 15,8        |
| Sorbitol al 4,5 %                            | 5,3 | 105                       | 91,2                       | 6,6                          | 34,4                | 51,5           | 14,1        |
| Manitol al 4,5 %                             | 5,3 | 104                       | 92,6                       | 5,2                          | 28,4                | 56,0           | 15,6        |
| Trehalosa dihidratada al 9,4 %               | 5,4 | 103                       | 93,4                       | 4,5                          | 29,1                | 55,6           | 15,3        |
| Glicina al 2,2 %                             | 5,4 | 104                       | 86,6                       | 10,6                         | 33,5                | 50,7           | 15,8        |
| NaCl al 0,9 %                                | 5,4 | 98                        | 85,0                       | 8,7                          | 25,2                | 56,0           | 18,7        |
| Glicerol al 2,5 %                            | 5,4 | 104                       | 91,9                       | 6,0                          | 29,7                | 56,1           | 14,3        |
| Arginina al 5 %                              | 5,4 | 97                        | 83,2                       | 11,4                         | 25,3                | 57,1           | 17,6        |

### Ejemplo 3. Tampones y pH

También se examinó el efecto del pH y de la especie tampón sobre la estabilidad de mAb1. Se incubaron 15 mg/ml de mAb1 en diferentes tampones a diferentes valores de pH que varían de pH 4,5 a 7,0. La estabilidad de la proteína se controló mediante HPLC-ET y HPLC de intercambio catiónico (HPLC-IC). Se observó una estabilidad proteica máxima, según se determinó mediante HPLC-ET y HPLC-IC, cuando se formuló mAb1 a pH 6,0 en tampón de

histidina o a pH 5,3 en tampón de acetato (Tabla 4 y Tabla 5). El sistema de tampón de acetato proporcionó un intervalo de estabilidad de pH más amplio y una velocidad de formación de variante de carga menor en relación con la formulación que contiene tampón de histidina (Tabla 5). Por tanto, el tampón de acetato, a pH 5,3, se seleccionó en parte para la formulación de la sustancia farmacológica mAb1.

5 De acuerdo con la Tabla 4, se mantuvieron 0,3 ml de 15 mg/ml de mAb1, polisorbato 20 al 0,2 %, combinados con 10 mM de diversos tampones en un vial de vidrio de 2 ml a aproximadamente 45 °C durante aproximadamente 14 días. La turbidez se evaluó mediante densidad óptica (DO) a 405 nm y se notificó como el cambio relativo en la DO a 405 nm en comparación con el material de partida. La turbidez fue insignificante para todas las muestras. El porcentaje de mAb1 total recuperado se determinó mediante HPLC de fase inversa (HPLC-FI). El porcentaje de mAb1 nativo y agregado se determinó mediante HPLC de exclusión por tamaño (HPLC-ET). Las especies ácidas o básicas se definen como la suma de los picos de mAb1 que eluyen de la columna de intercambio catiónico (HPLC-IC) con tiempos de retención más tempranos o más tardíos que el pico principal, respectivamente. Los resultados de HPLC-ET presentados en los resultados de "Material de partida" son el promedio de los valores de cada una de las formulaciones en ausencia de estrés térmico.

**Tabla 4**

| Tampón y pH   | % de mAb1 total recuperado (HPLC-FI) | % de mAb1 nativo recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 agregado recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 recuperado <sup>2</sup> (HPLC-IC) |                |               |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|---|---|----------------|---------------|
|   |                                      |                                       |   | Picos ácidos                                | Pico principal | Picos básicos |
| Material de partida <sup>3</sup> (sin incubación a 45 °C) | 100                                  | 96,8                                  | 1,7                                     | 19,1  | 66,4           | 14,5          |
| Fosfato, pH 7,0   | 97                                   | 93,9                                  | 4,5                                     | 39,1  | 50,1           | 10,8          |
| Fosfato, pH 6,5   | 96                                   | 94,4                                  | 4,0                                     | 31,7  | 55,9           | 12,5          |
| Fosfato, pH 6,0   | 99                                   | 95,2                                  | 3,1                                     | 23,8  | 62,2           | 14,0          |
| Histidina, pH 6,0   | 97                                   | 95,5                                  | 2,8                                     | 23,9  | 61,8           | 14,3          |
| Succinato, pH 6,0   | 99                                   | 94,8                                  | 3,5                                     | 26,7  | 59,6           | 13,7          |
| Citrato, pH 6,0   | 98                                   | 95,5                                  | 2,9                                     | 26,1  | 59,8           | 14,1          |
| Citrato, pH 5,5   | 96                                   | 94,7                                  | 3,4                                     | 25,0  | 60,9           | 14,2          |
| Citrato, pH 5,0   | 97                                   | 89,5                                  | 7,4                                     | 23,6  | 61,5           | 15,0          |
| Acetato, pH 5,0   | 94                                   | 94,7                                  | 3,6                                     | 18,1  | 66,3           | 15,5          |
| Acetato, pH 4,5   | 94                                   | 89,9                                  | 8,3                                     | 20,8  | 62,8           | 16,4          |

