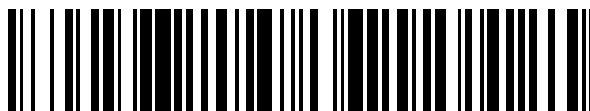


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 726**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.07.2014** **PCT/EP2014/065612**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.01.2015** **WO15007912**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.07.2014** **E 14744505 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.06.2018** **EP 3021833**

54 Título: **Métodos y formulaciones que permiten la modulación de respuestas inmunitarias relacionadas con la administración de un fármaco biofarmacéutico**

30 Prioridad:

19.07.2013 EP 13177259

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

06.11.2018

73 Titular/es:

HEXAL AKTIENGESELLSCHAFT (100.0%)
Industriestrasse 25
83607 Holzkirchen, DE

72 Inventor/es:

KRONTHALER, ULRICH;
VIERTLBÖCK-SCHUDY, MARGOT y
BARON, MELANIE

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 688 726 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

Métodos y formulaciones que permiten la modulación de respuestas inmunitarias relacionadas con la administración de un fármaco biofarmacéutico.

Campo de la invención

- 5 La presente invención se relaciona con métodos y formulaciones que permiten la modulación de respuestas inmunes relacionadas con la administración de un fármaco biofarmacéutico.

Antecedentes de la invención

- 10 Por múltiples razones, como el tamaño de la molécula, muchos fármacos modernos, como los biofarmacéuticos, no son adecuados para la administración oral. En su lugar, deben inyectarse de manera invasiva en el espacio extravascular, por ejemplo, por vía subcutánea (s.c), por vía intramuscular (i.m.), o directamente en el sistema vascular, por ejemplo, por vía intravenosa (i.v.). A partir de estas opciones, la ruta subcutánea es típicamente la más preferida. Una de las principales razones es que permite la autoadministración por parte de los pacientes, lo que es especialmente importante en el caso de las terapias crónicas. Además, es menos invasivo en comparación con la administración intravenosa y, en consecuencia, los riesgos asociados son generalmente más bajos, como en el caso de la inyección involuntaria en condiciones higiénicas bajas. La administración subcutánea es favorable, aunque la reabsorción del espacio subcutáneo es solo parcial, y la baja biodisponibilidad generalmente requiere un aumento de la dosis, lo que se traduce en mayores costes para la terapia.

- 20 Además de sus funciones de regulación y sensación, la función principal de la piel es la protección. Actúa como una barrera contra el estrés mecánico pero también protege al individuo como una barrera de primera línea contra los microorganismos, como lo ilustra un mayor riesgo de infección/inflamación en caso de que la piel esté lesionada. Como la funcionalidad mecánica sola sería insuficiente, el pH y, en algunos sitios, las proteasas, sirven como mecanismos adicionales de defensa química contra los patógenos. De manera importante un mecanismo altamente eficiente de protección es la mayor vigilancia del tejido por parte del sistema inmune. Si bien se desea la detección fisiológica de patógenos, el procesamiento de productos biofarmacéuticos por parte del sistema inmune como los patógenos es en la mayoría de los casos no deseado. El aumento de la vigilancia explica por tanto la segunda desventaja clave de la administración subcutánea de productos biofarmacéuticos, a saber, la inmunogenicidad no deseada, además de mayores costes derivados de mayores cantidades del producto, pero también mayores esfuerzos en la fabricación y desarrollo de esta clase de productos. Dicha inmunogenicidad no deseada puede dar lugar a numerosas consecuencias. Puede llevar a la pérdida de eficacia, a una mayor depuración de la circulación o a desencadenar reacciones anafilácticas potencialmente mortales. Como la pérdida de eficacia puede notarse después de un período prolongado, lo que también puede significar costes innecesarios para el sistema de atención de la salud, debido al alto precio de esta clase de productos. Si bien es más preferible desde la perspectiva del paciente y del responsable médico, la biodisponibilidad limitada en combinación con riesgos tales como la inmunogenicidad, plantea un problema serio.

- 35 Dado que los factores de riesgo relacionados con la inmunogenicidad, como la disposición genética, son poco conocidos y difíciles de controlar, el control y la optimización de los factores de riesgo relacionados con el producto son la única oportunidad para que los pacientes se beneficien plenamente de las terapias modernas, como los biológicos, especialmente ya que se recetan solo en caso de que todas las demás opciones terapéuticas ya hayan fallado, también como consecuencia de sus altos costes.

- 40 La modulación deseada en este contexto puede significar en la mayoría de los casos el objetivo de disminuir la inmunogenicidad, ya que en la mayoría de los casos, los fármacos que tienen el potencial de ser reconocidos por el sistema inmune, incluyendo la formación posterior de anticuerpos, son completamente eficaces y seguros solamente cuando no ocurre tal respuesta inmune. Por otro lado, existen terapias que apuntan específicamente a provocar una respuesta inmune adecuada para eliminar o inactivar el objetivo deseado. El objetivo respectivo podría ser una proteína extraña que debería reconocerse/neutralizarse.

En todos estos casos, podría ser deseable aumentar adicionalmente la respuesta inmune prevista que resulta del fármaco, y en tales casos la presencia de ácido cítrico en la solución de administración o en etapas de fabricación anteriores podría ser beneficiosa a este respecto.

- 50 Las formulaciones del estado de la técnica, por ejemplo, Humira® utilizado como una formulación del anticuerpo anti-TNF-alfa (anti-TNFα) adalimumab que comprende fosfato como también ácido cítrico como sustancia reguladora, cumplen los requisitos de tolerabilidad tras la administración, estabilidad del fármaco biofarmacéutico y vida útil.

- 55 Sin embargo, dichas formulaciones tienen varias desventajas. Una desventaja es que muchos productos biofarmacéuticos tras la administración subcutánea inducen inmunogenicidad no deseada como se describe anteriormente. Debido a sus propiedades antigénicas, otras contaminaciones similares a proteínas, que son difíciles de detectar analíticamente, también pueden desencadenar reacciones inmunológicas en humanos. Además, las proteínas de origen animal pueden desencadenar reacciones inmunológicas en humanos debido a sus propiedades

específicas de especie en general. Incluso si el riesgo de tales reacciones ya es bajo para los métodos de fabricación de última generación, podría acumularse con el tiempo, en particular tras la reaplicación crónica de tales fármacos.

Esto es, en particular, también en caso de aplicación subcutánea, ya que la eliminación y distribución a través del torrente sanguíneo es mucho más tardía en comparación con la aplicación intravenosa. Una formulación favorable contribuiría así a reducir la inmunogenicidad inducida por fármacos y a proporcionar un medicamento más rentable, o a aumentar la inmunogenicidad inducida por fármacos, en caso de que esta sea la reacción prevista como una intervención profiláctica o terapéutica.

El documento WO 2012089778 divulga formulaciones farmacéuticas que comprenden un fármaco biofarmacéutico, comprendiendo además dichas composiciones al menos un ácido mono o dicarboxílico con un esqueleto principal de 2-6 átomos C, o al menos una sal del mismo, y un método para preparar la formulación. La formulación puede comprender además un ácido/sal adicional, un estabilizador que puede ser un aminoácido, un poliol de azúcar, un disacárido y/o un polisacárido.

El problema que subyace a la presente invención es proporcionar una forma de formulación para fármacos biofarmacéuticos que no muestre las desventajas descritas anteriormente de las formas de dosificación hasta ahora conocidas, con el objetivo de una baja inmunogenicidad o que produzca una reacción inmune aumentada, si esto se desea. En particular, debe ser adecuado para la autoaplicación por pacientes o personal médico entrenado y debe caracterizarse por la capacidad de reducir la inmunogenicidad o aumentar la inmunogenicidad dependiendo de la situación médica y/o al mismo tiempo evitar irritaciones indeseadas de la piel y/o dolor en el sitio de inyección que a menudo ocurre junto con la (auto) aplicación de un fármaco por medio de una inyección.

Por lo tanto, existe la necesidad de proporcionar formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración/inyección parenteral, en particular subcutánea.

Este problema se resuelve mediante las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones. El método de la presente invención ofrece ventajas en la preparación de formulaciones para reducir o aumentar la inmunogenicidad de fármacos biofarmacéuticos como se describe en la presente descripción. La invención se basa en la observación sorprendente de que la respuesta inmune puede modularse seleccionando una formulación apropiada que comprende ácido hexanodiólico y/o un nivel adecuado de ácido cítrico. Esto puede ser específicamente deseable para fármacos, con el potencial de ser reconocido por el sistema inmune. Esto hace que las formulaciones de la presente invención sean adecuadas y ventajosas para el uso en jeringas y kits listos para usar proporcionados con los mismos, tales como para uso doméstico.

Sumario de la invención

Antes de que la invención se describa en detalle, debe entenderse que esta invención no está limitada a las partes componentes particulares de los dispositivos descritos o las etapas de proceso de los métodos descritos ya que tales dispositivos y métodos pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada aquí es solo para describir realizaciones particulares, y no pretende ser limitativa. Debe observarse que, tal como se usa en la especificación y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referentes singulares y/o plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, debe entenderse que, en el caso de que se den intervalos de parámetros que estén delimitados por valores numéricos, se considera que los intervalos incluyen estos valores de limitación.

El ácido hexanodiólico es un compuesto de ácido carboxílico, que también se llama ácido adípico, ácido 1,4-butanodicarboxílico, ácido 1,6-hexanodiólico, acifloctina, acinetten, ácido adipínico, ácido octafluorohexanodiólico o ácido adípico fundido. El ácido adípico tiene la fórmula molecular de $C_6H_{10}O_4$ y un peso molecular de 146,1 g/mol. Los términos "ácido adípico" y "ácido hexanodiólico" se usan de forma intercambiable aquí.

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un método para usar ácido hexanodiólico o al menos una sal del mismo, y/o ácido cítrico o al menos una sal del mismo, método que permite modular la inmunogenicidad de una formulación farmacéutica que comprende un fármaco biofarmacéutico, en particular un anticuerpo anti-TNF α .

De acuerdo con la presente invención, el término "formulación farmacéutica" se relaciona con cualquier formulación que sea adecuada para ser administrada a un paciente y comprende un fármaco que exhibe un efecto terapéutico y/o de diagnóstico. Dicha "formulación farmacéutica" es, preferiblemente, una formulación de administración de fármacos.

Como se usa aquí, el término "inmunogenicidad" y/o "inmunogénico" y/o "rata de inmunogenicidad" se debe entender en términos del potencial de una molécula, cuando se inyecta en un sujeto, para ser reconocida por el sistema inmune, incluyendo reacciones posteriores, sean intencionales o no, tales como la formación de anticuerpos contra la molécula, es decir, podrían causar/inducir una respuesta que afecte al sistema inmune del sujeto.

Como se usa aquí, el término "modulación de respuestas inmunes" debe entenderse como aumentar o reducir la inmunogenicidad relacionada con la administración de una formulación dada. Aunque en muchos casos, puede ser deseable una reducción de la inmunogenicidad para aumentar el cumplimiento de los pacientes y reducir los efectos secundarios perjudiciales, un aumento de la inmunogenicidad puede ser deseable en otros casos.

El término "inmunogenicidad reducida" como se usa aquí se refiere a una formulación diseñada para comprender al menos una molécula biofarmacéutica que, cuando se inyecta en un paciente, por ejemplo, por vía subcutánea, provocará/inducirá una respuesta inmune que no es sustancialmente más fuerte que una respuesta inmune inducida por una molécula de referencia indicada como esencialmente no inmunogénica.

Como se usa aquí, el término "fármaco biofarmacéutico" incluirá cualquier molécula terapéutica o de diagnóstico derivada de una fuente biológica o biotecnológica, o sintetizada químicamente para ser equivalente a un producto de dicha fuente, por ejemplo, una proteína, un péptido, un ácido nucleico, una inmunoglobulina, un polisacárido, un producto celular, un extracto de planta, un extracto de animal, una proteína recombinante o combinaciones de los mismos. Comúnmente, el fármaco biofarmacéutico es el ingrediente activo de un biofarmacéutico. Los términos "fármaco" y "compuesto" se usan indistintamente aquí y pretenden significar (un) agente o agentes y/o medicamento o medicamentos utilizados para diagnosticar, prevenir o tratar los síntomas de una enfermedad, afección física o mental, lesión o infección.

El término "biodisponibilidad" se refiere al grado o rata con la que un fármaco u otra sustancia se absorbe o queda disponible en el sitio de la actividad fisiológica después de la administración. La biodisponibilidad de una macromolécula puede analizarse mediante métodos de farmacocinética in vivo conocidos en la técnica.

Los ensayos adecuados para la evaluación de la inmunogenicidad son bien conocidos en la técnica y comprenden ensayos de enlace cualitativos y semicuantitativos, ensayos de neutralización y ensayos confirmatorios (inmunoensayo y ensayos inmunocromatográficos) para la medición de anticuerpos antifármacos (ADAs). Otros ensayos comprenden ensayos cualitativos para la determinación total de anticuerpos (criba y título), ensayo confirmatorio (especificidad) mediante ELISA, ECL, RIA y formatos de citometría de flujo (incluyendo la disociación ácida "AD" y ensayos de extracción en fase sólida "SPEAD" y "BEAD" para aumentar la tolerancia a los fármacos). También son bien conocidos los ensayos a base de células para la detección de anticuerpos neutralizantes y el análisis toxicocinético para moléculas grandes.

Los términos "sujeto" o "individuo" o "animal" o "paciente" o "mamífero", significan cualquier sujeto, particularmente un sujeto mamífero, para quien se desea el diagnóstico, pronóstico, prevención o terapia. Un "mamífero", para fines de tratamiento, se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, que incluye pero no se limita a humanos, animales domésticos y de granja, y animales de zoológico, deportes o mascotas, como perros, caballos, gatos, vacas, y similares. Preferiblemente, el mamífero es humano.

En el proceso de experimentos realizados dentro del alcance de la presente invención, sorprendentemente se descubrió que las propiedades ventajosas de formulaciones reguladas con ácido hexanodióico comprenden una buena aceptabilidad/compatibilidad en conejos tras la inyección subcutánea y una eliminación menor en comparación con fármacos comercialmente disponibles y formulaciones de referencia después de una semana después de la dosificación. Por lo tanto, como se muestra en los Ejemplos 1 y 2, la inmunogenicidad se puede influenciar seleccionando una concentración apropiada de ácido hexanodióico en la formulación o solución de aplicación. Esto puede ser específicamente deseable para los fármacos, con el potencial de ser reconocido por el sistema inmune.

Muchos factores influyen en la inmunogenicidad de formulaciones farmacéuticas que comprenden fármacos biofarmacéuticos, incluyendo características estructurales (variación de secuencia y glicosilación), condiciones de almacenamiento (desnaturalización o agregación causada por oxidación), contaminantes o impurezas en la preparación, dosis y duración del tratamiento, así como la vía de administración, formulación adecuada y las características genéticas de los pacientes. Las manifestaciones clínicas se han descrito en la sección anterior.