20 De acuerdo con la tabla 5, se almacenaron 0,3 ml de 15 mg/ml de mAb1, polisorbato 20 al 0,2 %, combinados con 10 mM de diversos tampones en un vial de vidrio de 2 ml a aproximadamente 45 °C durante aproximadamente 14 días. La turbidez se evaluó mediante densidad óptica (DO) a 405 nm y se publicó como el cambio relativo en la DO a 405 nm en comparación con el material de partida. La turbidez fue insignificante para todas las muestras. El porcentaje de mAb1 total recuperado se determinó mediante HPLC de fase inversa (HPLC-FI). El porcentaje de mAb1 nativo y agregado se determinó mediante HPLC de exclusión por tamaño (HPLC-ET). Las especies ácidas o básicas se definen como la suma de los picos de mAb1 que eluyen de la columna de intercambio catiónico (HPLC-IC) con tiempos de retención más tempranos o más tardíos que el pico principal, respectivamente. Los resultados de HPLC-ET presentados en los resultados de "Material de partida" son el promedio de los valores de cada una de las formulaciones en ausencia de estrés térmico.

30 Los estudios de desarrollo de formulación indicaron que en condiciones básicas (pH ≥ 6,5), el mAb1 en solución puede desaminarse. Por el contrario, por debajo de pH 5,0, se observó que la velocidad de formación de variantes de peso molecular de mAb1 aumentaba. En base a estos datos, el pH de la formulación de mAb1 se mantuvo entre pH 5,6 y pH 6,2. Se observó que mAb1 era estable en este intervalo de pH.

35

**Tabla 5**

| Tampón y pH   | % de mAb1 total recuperado (HPLC-FI) | % de mAb1 nativo recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 agregado recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 nativo recuperado (HPLC-IC) |                |               |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------------------|----------------|---------------|
|   |                                      |                                       |   | Picos ácidos                          | Pico principal | Picos básicos |
| Material de partida <sup>3</sup> (sin incubación a 45 °C) | 100                                  | 96,5                                  | 2,1                                     | 18,7                                  | 66,7           | 14,6          |
| Histidina, pH 5,5   | 94                                   | 87,5                                  | 9,1                                     | 22,7                                  | 58,7           | 18,6          |
| Histidina, pH 6,0   | 100                                  | 96,6                                  | 2,4                                     | 22,7                                  | 63,0           | 14,2          |



| Tampón y pH       | % de mAb1 total recuperado (HPLC-FI) | % de mAb1 nativo recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 agregado recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 nativo recuperado (HPLC-IC) |                |               |
|-------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------------------|----------------|---------------|
|                   |                                      |                                       |   | Picos ácidos                          | Pico principal | Picos básicos |
| Histidina, pH 6,5 | 97                                   | 89,8                                  | 7,7                                     | 32,1                                  | 43,8           | 24,0          |
| Acetato, pH 4,7   | 90                                   | 90,1                                  | 6,4                                     | 18,4                                  | 66,1           | 15,5          |
| Acetato, pH 5,0   | 100                                  | 93,7                                  | 4,3                                     | 18,0                                  | 67,0           | 15,0          |
| Acetato, pH 5,3   | 99                                   | 95,2                                  | 3,0                                     | 18,1                                  | 67,5           | 14,5          |
| Acetato, pH 5,6   | 100                                  | 93,6                                  | 5,3                                     | 22,1                                  | 61,7           | 14,3          |

El efecto del pH y la especie tampón sobre la estabilidad de mAb1 se evaluó adicionalmente en formulaciones que contenían histidina 20 mM pH 6, acetato 12,5 mM pH 5,3 o una combinación de histidina 20 mM y acetato 12,5 mM pH 5,9 (Tabla 6). Comparado con el sistema de tampón individual, mAb1 fue más estable en una formulación que contenía tanto histidina como acetato a aproximadamente pH 5,9. La tasa de agregación más lenta se detectó cuando se formuló mAb1 en este sistema de tampón combinado (HPLC-ET) (Tabla 6).