Como se describe en detalle en la sección experimental, los inventores encontraron sorprendentemente que una formulación que comprende ácido hexanodióico presenta una respuesta inmune reducida tras la inyección subcutánea en conejos en comparación con la inyección de formulaciones que comprenden ácido cítrico. Al mismo tiempo, los inventores encontraron sorprendentemente que una formulación que tiene un contenido reducido, o es esencialmente libre, de ácido cítrico, o una sal del mismo, presenta una respuesta inmune reducida tras la inyección subcutánea en conejos. Esto último es particularmente llamativo porque, en general, las moléculas pequeñas como los ácidos orgánicos no provocan ninguna respuesta inmune. Sin estar ligados a la teoría, los inventores postulan que el ácido cítrico, o las sales, pueden ser inmunogénicas como tales o desempeñar un papel en el desarrollo de una respuesta inmune.

Por lo tanto, es prudente esperar que la formulación de un fármaco farmacéutico en un regulador de ácido hexanodióico induzca menos irritación o respuesta inmune en comparación con, por ejemplo, los reguladores de ácido cítrico. Al mismo tiempo, es prudente esperar que la formulación de un fármaco farmacéutico en un regulador que tiene un contenido reducido, o es esencialmente libre, de ácido cítrico, o sus sales, induzca menos irritación o respuesta inmune en comparación con, por ejemplo, reguladores de ácido cítrico. La presente invención divulga estas observaciones sorprendentes por primera vez, que, aplicadas en consecuencia, permiten afectar, reducir, minimizar y/o modular la inmunogenicidad de fármacos que son reconocidos por el sistema inmune a través de la formulación, sin afectar la biodisponibilidad.

Además, es prudente esperar que cuando se formula un fármaco biofarmacéutico en un regulador que comprende una concentración adecuadamente alta de ácido cítrico, las reacciones inmunes deseadas pueden aumentarse adicionalmente.

Los métodos y formulaciones de la presente invención pueden alterarse como conocerá la persona experimentada en la técnica, pero en general seguiría un procedimiento tal como se describe a continuación. En primer lugar, se obtiene un fármaco biofarmacéutico purificado, tal como un anticuerpo o proteína, en una concentración deseada en un disolvente tal como agua, complementado preferiblemente con otros medios reguladores adecuados tales como NaCl, Tween 80 u otros medios reguladores bien conocidos en la técnica en valores de pH entre 5 y 8, en los que el fármaco biofarmacéutico es estable. La formulación farmacéutica de acuerdo con la presente invención contiene el fármaco biofarmacéutico en una cantidad que es eficaz para lograr un efecto terapéutico.

En la segunda etapa, dicho fármaco biofarmacéutico se disuelve en un regulador que comprende al menos ácido hexanodiólico o al menos una sal del mismo en una concentración adecuada como se describe en detalle a continuación para permitir la formación de una formulación o una suspensión del fármaco biofarmacéutico. En la preparación de la formulación líquida de acuerdo con la presente invención, la sustancia reguladora se proporciona preferiblemente en forma de su ácido libre. El valor de pH deseado de la solución se ajusta mediante la adición de bases, como por ejemplo hidróxidos alcalinos, hidróxidos alcalinotérreos o hidróxido de amonio. Para este propósito, se prefiere el uso de hidróxido de sodio.

Usualmente, una formulación para un fármaco biofarmacéutico comprende uno o más reguladores, agente o agentes isotonzantes y agua para inyección como disolvente. Además, con frecuencia se añaden estabilizadores, como por ejemplo un agente crioprotector. Además, se pueden agregar uno o más agentes quelantes de metales y tensioactivos. Algunos agentes pueden tener un doble papel, por ejemplo, algunos azúcares o alcoholes de azúcar pueden servir como un agente crioprotector y un agente isotonzante.

Como apreciará una persona experimentada, se pueden añadir uno o más ácidos adicionales adecuados para producir una formulación en cantidades adecuadas. Particularmente preferidos son ácidos mono o dicarboxílicos, o una sal del mismo, con al menos uno seleccionado del grupo que consiste en:

- ácido acético o acetato
- ácido glutámico o glutamato
- ácido málico o malato
- ácido cítrico y/o citrato,
- ácido fosfórico y/o fosfato
- ácido tartárico, o tartrato, y/o
- ácido succínico o succinato.

De acuerdo con la presente invención, la persona experimentada en la técnica entenderá que el término "ácido o ácidos adecuados" se relaciona con ácido o ácidos que no son inmunogénicos en una "cantidad adecuada", es decir, a la concentración final de la formulación preparada. Por lo tanto, ciertos ácidos que se sabe que son reconocidos por el sistema inmune, es decir que son inmunogénicos, y/o inducen una respuesta inmune en un sujeto/paciente no se consideran adecuados para la preparación de una formulación para reducir la inmunogenicidad de acuerdo con la presente invención.

Se pueden añadir aditivos adicionales tales como estabilizadores, tensioactivos, agentes isotonzantes, quelantes de iones metálicos, etc. a la formulación y/o suspensión, cuyos aditivos son adecuados para la aplicación deseada y son bien conocidos por las personas experimentadas en la técnica. Como se usa aquí, el término "estabilizador" se referirá a un agente que ayuda a mantener la integridad estructural del fármaco biofarmacéutico, particularmente durante la congelación y/o liofilización y/o almacenamiento.

Dichos agentes son, en el contexto de la presente invención, también denominados "crioprotectores" o "lioprotectores".

Como una etapa opcional del método de la presente invención, la formulación y/o suspensión obtenida se puede liofilizar usando técnicas estándar que son bien conocidas por la persona experimentada. En una realización preferida de la invención, dicha formulación está en una forma seleccionada del grupo que consiste en

- a) forma acuosa
- b) forma liofilizada, y/o
- c) suspensión.

En forma acuosa, dicha formulación puede estar lista para administración, mientras que en forma liofilizada dicha formulación puede transferirse a forma líquida antes de la administración, por ejemplo, mediante la adición de agua para inyección que puede comprender o no un conservante tal como alcohol bencílico, antioxidantes como vitamina A, vitamina E, vitamina C, retinilpalmitato y selenio, los aminoácidos cisteína y metionina, ácido cítrico y citrato de sodio, conservantes sintéticos como parabenos, metil parabeno y propil parabeno.

Finalmente, la formulación, la suspensión y/o la formulación liofilizada obtenidas se pueden procesar, por ejemplo, añadiendo conservantes para el almacenamiento a largo plazo o rellenando un receptáculo adecuado para la administración deseada. Por lo tanto, la formulación obtenida mediante el método de la presente invención es útil para la administración parenteral de un fármaco terapéutico y/o diagnóstico. La administración parenteral puede ser intramuscular o subcutánea, en la que la aplicación subcutánea es particularmente preferida.

Particularmente, la formulación de la presente invención está diseñada para administración oral, excepto administración oral de rotavirus, así como rutas de administración no orales, tales como, pero sin limitación, administración parenteral, administración tópica, administración pulmonar.

Por lo tanto, en una realización preferida, la presente invención se relaciona con una formulación y/o método farmacéutico como se menciona anteriormente y se describe en detalle a continuación, en el que la formulación está en una forma de dosificación no oral, es decir, diseñada para administrarse de forma no oral.

Preferiblemente, el ácido hexanodiólico se usa como el único ácido carboxílico o sal, o incluso como el único regulador principal en la formulación de acuerdo con la presente invención.

Particularmente preferida, la formulación puede estar sustancialmente libre de al menos un compuesto regulador adicional seleccionado del grupo que consiste en:

- ácido acético o acetato
- ácido glutámico o glutamato
- ácido málico o malato
- ácido fosfórico y/o fosfato
- ácido tartárico, o tartrato, y/o
- ácido succínico o succinato.

o cualquier otro recurso para el cual se sabe que induce o aumenta la inmunogenicidad tras la inyección a un sujeto.