Tabla 6

| Tampón y pH   | % de mAb1 total recuperado (HPLC-FI) | % de mAb1 nativo recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 agregado recuperado (HPLC-ET) | % de mAb1 recuperado <sup>2</sup> (HPLC-IC) |                |               |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|---|---|----------------|---------------|
|   |                                      |                                       |   | Picos ácidos                                | Pico principal | Picos básicos |
| Material de partida <sup>3</sup> (sin incubación a 45 °C) | 100                                  | 97,0                                  | 2,6                                     | 27,4  | 62,1           | 10,5          |
| Histidina 20 mM, pH 5,9                                   | 100                                  | 95,2                                  | 4,3                                     | 34,8  | 53,9           | 11,4          |
| Acetato 12,5 mM, pH 5,3                                   | 103                                  | 94,8                                  | 4,8                                     | 30,9  | 56,0           | 13,1          |
| Histidina 20 mM y Acetato 12,5 mM combinados, pH 5,9      | 104                                  | 95,9                                  | 3,7                                     | 33,7  | 54,1           | 12,1          |

De acuerdo con la Tabla 6, se mantuvieron 0,4 ml de 150 mg/ml de mAb1, sacarosa al 10 %, polisorbato 20 al 0,2 %, combinados con diversos tampones en un vial de vidrio de 2 ml a aproximadamente 45 °C durante aproximadamente 14 días. La turbidez se evaluó mediante densidad óptica (DO) a 405 nm y se notificó como el cambio relativo en la DO a 405 nm en comparación con el material de partida. La turbidez fue insignificante para todas las muestras. El porcentaje de mAb1 total recuperado se determinó mediante HPLC de fase inversa (HPLC-FI). El porcentaje de mAb1 nativo y agregado se determinó mediante HPLC de exclusión por tamaño (HPLC-ET). Las especies ácidas o básicas se definen como la suma de los picos de mAb1 que eluyen de la columna de intercambio catiónico (HPLC-IC) con tiempos de retención más tempranos o más tardíos que el pico principal, respectivamente. Los resultados de HPLC-ET presentados en los resultados de "Material de partida" son el promedio de los valores de cada una de las formulaciones en ausencia de estrés térmico.

#### Ejemplo 4. Manejo de la viscosidad y la tonicidad

Se evaluaron combinaciones de diversos excipientes con altas concentraciones de mAb1 (es decir, 150 mg/ml, 175 mg/ml y 200 mg/ml) para determinar la viscosidad y la tonicidad (según se expresa en osmolalidad). Los niveles de sacarosa, cloruro de sodio y clorhidrato de L-arginina se ajustaron para desarrollar una formulación que contuviera una alta concentración de mAb1 a una baja viscosidad y a una tonicidad fisiológica para permitir la entrega subcutánea fácil, cómoda y rápida de una gran cantidad de mAb1 (Tabla 7). La formulación líquida que contenía arginina 25 mM, histidina 20 mM, acetato 12,5 mM, sacarosa al 5 % (p/v), Polisorbato 20 al 0,2 % (p/v) y mAb1 150 mg/ml, a pH 5,9 (Formulación A) representa una formulación optimizada que tiene una baja viscosidad (aproximadamente 8,5 cPoise) y que es fisiológicamente isotónica (aproximadamente 293 mOsm/kg), manteniendo al mismo tiempo la estabilidad de mAb1.

Tabla 7

|   | mAb1 (mg/ml) | Histidina (mM) | Acetato (mM) | Arginina (mM) | NaCl (mM) | Sacarosa (% p/v) | pH  | Viscosidad (cPois.) | Osmolalidad (mOsm/kg) |
|---|--------------|----------------|--------------|---------------|-----------|------------------|-----|---------------------|-----------------------|
| A | 150          | 20             | 12,5         | 25            | 0         | 5                | 5,9 | 8,5                 | 293                   |
| B | 150          | 20             | 12,5         | 0             | 0         | 10               | 5,9 | 11                  | 448                   |
| C | 175          | 20             | 12,5         | 100           | 0         | 1                | 5,9 | ~ 8,0               | ~ 290                 |
| D | 175          | 20             | 12,5         | 50            | 0         | 5                | 5,9 | ~ 9,5               | ~ 370                 |
| E | 175          | 20             | 12,5         | 0             | 0         | 10               | 5,9 | ~ 20                | ~ 440                 |
| F | 200          | 20             | 12,5         | 100           | 0         | 1                | 5,9 | ~ 15                | ~ 290                 |

|   | mAb1 (mg/ml) | Histidina (mM) | Acetato (mM) | Arginina (mM) | NaCl (mM) | Sacarosa (% p/v) | pH  | Viscosidad (cPois.) | Osmolalidad (mOsm/kg) |
|---|--------------|----------------|--------------|---------------|-----------|------------------|-----|---------------------|-----------------------|
| G | 200          | 20             | 12,5         | 0             | 100       | 5                | 5,9 | -19,2               | ~ 430                 |
| H | 200          | 20             | 12,5         | 100           | 0         | 5                | 5,9 | ~ 17                | ~ 430                 |
| I | 200          | 20             | 12,5         | 50            | 0         | 5                | 5,9 | ~ 18                | ~ 330                 |
| J | 200          | 20             | 12,5         | 25            | 0         | 5                | 5,9 | ~ 23                | ~ 290                 |
| K | 200          | 20             | 12,5         | 0             | 0         | 10               | 5,9 | ~ 35                | ~ 440                 |