De acuerdo con una realización preferida, está provisto que el método o formulación de acuerdo con la invención da como resultado una reducción de las respuestas inmunitarias relacionadas con la administración de las mismas. En una realización preferida, esto se puede lograr, entre otros, de tal manera que la formulación tenga un contenido reducido, o sea esencialmente libre, de ácido cítrico, o una sal del mismo. Preferiblemente, tal formulación comprende en su lugar ácido hexanodiólico.

El término "contenido reducido de ácido cítrico", como se usa aquí, significa que la formulación preferiblemente no contiene más de ácido cítrico 0,01, 0,05, 0,1 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,2 o 1,3 mM, o una sal del mismo.

Este intervalo de concentración también puede abarcar concentraciones acumulativas de ácido cítrico y una sal del mismo, por ejemplo, citrato de sodio. En el caso de que se proporcione ácido cítrico como hidrato (por ejemplo, monohidrato), las concentraciones respectivas deben corregirse en consecuencia.

El término "esencialmente libre de ácido cítrico", como se usa aquí, significa que no se ha añadido intencionalmente ácido cítrico, o sal del mismo, a la composición. La cantidad total de ácido cítrico, o sus sales como producto de contaminación involuntaria es, por lo tanto, inferior al 0,05%, preferiblemente inferior al 0,01%. La más preferida es una composición en la que no se puede detectar ninguna cantidad de ácido cítrico, o una sal del mismo, con métodos analíticos estándar usados en tecnología farmacéutica.

Se prefiere particularmente que el ácido hexanodiólico esté presente en la formulación de acuerdo con la presente invención, en una concentración de entre ≥ 1 y ≤ 100 mM, preferiblemente entre ≥ 2 y ≤ 50 mM, e incluso más preferiblemente entre ≥ 5 y ≤ 25 mM, lo más preferiblemente 23 mM. Debe entenderse que cada valor numérico entre 1 mM y 100 mM se puede usar de acuerdo con la presente invención y depende del uso previsto de la formulación y del paciente a tratar.

Además, se prefiere que, además del ácido hexanodiólico, la formulación farmacéutica también pueda contener fosfato, preferiblemente fosfato de sodio (aquí también denominado "NaP"). El término "fosfato de sodio" debe entenderse como que abarca el dihidrogenofosfato de sodio y el hidrogenofosfato de disodio, y todas las sales y/o hidratos posibles de los mismos.

De acuerdo con otra realización preferida, se proporciona que el método o formulación de acuerdo con la invención da como resultado un aumento de las respuestas inmunitarias relacionadas con la administración de las mismas. En una realización preferida, esto se puede lograr, entre otros, de tal manera que la formulación comprenda ácido cítrico o una sal del mismo.

- 5 Preferiblemente, esto significa que el ácido cítrico, o una sal del mismo, se ha añadido intencionalmente a la composición, aunque esta realización también abarca aquellas formulaciones donde el ácido cítrico está presente sin haber sido intencionalmente añadido.

10 Preferiblemente, la formulación podría contener más de ácido cítrico 1,30, 1,40, 1,50, 1,60, 1,70, 1,80, 1,90, 2,00, 2,10, 2,20, 2,30, 2,40, 2,50, 2,60, 2,70, 2,80, 2,90, 3,00, 3,10, 3,20, 3,30, 3,40, 3,50, 3,60, 3,70, 3,80, 3,90, 4,00, 4,10, 4,20, 4,30, 4,40, 4,50, 4,60, 4,70, 4,80, 4,90, 5,00, 5,10, 5,20, 5,30, 5,40, 5,50, 5,60, 5,70, 5,80, 5,90, 6,00, 6,10, 6,20, 6,30, 6,40, 6,50, 6,60, 6,70, 6,80, 6,90, 7,00, 7,10, 7,20, 7,30, 7,40, 7,50, 7,60, 7,70, 7,80, 7,90, 8,00, 8,10, 8,20, 8,30, 8,40, 8,50, 8,60, 8,70, 8,80, 8,90, 9,00, 9,10, 9,20, 9,30, 9,40, 9,50, 9,60, 9,70, 9,80, 9,90, o 10,00 mM, o una sal del mismo.

15 Este intervalo de concentración también puede abarcar concentraciones acumulativas de ácido cítrico y una sal del mismo, por ejemplo, citrato de sodio. En el caso de que se proporcione ácido cítrico como hidrato (por ejemplo, monohidrato), las concentraciones respectivas deben corregirse en consecuencia.

Dicha forma acuosa de la formulación farmacéutica tiene, preferiblemente, un pH de entre ≥ 3 y ≤ 9 , preferiblemente entre ≥ 4 y ≤ 8 , más preferiblemente entre ≥ 5 y ≤ 7 .

En aún otra realización preferida de la presente invención, la formulación comprende además al menos un estabilizante seleccionado del grupo que consiste en un aminoácido, un poliol de azúcar, un disacárido y/o un polisacárido.

- 20 Preferiblemente, dicho disacárido es al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa, maltosa y/o lactosa.

25 Asimismo, preferiblemente, dicho poliol de azúcar es al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en manitol y/o sorbitol. Entre estos, el manitol es un poliol de azúcar particularmente preferido. Preferiblemente, se usa como el único poliol de azúcar, o incluso el único estabilizador en la formulación farmacéutica de acuerdo con la presente invención.

Se prefiere particularmente que dicho estabilizador esté presente en una forma acuosa de la formulación farmacéutica en una concentración de entre ≥ 1 mM y ≤ 300 mM, preferiblemente entre ≥ 2 mM y ≤ 200 mM, y más preferiblemente entre ≥ 5 mM y ≤ 150 mM.

- 30 En aún otra realización preferida de la presente invención, dicha formulación comprende además al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en:

- un tensioactivo
- un agente isotonizante, y/o
- un quelante de iones metálicos.

35 Dicho tensioactivo mejora la capacidad de humectación de los componentes y respalda su solubilidad. Esto es particularmente importante porque los fármacos biofarmacéuticos a menudo se formulan en altas concentraciones (por ejemplo, >100 mg en 1-10 ml).

Los tensioactivos adecuados son, por ejemplo, lecitina y otros tensioactivos no iónicos, como polisorbatos ("Tween") o poloxámeros. Los tensioactivos particularmente preferidos son polisorbato 80 ("Tween 80") o poloxámero 188.

- 40 Dicho agente isotonizante sirve para ajustar la presión osmótica de la formulación de acuerdo con la invención a un valor fisiológicamente aceptable, por ejemplo, a la osmolaridad de la sangre.

El agente isotonizante es un compuesto fisiológicamente aceptable y no está particularmente limitado. Ejemplos típicos del agente isotonizante son, por ejemplo, una sal inorgánica tal como cloruro de sodio, cloruro de potasio o cloruro de calcio, y similares. Estos pueden usarse solos o en una mezcla de los mismos.

45 Dicho quelador de iones metálicos sirve para la formación compleja de metales pesados, que de otro modo puede inactivar el fármaco biofarmacéutico comprendido en la formulación de acuerdo con la invención. Preferiblemente, dicho quelador de iones metálicos es EDTA y/o EGTA.

50 Aunque existe una evidencia creciente de que altas cantidades de ácido cítrico pueden tener un impacto sobre la inmunogenicidad cuando se inyecta por vía subcutánea, dicha inmunogenicidad es probable que induzca y/o aumente la eliminación de un fármaco farmacéutico contenido en una composición regulada de ácido cítrico, se desea evitar una eliminación no deseada de fármacos farmacéuticos que deben estar presentes en forma activa en el cuerpo.

Como se describe en el Ejemplo 2 así como en la Figura 3 y la Tabla 4, el uso de la formulación que contiene adalimumab regulado con ácido adípico sin ácido cítrico sorprendentemente muestra una respuesta inmune insignificante cuando se inyecta por vía subcutánea. Como resultado, una formulación regulada con ácido adípico da

como resultado un nivel muy bajo de respuesta inmune, y por lo tanto hace que esta formulación sea particularmente superior para la inyección subcutánea.

- 5 Por lo tanto, en otra realización preferida, dicha formulación es una formulación adecuada para administración parenteral, preferiblemente para administración intramuscular y/o subcutánea. Es particularmente preferido que la formulación esté diseñada para la administración subcutánea.

En una realización preferida de la presente invención, dicha formulación es adecuada para mantener la integridad estructural del fármaco biofarmacéutico almacenado en el mismo en términos de agregación, potencial de protección y estabilidad tal como estabilidad termodinámica.

- 10 La siguiente tabla muestra formulaciones que comprenden un anticuerpo quimérico, humanizado o humano (formato IgG) que muestran un comportamiento de agregación superior sobre reguladores de control que comprenden un sistema de fosfato/citrato, como se divulga por ejemplo en el documento WO2012/089778 presentado por el cesionario, cuyo contenido se adjunta expresamente por referencia.

Compuesto	peso mol	[mg/mL]	Concentración de ejemplo (mM)	Concentración de ejemplo (mg/mL)
IgG quimérico, humanizado o humano		5 – 100,00		50 mg/mL
NaCl	58,4	5,0 – 7,0	105,00	6,132
Manitol	182	10,0 – 14,0	66,00	12,012
ácido adípico	146,14	1,5 – 4,0	23,00	3,36122
ácido cítrico	192,124	0 – 9,6	1,30	0,2497612
Tween 80	1,310	0,5 – 1,5	0,80	1,048
NaOH (para ajustar pH)			q.s.	
pH			5,20	

- 15 Las técnicas analíticas para medir la estabilidad de proteínas están disponibles en la técnica y se revisan, por ejemplo en Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301 (Vincent Lee ed., Nueva York, N.Y., 1991) y Jones, 1993 Adv. Drug Delivery Rev. 10:29-90. La estabilidad se puede medir a una temperatura seleccionada durante un período de tiempo seleccionado como se ejemplifica en los ejemplos proporcionados. El almacenamiento de formulaciones estables (es decir, vida útil) es preferiblemente de al menos 6 meses, más preferiblemente de 12 meses, más preferiblemente de 12 a 18 meses, y más preferiblemente de 2 o más años.
- 20 En otra realización preferida de la presente invención, dicho fármaco biofarmacéutico es una proteína. Dicha proteína puede ser una proteína natural, una proteína modificada (es decir, una proteína que ha sido modificada con respecto a su contraparte natural, también llamada armazón o plantilla) o una proteína totalmente sintética (es decir, una proteína que no tiene equivalente natural).
- 25 Dicha proteína puede aislarse de un organismo natural o puede obtenerse por fermentación de un organismo cultivado. Además, dicha proteína puede ser una proteína que es un homólogo o un heterólogo de la proteína que se ha obtenido del organismo. Además, dicha proteína puede ser una proteína recombinante.

En una realización particularmente preferida, el fármaco biofarmacéutico es una inmunoglobulina. Preferiblemente, es una IgG.

Se prefiere que la proteína y/o inmunoglobulina esté presente en una forma acuosa de la formulación farmacéutica en una concentración de entre $\geq 0,1$ y ≤ 500 mg ml⁻¹, preferiblemente entre ≥ 20 y ≤ 200 mg ml⁻¹.

- 5 El término "inmunoglobulina" se entiende que incluye, pero no se limita a, un anticuerpo y fragmento de anticuerpo (tal como scFv, Fab, Fc, F(ab')₂), y otras porciones genéticamente modificadas de anticuerpos. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, las inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes clases. Hay cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Varios de estos pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4; IgA1 e IgA2. Los dominios
- 10 constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan alfa(α) delta(δ), épsilon(ε), gamma(γ) y mu(μ), respectivamente. Las estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

Particularmente preferido de acuerdo con la presente invención, dicha inmunoglobulina es al menos un anticuerpo, o fragmento o derivado del mismo, seleccionado del grupo que consiste en:

- 15 (i) anticuerpo derivado de hibridoma
- (ii) anticuerpo quimerizado
- (iii) anticuerpo humanizado, y/o
- (iv) anticuerpo humano.

- 20 Se prefiere particularmente que dicha inmunoglobulina sea un anticuerpo monoclonal, o un fragmento o derivado del mismo.

Como se usa aquí, la expresión "anticuerpo monoclonal (mAb)" se referirá a una composición de anticuerpo que tiene una población de anticuerpos homogénea, es decir, una población homogénea que consiste en una inmunoglobulina completa o un fragmento o derivado de la misma. Particularmente preferido, tal anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en IgG, IgD, IgE, IgA y/o IgM, o un fragmento o derivado del mismo.

- 25 Como se usa aquí, el término "fragmento" se referirá a fragmentos de dicho anticuerpo que retienen, en algunos casos, capacidades de enlace al objetivo, por ejemplo:

- una CDR (región determinante de complementariedad)
- una región hipervariable,
- un dominio variable (Fv)

- 30 • una cadena pesada de IgG (que consta de las regiones VH, CH1, bisagra, CH2 y CH3)
- una cadena ligera IgG (que consta de regiones VL y CL), y/o
- un Fab y/o F(ab)₂.

- 35 Como se usa aquí, el término "derivado" se referirá a constructos de proteínas y/o inmunoglobulinas que son estructuralmente diferentes de, pero que todavía tienen alguna relación estructural con, el concepto de anticuerpo común, por ejemplo, scFv, Fab y/o F(ab)₂, así como estructuras de anticuerpos específicos bi-, tri- o superiores. Todos estos artículos se explican a continuación.

- 40 Otros derivados de anticuerpos conocidos por las personas experimentadas en la técnica son diacuerpos, anticuerpos de camélidos, anticuerpos de dominio, homodímeros bivalentes con dos cadenas que consisten en scFvs, IgAs (dos estructuras de IgG unidas por una cadena J y un componente secretor), anticuerpos de tiburón, anticuerpos que consisten de estructura de primate del nuevo mundo más CDR de primate del viejo mundo, estructuras dimerizadas que comprenden CH3+VL+VH, y conjugados de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpo o fragmentos o derivados unidos a una toxina, una citocina, un radioisótopo o una etiqueta).

- 45 Los métodos para la producción y/o selección de mAbs quiméricos, humanizados y/o humanos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, el documento US6331415 de Genentech describe la producción de anticuerpos quiméricos, mientras que el documento US6548640 del Consejo Médico de Investigación describe técnicas de injerto de CDR y el documento US5859205 de Celltech describe la producción de anticuerpos humanizados. Las bibliotecas de anticuerpos in vitro se divulgan, entre otros, en los documentos US6300064 de MorphoSys y US6248516 de MRC/Scripps/Stratagene. Las técnicas de despliegue de fago se divulgan, por ejemplo, en el documento US5223409 de Dyax. Las plataformas de mamíferos transgénicos se describen, por ejemplo, en US200302048621 por TaconicArtemis.
- 50

IgG, scFv, Fab y/o F(ab)₂ son formatos de anticuerpos bien conocidos por la persona experimentada. Las técnicas de habilitación relacionadas están disponibles en los respectivos libros de texto.

Como se usa aquí, el término "Fab" se relaciona con un fragmento de IgG que comprende la región de enlace al antígeno, estando dicho fragmento compuesto por un dominio constante y uno variable de cada cadena pesada y ligera del anticuerpo.

Como se usa aquí, el término "F(ab)₂" se relaciona con un fragmento de IgG que consiste en dos fragmentos Fab conectados entre sí mediante enlaces disulfuro.