### Ejemplo 5. Caracterización de la formulación A

5 Las principales vías de degradación identificadas durante el desarrollo de la formulación líquida de mAb1 fueron la formación de agregados, productos de escisión y variantes de carga. La formación de estos productos de degradación se minimizó mediante la formulación de mAb1 en una formulación que contiene histidina 20 mM, acetato 12,5 mM, polisorbato 20 al 0,2 %, sacarosa al 5 % y clorhidrato de L-arginina 25 mM a pH 5,9. Se observó que el mAb1 150 mg/ml formulado era una solución líquida de transparente a ligeramente opalescente, esencialmente libre de partículas visibles.

10 El mAb1 formulado fue física y químicamente estable cuando se sometió a diversos esfuerzos (incubación a 25 °C y 45 °C) y a una condición de almacenamiento en tiempo real (5 °C) (Tabla 8). El aspecto no se vio afectado cuando el mAb1 se incubó a 25 °C (3 meses) o se almacenó a 5 °C durante 6 meses. Además, no se observó efecto sobre el pH de la solución, la turbidez o sobre la cantidad de mAb1 recuperado. Después de la incubación del mAb1 formulado durante 3 meses a 25 °C, el anticuerpo no se degradó significativamente según se determinó mediante HPLC-ET y se degradó un 3,3 % más según se determinó mediante HPLC-IC. Hubo una mayor degradación observada después de la incubación a 45 °C durante 8 semanas según se determinó mediante HPLC-ET y HPLC-IC, lo que indica que la formación de agregados y variantes de carga son las principales vías de degradación para la molécula de anticuerpo mAb1. No se observó ninguna degradación cuando el anticuerpo mAb1 formulado se almacenó durante 6 meses a 5 °C.

Tabla 8

| Ensayo de estrés             |                | Sin almacenamiento | 5 °C     |          |          | 25 °C    |          |
|------------------------------|----------------|--------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Duración del almacenamiento  |                | -                  | 2 meses  | 3 meses  | 6 meses  | 1 mes    | 3 meses  |
| Aspecto visual               |                | Aprobado           | Aprobado | Aprobado | Aprobado | Aprobado | Aprobado |
| Turbidez (DO 405 nm)         |                | 0,00               | 0,00     | 0,00     | 0,00     | 0,01     | 0,01     |
| PH                           |                | 6,0                | 6,0      | 5,9      | 5,9      | 6,0      | 6,0      |
| % de mAb1 (HPLC-FI)          |                | 100                | 97       | 104      |          | 97       | 102      |
| % de mAb1 nativo (HPLC-ET)   |                | 98,1               | 98,2     | 98,2     |          | 98,1     | 97,8     |
| % de mAb1 (Picos de HPLC-IC) | Ácido          | 14,6               | 14,7     | 14,7     |          | 16,0     | 17,6     |
|                              | Pico principal | 70,7               | 70,5     | 70,4     |          | 69,8     | 67,4     |
|                              | Básico         | 14,7               | 14,8     | 14,9     |          | 14,3     | 15,0     |

| Ensayo de estrés             |                | Sin almacenamiento | 45 °C     |           |           |
|------------------------------|----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| Duración del almacenamiento  |                | -                  | 2 semanas | 4 semanas | 8 semanas |
| Aspecto visual               |                | Aprobado           | Aprobado  | Aprobado  | Aprobado  |
| Turbidez (DO 405 nm)         |                | 0,00               | 0,02      | 0,03      | 0,05      |
| PH                           |                | 6,0                | 6,0       | 6,0       | 6,0       |
| % de mAb1 (HPLC-FI)          |                | 100                | 102       | 98        | 100       |
| % de mAb1 nativo (HPLC-ET)   |                | 98,1               | 95,9      | 94,2      | 90,5      |
| % de mAb1 (Picos de HPLC-IC) | Ácido          | 14,6               | 20,8      | 29,9      | 44,0      |
|                              | Pico principal | 70,7               | 64,5      | 56,7      | 45,1      |
|                              | Básico         | 14,7               | 14,7      | 13,4      | 10,9      |

25 De acuerdo con la Tabla 8, DO = densidad óptica; HPLC-FI = cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa; HPLC-ET = cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño; y HPLC-IC = cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico. Las especies ácidas o básicas se definen como la suma de los picos de mAb1 que eluyen de la columna HPLC-IC con tiempos de retención más tempranos o más tardíos que el pico principal, respectivamente.