Como se usa aquí, el término "scFv" se relaciona con un fragmento variable de cadena sencilla que es una fusión de las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulinas, unido entre sí mediante un conector corto, generalmente serina (S) o glicina (G). Esta molécula química retiene la especificidad de la inmunoglobulina original, a pesar de la eliminación de las regiones constantes y la introducción de un péptido conector.

Los formatos de anticuerpos modificados son, por ejemplo, estructuras de anticuerpos biespecíficos o trispecíficos, proteínas de fusión a base de anticuerpos, inmunoconjugados y similares.

En otra realización preferida de la presente invención, dicho anticuerpo, o fragmento o derivado del mismo, es un anticuerpo anti-TNF- α .

Un ejemplo para un anticuerpo anti-TNF- α se define mediante el listado de secuencias incluido en la solicitud internacional WO2012089778. En ella, la SEQ ID No 1 define la secuencia de ácido nucleico de codificación de la cadena pesada de IgG, la SEQ ID No 2 define la secuencia de ácido nucleico de codificación de la cadena ligera de IgG, y las SEQ ID Nos 3 y 4 definen las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera, respectivamente.

Las SEQ ID Nos 5, 7 y 9 definen las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena ligera (es decir, LC CDR 3, LC CDR 2 y LC CDR 1). Las SEQ ID Nos 6, 8 y 10 definen las secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de complementariedad de la cadena pesada (es decir, HC CDR 3, HC CDR 2 y HC CDR 1).

Se tiene en cuenta que las SEQ ID No 1 y 2, o partes de las mismas, pueden ser reemplazadas de manera equivalente por

- secuencias de ácidos nucleicos que codifican las mismas proteínas, o las cadenas de proteínas, codificadas por las SEQ ID No 1 y 2, pero tienen sustituciones de nucleótidos que son tolerables bajo la degeneración del código genético,
- secuencias que codifican una fracción, variante, homólogo o derivado de las proteínas, o las cadenas de proteínas, codificadas por las SEQ ID No 1 y 2,
- secuencias de ácido nucleico que están optimizadas por código para un huésped de expresión dado, y/o
- molécula de ácido nucleico que tiene una identidad de secuencia de al menos 70, preferiblemente 95% con cualquiera de las SEQ ID No 1 o 2.

En una realización particularmente preferida, la formulación farmacéutica o la formulación obtenible mediante el método de acuerdo con la presente invención comprende un anticuerpo que comprende (i) una secuencia de aminoácidos que es al menos 80% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID No 1 y/o la SEQ ID No 2; y/o (ii) regiones CDR que tienen secuencias de aminoácidos que son idénticas a las secuencias de aminoácidos de las regiones CDR de adalimumab.

En una realización, un anticuerpo de la invención comprende al menos una CDR de cadena pesada o ligera de una molécula de anticuerpo conocida como adalimumab. En otra realización, un anticuerpo de la invención comprende al menos dos CDRs de una o más moléculas de anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo de la invención comprende al menos tres CDRs de una o más moléculas de anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo de la invención comprende al menos cuatro CDRs de una o más moléculas de anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo de la invención comprende al menos cinco CDRs de una o más moléculas de anticuerpo. En otra realización, un anticuerpo de la invención comprende al menos seis CDRs de una o más moléculas de anticuerpo.

En otra realización, la formulación farmacéutica o la formulación obtenible mediante el método de acuerdo con la presente invención comprende un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, 85%, 90% o 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID No 1 y/o la SEQ ID No 2. En particular, dicho anticuerpo comprende, consiste esencialmente de, o consiste de una región variable de cadena ligera y/o pesada de inmunoglobulina (V_L y/o V_H), donde al menos uno de los V_L-CDRs de la región variable de cadena ligera o al menos dos de las V_L-CDRs de la región variable de cadena ligera son al menos 80%, 85%, 90% o 95% idénticas a la cadena ligera de referencia de secuencias de aminoácidos V_L-CDR1, V_L-CDR2 o V_L-CDR3 y/o V_H-CDR4, V_H-CDR5 o V_H-CDR6 de anticuerpo como se describe por las SEQ ID No 1 a 10.

Obsérvese que las SEQ ID No 3 a 10, o partes de las mismas, pueden reemplazarse de manera equivalente por secuencias de aminoácidos que llevan una o más sustituciones conservadoras de aminoácidos, es decir, una o más

sustituciones que no afectan a características proteicas significativas, como afinidad de enlace a diana, inmunogenicidad, respuesta de ADCC, vida media en suero, solubilidad, etc.

Otros anticuerpos preferidos son anticuerpos que reconocen una cualquiera o una combinación de proteínas que incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de las proteínas mencionadas anteriormente y/o los siguientes antígenos: CD2, CD3, CD4, CD8, CD11a, CD14, CD18, CD20, CD22, CD23, CD25, CD33, CD40, CD44, CD52, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD147, IL-1a, IL-1, IL-2, IL-3, IL-7, IL-4, IL-5, IL-8, IL-10, receptor IL-2, receptor IL-4, receptor IL-6, receptor IL-13, subunidades del receptor IL-18, PDGF- β y análogos de los mismos, PLGF, VEGF, TGF, TGF- β 2, TGF-p1, receptor de EGF, receptor de PLGF, receptor de VEGF, factor de crecimiento de hepatocitos, ligando de osteoprotegerina, interferón gamma, estimulador de linfocitos B, complemento C5, IgE, antígeno tumoral CA125, antígeno tumoral MUC1, antígeno PEM, ErbB2/HER-2, epítomos asociados a tumores que están presentes en niveles elevados en los sueros de pacientes, epítomos o proteínas asociados al cáncer expresados en mama, colon, células escamosas, próstata, páncreas, pulmón y/o células de cáncer de riñón y/o en melanoma, glioma, o células de neuroblastoma, el núcleo necrótico de un tumor, integrina alfa 4 beta 7, la integrina VLA-4, integrinas B2, receptores TRAIL 1,2,3 y 4, RANK, un ligando RANK, TNF- α , la molécula de adhesión VAP-1, molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM), molécula-3 de adhesión intercelular (ICAM-3), leucointegrinadhesina, glicoproteína plaquetaria gpIIb/IIIa, cadena pesada de miosina cardíaca, hormona paratiroidea, MHC I, antígeno carcinoembrionario (CEA), alfa-fetoproteína (AFP), factor de necrosis tumoral (TNF), receptor Fc- γ -1, HLA-DR 10 beta, antígeno HLA-DR, L-selectina e IFN- γ .

Alternativamente, dicho fármaco biofarmacéutico es un mimético de anticuerpo, es decir, una molécula de proteína enlazadora de objetivo no a base de inmunoglobulina. Muchas de las técnicas mencionadas anteriormente son aplicables también para estas moléculas. Dichos miméticos de anticuerpos se derivan, por ejemplo, de proteínas de repetición de anquirina, lectinas tipo C, proteínas de dominio A de *Staphylococcus aureus*, transferrinas, lipocalinas, fibronectinas, inhibidores de proteasa de dominio Kunitz, ubiquitina, nudo de cisteína, knottinas, tioredoxina A, y demás y son conocidos por la persona experimentada en la técnica a partir de la literatura respectiva.

En otra alternativa, dicho fármaco biofarmacéutico es una proteína de fusión recombinante que comprende cualquiera de las proteínas mencionadas anteriormente o proteínas sustancialmente similares. Por ejemplo, las proteínas de fusión recombinantes que comprenden una de las proteínas mencionadas más un dominio de multimerización, tal como una cremallera de leucina, un alambre en espiral, una porción Fc de un anticuerpo, o una proteína sustancialmente similar, pueden ser un fármaco biofarmacéutico compuesto por las formulaciones de la presente invención. Específicamente incluidas entre tales proteínas de fusión recombinantes hay proteínas en las que al menos una porción de TNFR o RANK está fusionada a una porción Fc de un anticuerpo. Particularmente preferidas, dichas proteínas de fusión recombinantes comprenden un dominio de enlace a objetivo y el dominio Fc de IgG (las denominadas moléculas -cept).