30

**Ejemplo 6. Recipientes**

5 Se ha determinado que las formulaciones que contienen mAb1 son estables cuando se esterilizan por filtración. Se usó una unidad de filtración Millipore MILLIPAK en la fabricación de los suministros clínicos, mientras que se usó un filtro de composición idéntica en los estudios de investigación (Millipore MILLEX DURAPORE).

10 Se llenó un vial de vidrio de 5 ml con un mínimo de 2,5 ml de mAb1 150 mg/ml, sacarosa al 5 % (p/v), clorhidrato de L-arginina 25 mM, polisorbato 20 al 0,2 % (p/v), acetato 12,5 mM, histidina 20 mM, pH 5,9. Se aplicó un exceso de 0,5 ml de formulación en el vial de 5 ml para garantizar que se pudieran extraer 2,0 ml de la formulación. Este exceso no se diseñó para compensar las pérdidas durante la fabricación del mAb1 o la formulación que contiene el mAb1, la degradación durante la fabricación, la degradación durante el almacenamiento (semivida) o para extender el período de fecha de caducidad.

15 Comparada con el almacenamiento en viales de vidrio, la estabilidad del mAb1 formulado (Formulación A) no se vio afectada cuando se almacenó en un tubo de polipropileno, un tubo de poliestireno, un tubo de policarbonato o en un vial de vidrio que contenía piezas de acero inoxidable (Tabla 9).

**Tabla 9**

| Temperatura de almacenamiento | Sin almacenamiento | 40 °C durante 14 días |               |              |               |                  |
|-------------------------------|--------------------|-----------------------|---------------|--------------|---------------|------------------|
| Recipiente de almacenamiento  | Vidrio             | Vidrio                | Polipropileno | Poliestireno | Policarbonato | Acero inoxidable |
| Aspecto visual                | Aprobado           | Aprobado              | Aprobado      | Aprobado     | Aprobado      | Aprobado         |
| Turbidez (DO a 405 nm)        | 0,00               | 0,01                  | 0,01          | 0,02         | 0,02          | 0,01             |
| pH                            | 5,9                | 5,9                   | 5,7           | 5,8          | 5,8           | 5,9 %            |
| mAb1 (HPLC-FI)                | 100                | 102                   | 103           | 107          | 106           | 102              |
| % de mAb1 nativo (HPLC-ET)    | 98,4               | 97,6                  | 97,4          | 97,5         | 97,5          | 96,1             |
| % de mAb1 máximo (HPLC-IC)    | Ácido              | 14,8                  | 18,4          | 19,1         | 18,4          | 20,3             |
|                               | Pico principal     | 70,7                  | 65,8          | 65,5         | 66,0          | 65,0             |
|                               | Básico             | 14,5                  | 15,8          | 15,3         | 15,6          | 14,7             |

20 De acuerdo con la Tabla 9, se incubaron mAb1 150 mg/ml, sacarosa al 5 %, clorhidrato de arginina 25 mM, PS-20 al 0,2 %, histidina 20 mM, acetato 12,5 mM, pH 5,9 con/en diversos materiales a 40 °C durante 14 días. DO = densidad óptica; HPLC-FI = cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa; HPLC-ET = cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño; y HPLC-IC = cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico. La turbidez se notifica como el cambio relativo en la DO a 405 nm en comparación con el material de partida. Las especies ácidas o básicas se definen como la suma de los picos de mAb1 que eluyen de la columna HPLC-IC con tiempos de retención más tempranos o más tardíos que el pico principal, respectivamente.