Dado que, por ejemplo, ciertos anticuerpos deben aplicarse subcutáneamente de forma regular, como diariamente, una vez a la semana, cada dos semanas (es decir, cada 13-15 días) y/o una vez al mes y ciertos reguladores utilizados actualmente para tal fin pueden inducir al inyectar en la piel, irritaciones locales y/o dolor y/o inducir la eliminación del anticuerpo inyectado, se desea proporcionar un método que sea eficaz en la modulación tal como la prevención, la minimización y/o la reducción de la inmunogenicidad.

Como apreciará una persona experimentada, ciertos ácidos usados como compuestos reguladores principales, tales como el ácido cítrico, tienen el inconveniente de que, tras la inyección subcutánea, inducen irritación de la piel así como dolor alrededor del lado de la inyección. Sorprendentemente, la presente invención revela por primera vez, como se muestra en los Ejemplos, que el ácido cítrico en concentraciones que oscilan desde 1,3 mM a 9,6 mM influye fuertemente en la inmunogenicidad tras la inyección subcutánea de una proteína tal como el anticuerpo adalimumab.

En una realización, la composición regulada de acuerdo con la presente invención está destinada a la preparación de un medicamento, preferiblemente para administración subcutánea o intramuscular, por ejemplo mediante inyección con jeringas precargadas o por infusión, en el caso que sea deseable una administración continua a largo plazo de un fármaco biofarmacéutico como se definió anteriormente.

Como ya se ha mencionado anteriormente y se ilustra en los ejemplos del documento WO2012/089778, la formulación regulada hexanodiónica de adalimumab es estable durante un largo período de tiempo y puede almacenarse básicamente en cualquier receptáculo adecuado. Por consiguiente, la presente invención también se relaciona con un receptáculo que contiene una de las formulaciones descritas anteriormente y/o en los Ejemplos.

Típicamente, el receptáculo es un recipiente que está destinado convencionalmente para el almacenamiento y/o administración de un fármaco biofarmacéutico, como un vial, una jeringa, un lápiz de inyección, una ampolla, un cartucho o un recipiente de infusión, en el que la formulación de acuerdo con la presente invención es particularmente ventajosa para el uso en jeringas, lápices y ampollas listas para usar. En una realización preferida, la formulación líquida está presente en la jeringa o en el lápiz a una concentración eficaz, que es, en términos de un anticuerpo anti-TNF-alfa tal como adalimumab, 40 mg en 0,8 ml.

En una realización, la presente invención se relaciona con una jeringa o lápiz precargado, un vial o una bolsa de infusión, dicha jeringa o lápiz, vial o bolsa de infusión que comprende una formulación farmacéutica o las formulaciones/suspensión y/o forma liofilizada obtenible mediante el método de acuerdo con la presente invención.

- 5 En otro aspecto más de la presente invención, se proporciona un envase primario, tal como una jeringa o lápiz precargado, un vial o una bolsa de infusión, que comprende la formulación obtenible mediante el método de acuerdo con el primer aspecto de la invención y/o la formulación de acuerdo con el segundo aspecto de la presente invención.

- 10 La jeringa o lápiz precargado puede contener la formulación ya sea en forma liofilizada (que luego debe solubilizarse, por ejemplo, con agua para inyección, antes de la administración), o en forma acuosa. Dicha jeringa o lápiz a menudo es un artículo desechable para un solo uso y puede tener un volumen entre 0,1 y 20 ml. Sin embargo, la jeringa o lápiz también pueden ser una jeringa o lápiz de múltiples usos o multidosis.

Dicho vial también puede contener la formulación en forma liofilizada o en forma acuosa y puede servir como un dispositivo de uso único o múltiple. Como un dispositivo de uso múltiple, dicho vial puede tener un volumen mayor.

Dicha bolsa de infusión normalmente contiene la formulación en forma acuosa y puede tener un volumen entre 20 y 5.000 ml.

- 15 En un aspecto adicional de la invención, la formulación farmacéutica o la formulación/suspensión y/o formulación liofilizada obtenible mediante el método y/o dicho empaque primario como se menciona anteriormente es para uso en el tratamiento de al menos una afección patológica seleccionada del grupo que consiste en:

- enfermedades autoinmunes
- enfermedades infecciosas
- 20 • enfermedades neoplásicas y/o malignas (cáncer), y
- enfermedades del sistema nervioso.

- 25 Las enfermedades autoinmunes adecuadas son las enfermedades artríticas y reumáticas, como la psoriasis, el morbus Crohn (enfermedad de Crohn) o la artritis reumatoide. Las enfermedades infecciosas adecuadas son infecciones virales y/o bacterianas. Las enfermedades neoplásicas y/o malignas adecuadas son sarcomas, carcinomas, linfomas y leucemias, preferiblemente, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de cuello uterino y similares. Las enfermedades adecuadas del sistema nervioso son, entre otras, trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Huntington o la esclerosis lateral amiotrófica.

- 30 En otros aspectos y con la misma concentración de dosificación, las formulaciones que comprenden un anticuerpo anti-TNF-alfa de acuerdo con la presente invención se pueden usar de acuerdo con la información del producto de Humira® (INN: adalimumab), en particular con respecto a la dosificación, administración e indicación médica.

- 35 Debido a que la mezcla de otros excipientes o la adopción de otras medidas preparatorias, como la filtración, la mezcla, etc., antes de la administración de la formulación del fármaco biofarmacéutico de acuerdo con la presente invención pueden omitirse ventajosamente, el fármaco biofarmacéutico de acuerdo con la presente invención puede estar preparado para la administración inmediata, por ejemplo, en un kit.

- 40 En una realización que es particularmente ventajosa para médicos, farmacéuticos y especialmente para pacientes, la presente invención por lo tanto también se refiere a un kit para la administración parenteral de la formulación que se puede obtener mediante el método de la presente invención o la formulación farmacéutica útil en el método para reducir la inmunogenicidad, que comprende uno o más de los receptáculos descritos anteriormente, preferiblemente junto con instrucciones para el almacenamiento y/o la administración.

Preferiblemente, se proporcionan 1 o 2 o 3 o 4 o 5 jeringas o lápices en el kit de acuerdo con la presente invención, opcionalmente más, como 7 jeringas o lápices, por ejemplo en el caso de que la administración diaria esté destinada a durar una semana.

- 45 Por razones de manipulación segura, el kit de acuerdo con la presente invención tiene ventajosamente compartimentos de seguridad para jeringas y para agujas de inyección y/o infusión, respectivamente. Aquí, también se deben considerar las ayudas de descarga para las agujas y las tapas de sellado preparadas o preinstaladas.

- 50 Como se describió anteriormente, las formulaciones de acuerdo con la presente invención son estables durante un largo período de tiempo, en particular a aproximadamente 5 °C, preferiblemente durante un período de al menos 4 semanas. Por lo tanto, las formulaciones, receptáculos y kits de acuerdo con la presente invención se pueden almacenar ventajosamente en un refrigerador convencional.

Estas y otras realizaciones resultantes de la presente invención están abarcadas por las reivindicaciones.