25

**LISTADO DE SECUENCIAS**

- 30 <110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.  
 <120> Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-IL-4R  
 <130> 6032  
 35 <160> 26  
 <170> PatentIn versión 3.5  
 40 <210> 1  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 45 <400> 1

ES 2 687 813 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr  
 20 25 30

Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu  
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 115 120

5 <210> 2  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 2

10 Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala  
 1 5

15 <210> 3  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

20 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr  
 1 5

25 <210> 4  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 4

Ala Lys Asp Arg Leu Ser Ile Thr Ile Arg Pro Arg Tyr Tyr Gly Leu  
 1 5 10 15

ES 2 687 813 T3

5 <210> 5  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 5

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Ser Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser 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 Phe Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

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

10 <210> 6  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 6

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr  
 1 5 10

20 <210> 7  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 7

Leu Gly Ser  
 1

30 <210> 8  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 8

ES 2 687 813 T3

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr  
 1 5

5 <210> 9  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30

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

Ser Gly Leu Ser Arg Thr Ser Val Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

15 <210> 10  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 10

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5

25 <210> 11  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 11

30 Leu Ser Arg Thr Ser Val Ser Ile  
 1 5

ES 2 687 813 T3

5 <210> 12  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 12

Ala Lys Trp Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

10 <210> 13  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 13

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ser Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Asn Val Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105

20 <210> 14  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 14

Gln Asp Ile Ser Ile Trp  
 1 5

30 <210> 15  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 15

ES 2 687 813 T3

Val Ala Ser  
1

5 <210> 16  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 16

10 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr  
1 5

15 <210> 17  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 17

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr  
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ile Asp Ser Val  
50 55 60

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

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

Ala Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

20 <210> 18  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
25 <400> 18

Gly Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly  
1 5



ES 2 687 813 T3

5 <210> 19  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 19

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys  
 1 5

10 <210> 20  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 20

Ala Lys Glu Gly Arg Gly Gly Phe Asp Tyr  
 1 5 10

20 <210> 21  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 21

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr  
 20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile  
 35 40 45

His Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Trp  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

30 <210> 22  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 22

ES 2 687 813 T3

Gln Val Ile Asn Asn Tyr  
1 5

5 <210> 23  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 23

Ala Ala Ser

1

15 <210> 24  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 24

Gln Gln Tyr Asn Ser His Pro Trp Thr  
1 5

20  
25 <210> 25  
<211> 825  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 25

ES 2 687 813 T3

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val  
 1 5 10 15

Leu Leu Gln Val Ala Ser Ser Gly Asn Met Lys Val Leu Gln Glu Pro  
 20 25 30

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met  
 35 40 45

Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu  
 50 55 60

Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly  
 65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Ala  
 85 90 95

Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys  
 100 105 110

Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn  
 115 120 125

Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser  
 130 135 140

Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala  
 145 150 155 160

ES 2 687 813 T3

Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn  
165 170 175

Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys  
180 185 190

Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr  
195 200 205

Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp His Asn Ser  
210 215 220

Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His Leu Leu Leu Gly Val Ser Val Ser  
225 230 235 240

Cys Ile Val Ile Leu Ala Val Cys Leu Leu Cys Tyr Val Ser Ile Thr  
245 250 255

Lys Ile Lys Lys Glu Trp Trp Asp Gln Ile Pro Asn Pro Ala Arg Ser  
260 265 270

Arg Leu Val Ala Ile Ile Ile Gln Asp Ala Gln Gly Ser Gln Trp Glu  
275 280 285

Lys Arg Ser Arg Gly Gln Glu Pro Ala Lys Cys Pro His Trp Lys Asn  
290 295 300

Cys Leu Thr Lys Leu Leu Pro Cys Phe Leu Glu His Asn Met Lys Arg  
305 310 315 320

Asp Glu Asp Pro His Lys Ala Ala Lys Glu Met Pro Phe Gln Gly Ser  
325 330 335

Gly Lys Ser Ala Trp Cys Pro Val Glu Ile Ser Lys Thr Val Leu Trp  
340 345 350

Pro Glu Ser Ile Ser Val Val Arg Cys Val Glu Leu Phe Glu Ala Pro  
355 360 365

Val Glu Cys Glu Glu Glu Glu Glu Val Glu Glu Glu Lys Gly Ser Phe  
370 375 380

Cys Ala Ser Pro Glu Ser Ser Arg Asp Asp Phe Gln Glu Gly Arg Ala  
385 390 395 400

ES 2 687 813 T3

Gly Ile Val Ala Arg Leu Thr Glu Ser Leu Phe Leu Asp Leu Leu Gly  
 405 410 415

Glu Glu Asn Gly Gly Phe Cys Gln Gln Asp Met Gly Glu Ser Arg Leu  
 420 425 430

Leu Pro Pro Ser Gly Ser Thr Ser Ala His Met Pro Trp Asp Glu Phe  
 435 440 445

Pro Ser Ala Gly Pro Lys Glu Ala Pro Pro Trp Gly Lys Glu Gln Pro  
 450 455 460

Leu His Leu Glu Pro Ser Pro Pro Ala Ser Pro Thr Gln Ser Pro Asp  
 465 470 475 480

Asn Leu Thr Cys Thr Glu Thr Pro Leu Val Ile Ala Gly Asn Pro Ala  
 485 490 495

Tyr Arg Ser Phe Ser Asn Pro Leu Ser Gln Ser Pro Cys Pro Arg Glu  
 500 505 510

Leu Gly Pro Asp Pro Leu Leu Ala Arg His Leu Glu Glu Val Glu Pro  
 515 520 525

Glu Met Pro Cys Val Pro Gln Leu Ser Glu Pro Thr Thr Val Pro Gln  
 530 535 540

Pro Glu Pro Glu Thr Trp Glu Gln Ile Leu Arg Arg Asn Val Leu Gln  
 545 550 555 560

His Gly Ala Ala Ala Ala Pro Val Ser Ala Pro Thr Ser Gly Tyr Arg  
 565 570 575

Glu Phe Val His Ala Val Glu Gln Gly Gly Thr Gln Ala Ser Ala Val  
 580 585 590

Val Gly Leu Gly Pro Pro Gly Glu Ala Gly Tyr Lys Ala Phe Ser Ser  
 595 600 605

Leu Leu Ala Ser Ser Ala Val Ser Pro Glu Lys Cys Gly Phe Gly Ala  
 610 615 620

Ser Ser Gly Glu Glu Gly Tyr Lys Pro Phe Gln Asp Leu Ile Pro Gly  
 625 630 635 640

ES 2 687 813 T3

Cys Pro Gly Asp Pro Ala Pro Val Pro Val Pro Leu Phe Thr Phe Gly  
645 650 655

Leu Asp Arg Glu Pro Pro Arg Ser Pro Gln Ser Ser His Leu Pro Ser  
660 665 670

Ser Ser Pro Glu His Leu Gly Leu Glu Pro Gly Glu Lys Val Glu Asp  
675 680 685

Met Pro Lys Pro Pro Leu Pro Gln Glu Gln Ala Thr Asp Pro Leu Val  
690 695 700

Asp Ser Leu Gly Ser Gly Ile Val Tyr Ser Ala Leu Thr Cys His Leu  
705 710 715 720

Cys Gly His Leu Lys Gln Cys His Gly Gln Glu Asp Gly Gly Gln Thr  
725 730 735

Pro Val Met Ala Ser Pro Cys Cys Gly Cys Cys Cys Gly Asp Arg Ser  
740 745 750

Ser Pro Pro Thr Thr Pro Leu Arg Ala Pro Asp Pro Ser Pro Gly Gly  
755 760 765

Val Pro Leu Glu Ala Ser Leu Cys Pro Ala Ser Leu Ala Pro Ser Gly  
770 775 780

Ile Ser Glu Lys Ser Lys Ser Ser Ser Ser Phe His Pro Ala Pro Gly  
785 790 795 800

Asn Ala Gln Ser Ser Ser Gln Thr Pro Lys Ile Val Asn Phe Val Ser  
805 810 815

Val Gly Pro Thr Tyr Met Arg Val Ser  
820 825

<210> 26  
<211> 207  
5 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<400> 26

10 Met Lys Val Leu Gln Glu Pro Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile  
1 5 10 15

ES 2 687 813 T3

Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu  
 20 25 30

Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr  
 35 40 45

Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu  
 50 55 60

Met Asp Asp Val Val Ser Ala Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala  
 65 70 75 80

Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val  
 85 90 95

Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp  
 100 105 110

Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu  
 115 120 125

Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro  
 130 135 140

Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg  
 145 150 155 160

Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val  
 165 170 175

Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro  
 180 185 190

Ser Thr Lys Trp His Asn Ser Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln His  
 195 200 205

## REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende:

- 5 (i) un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor alfa de interleucina 4 humano (hIL-4R $\alpha$ ) a una concentración de hasta 200 mg/ml, en la que dicho anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada
- 10 cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera;
- (ii) acetato a una concentración de 12,5 mM  $\pm$  2 mM;
- (iii) histidina a una concentración de 20 mM  $\pm$  3 mM;
- 15 (iv) sacarosa a una concentración del 5 % p/v  $\pm$  0,75 % p/v;
- (v) polisorbato 20 o polisorbato 80 a una concentración del 0,2 % p/v  $\pm$  0,03 % p/v; y
- (vi) arginina a una concentración de 25 mM  $\pm$  3,75 mM o a una concentración de 50 mM  $\pm$  7,5 mM;

en la que la formulación tiene un pH de 5,6 a 6,2, y

20 en la que al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

2. La formulación farmacéutica líquida de la reivindicación 1, en la que:

- 25 (a) el anticuerpo está en una concentración de 150 mg/ml  $\pm$  50 mg/ml;
- (b) el anticuerpo está en una concentración de 100 mg/ml;
- (c) el anticuerpo está en una concentración de 150 mg/ml  $\pm$  15 mg/ml; o
- (d) el anticuerpo está en una concentración de 175 mg/ml.