La divulgación de los documentos de la técnica anterior citados anteriormente y a continuación se incorpora en la presente solicitud por referencia, en particular con respecto a la producción de un anticuerpo anti-TNF y el regulador de ácido hexanodioico. Estas y otras realizaciones se divulgan y son evidentes para la persona experimentada en la técnica y están abarcadas por la descripción y los ejemplos de la presente invención. La literatura adicional sobre los excipientes mencionados anteriormente así como en medios electrónicos que se pueden usar de acuerdo con la presente invención se puede tomar de la técnica anterior, por ejemplo de bibliotecas públicas que usan, por ejemplo, medios electrónicos. Además, hay más bases de datos públicas disponibles fácilmente a través de Internet, como por ejemplo "PubMed".

Las técnicas para realizar la presente invención son conocidas por la persona experimentada en la técnica y pueden tomarse de la bibliografía pertinente, véase, por ejemplo, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed. por Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1989); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, volúmenes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986).

Breve descripción de las figuras

Figura 1-a: Presentación semilogarítmica de las concentraciones séricas individuales de adalimumab, después de una única administración s.c. de Humira® (individuos con respuesta relevante de ADA marcada por ciclo)

Figura 1-b: Presentación semilogarítmica de las concentraciones séricas individuales de adalimumab, después de una única administración s.c. con la versión de adalimumab del cesionario, formulada como Humira®, pero con una mayor concentración de ácido cítrico (los individuos con respuesta ADA relevante están marcados por ciclo)

Figura 1-c: Presentación semilogarítmica de las concentraciones séricas individuales de adalimumab, después de una única administración s.c. con la versión de adalimumab del cesionario, formulada con ácido adípico y con una concentración disminuida de ácido cítrico en comparación con Humira® (los individuos con una respuesta ADA relevante están marcados por ciclo)

Figura 2: Frecuencia de inmunogenicidad en el estudio No. 1. La correlación entre la concentración de ácido cítrico y la rata de inmunogenicidad en los tres grupos de este estudio

Figura 3: Frecuencia de la respuesta inmune de alto título en el estudio No. 2 para la versión de adalimumab del cesionario formulado de la misma manera que Humira®. La inmunogenicidad resultante se encuentra en el mismo orden de magnitud, es decir, la versión de adalimumab del cesionario puede generalizarse a Humira®, en este sentido

Figura 4: Incidencia de inmunogenicidad en el estudio No. 2. El perfil de respuesta inmunitaria de la formulación de ácido adípico (alto, medio, transitorio, sin respuesta) se comportó de forma estadísticamente significativa en comparación con Humira® ($p < 0,05$ para la prueba T exacta de Fisher; Pearson: 9,167 ($p = 0,02716$) para Chi cuadrado, con 3 grados de libertad y excluyendo los casos de cero ocurrencia de célula)

Ejemplos

Material y métodos

Ejemplo 1: Estudio No 1

Animales:

Un criador comercial suministró 45 conejos neozelandeses blancos de raza pura (NZW). El peso corporal estaba en el orden de tamaño de aproximadamente 3 kg y todos los animales se examinaron en signos externos de enfermedad para garantizar la inclusión de solamente individuos sanos. Los individuos fueron marcados por números tatuados.

Solicitud:

Todos los animales se dosificaron en el día 1 del estudio a través de una inyección en bolo subcutánea en la región posterior por un técnico de animales. La velocidad de inyección fue de aproximadamente 15 segundos/dosis a un volumen de administración de 0,2 ml/kg de peso corporal.

Grupos de tratamiento:

Se determinaron tres grupos de tratamiento, dos de los cuales (grupos 1 y 3) se trataron con una formulación que comprende la versión de adalimumab del destinatario, y uno de los cuales (grupo 2) que comprende Humira®.

Tabla 1: Tamaño del grupo, nivel de dosis

No. de Grupo	Tratamiento/ Formulación	Dosis [mg/kg bw]	volumen de aplicación [mL/kg bw]	Número/ género
1	fosfato/ácido cítrico	10	0,2	15f
2	Humira®	10	0,2	15f
3	ácido adípico/cítrico	10	0.2	15f

Los animales se asignan a los grupos por medio de una aleatorización generada por ordenador.

Dieta/alojamiento/agua de beber:

- 5 Se suministró a los animales ad libitum una alimentación comercial certificada (ssniff® K-H (ssniffSpezialdiäten GmbH, 59494 Soest, Alemania) y agua de beber del grifo. Y los animales se alojaron individualmente en jaulas estándar a una temperatura ambiente de aproximadamente $20\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ y una humedad relativa de $55\% \pm 15\%$. Las desviaciones a corto plazo ocurrieron durante las fases de limpieza. Las habitaciones del alojamiento estaban iluminadas (alrededor de 150 lux a aproximadamente 1,50 m de altura) en un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad.

Muestreo de sangre:

- 10 Se recogieron muestras de sangre en los siguientes puntos de tiempo: predosis, 2, 8 (día de prueba 1), 24, 40 (día de prueba 2), 48, 60 h p.a. y en los días de prueba 4, 5, 8, 15, 22, 29. La muestra se procesó a suero y se almacenó congelada a -20 °C o más fría hasta el envío y análisis de la concentración de adalimumab mediante un ELISA sándwich convencional, calificado para este propósito.

Ejemplo 2: estudio No. 2

- 15 Animales:

- 20 100 conejos machos blancos neozelandeses (NZW) de pura raza fueron suministrados por el mismo criador comercial que en el estudio No. 1. Se eligió un tamaño de grupo ligeramente mayor, $n=20/\text{grupo}$ vs. $n=15/\text{grupo}$ en el estudio No. 1 para garantizar mayor solidez de los datos resultantes. Los machos fueron seleccionados para evaluar si los hallazgos del estudio No. 1 no fueron influenciados por el género. Las características de los animales fueron las mismas, al igual que los aspectos restantes del diseño del estudio, es decir, asignación aleatoria a grupos de estudio, nivel de dosis, volumen de aplicación, dieta, condiciones de alojamiento, agua de beber y condiciones de luz, procesamiento de muestras de sangre y almacenamiento de muestras.

Grupos de tratamiento:

- 25 Se determinaron cinco grupos de tratamiento, cuatro de los cuales (grupos 2-5) se trataron con una formulación que comprendía la versión del adalimumab del destinatario, y uno de los cuales (grupo 1) que comprende Humira®.

Tabla 2: Tamaño del grupo, nivel de dosis

No. de grupo	Tratamiento/ Formulación	Dosis [mg/kg bw]	Volumen de aplicación [mL/kg bw]	Número/ género
1	Humira®	10	0,2	20m
2	fosfato/ácido cítrico	10	0,2	20m

No. de grupo	Tratamiento/ Formulación	Dosis [mg/kg bw]	Volumen de aplicación [mL/kg bw]	Número/ género
3	Ácido acético/cítrico	10	0,2	20m
4	Ácido adípico/cítrico	10	0,2	20m
5	Ácido adípico	10	0,2	20m

Muestreo de sangre:

Los puntos temporales de muestreo de sangre para el análisis de las concentraciones séricas de adalimumab y la inmunogenicidad se ampliaron ligeramente para garantizar la eliminación máxima, lo que minimiza la interferencia del fármaco con la detección de ADA. Las muestras se recolectaron en los siguientes puntos de tiempo: predosis, 2, 8 (día de prueba 1), 24, 40 (día de prueba 2), 56 horas p.a. y en los días de prueba 4, 5 y en intervalos semanales a partir de entonces, es decir, días de prueba 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78. La muestra se procesó a suero y se almacenó congelada a -20°C o más frío hasta el envío y análisis de la concentración de adalimumab y el análisis de ADA mediante ELISAs convencionales, validados para este propósito.

Resultados

La Figura 1-a ilustra el transcurso del tiempo de adalimumab en el estudio No. 1, después de una única inyección s.c. Comenzando aproximadamente una semana después de la dosificación, se produjo una marcada disminución en los niveles séricos en aproximadamente el 40% de los individuos. Dado que en esta especie se descarta la disposición del fármaco