30 3. La formulación farmacéutica líquida estable de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende polisorbato 20 a una concentración del 0,2 %  $\pm$  0,03 % p/v.

4. La formulación farmacéutica líquida estable de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende polisorbato 80 a una concentración del 0,2 %  $\pm$  0,03 % p/v.

35 5. La formulación farmacéutica líquida estable de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende arginina a una concentración de 25 mM  $\pm$  3,75 mM.

6. La formulación farmacéutica líquida estable de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende arginina a una concentración de 50 mM  $\pm$  7,5 mM.

40

7. La formulación farmacéutica líquida estable de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que:

- (a) la viscosidad del líquido es inferior o igual a 35  $\pm$  3,5 cPoise;
- (b) la viscosidad del líquido es de 21,5  $\pm$  13,5 cPoise;
- 45 (c) la viscosidad del líquido es de 11  $\pm$  1,1 cPoise o de 8,5  $\pm$  0,85 cPoise; y/o
- (d) la osmolalidad del líquido es de 290  $\pm$  20 mOsm/kg.

8. La formulación farmacéutica líquida estable de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que:

- 50 (a) al menos el 95 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño;
- (b) al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño;
- 55 (c) al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de ocho semanas de almacenamiento a 45 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño;
- (d) menos del 45 % del anticuerpo recuperado después de ocho semanas de almacenamiento a 45 °C es una forma ácida, según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico; o
- (e) se agrega menos del 4 % del anticuerpo recuperado después de seis meses de almacenamiento a 25 °C, según se determina mediante cromatografía de intercambio de exclusión por tamaño.

60

9. La formulación farmacéutica líquida estable de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores contenida en:

- (a) un vial de vidrio;
- (b) una jeringuilla; o
- 65 (c) un microinfusor.



10. La formulación farmacéutica líquida estable de la reivindicación 9, que está contenida en una jeringuilla en la que:

- 5 (a) dicha jeringuilla comprende un émbolo recubierto de fluorocarbono; y/o  
 (b) dicha jeringuilla es una jeringuilla de tungsteno bajo.

11. Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende:

- 10 (i) 150 mg/ml  $\pm$  50 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  2 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 %; (v) polisorbato 20 al 0,2 %  $\pm$  0,03 %; y (vi) arginina 25 mM  $\pm$  3,75 mM, a un pH de 5,9  $\pm$  0,5 y

20 en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

- 25 12. Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (i) 150 mg/ml  $\pm$  50 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  2 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 %; (v) polisorbato 80 al 0,2 %  $\pm$  0,03 %; y (vi) arginina 25 mM  $\pm$  3,75 mM, a un pH de 5,9  $\pm$  0,5, y

30 en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

- 35 13. Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (i) 175 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  2 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 %; (v) polisorbato 20 al 0,2 %  $\pm$  0,03 %; y (vi) arginina al 50 mM  $\pm$  3,75 mM, a un pH de 5,9  $\pm$  0,5, y

40 en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

- 45 14. Una formulación farmacéutica líquida estable que comprende: (i) 175 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-4R $\alpha$ , en la que dicho anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una región constante de la cadena pesada que comprende los dominios CH1, CH2 y CH3, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región constante de la cadena ligera; (ii) acetato 12,5 mM  $\pm$  2 mM; (iii) histidina 20 mM  $\pm$  3 mM; (iv) sacarosa al 5 %  $\pm$  0,75 %; (v) polisorbato 80 al 0,2 %  $\pm$  0,03 %; y (vi) arginina 50 mM  $\pm$  3,75 mM, a un pH de 5,9  $\pm$  0,5, y

50 en la que al menos el 98 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

55 15. La formulación farmacéutica líquida estable de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, en la que:

- (a) la viscosidad del líquido es de 11  $\pm$  1,1 cPoise o 8,5  $\pm$  0,85 cPoise; o  
 (b) la osmolalidad del líquido es de 290  $\pm$  20 mOsm/kg.

60 16. La formulación farmacéutica líquida estable de una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15, en la que:

- (a) al menos el 90 % de la forma nativa del anticuerpo se recupera después de ocho semanas de almacenamiento a 45 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño;  
 (b) menos del 45 % del anticuerpo recuperado después de ocho semanas de almacenamiento a 45 °C es una forma ácida, según se determina mediante cromatografía de intercambio catiónico; o  
 65 (c) se agrega menos del 4 % del anticuerpo recuperado después de seis meses de almacenamiento a 25 °C, según se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño.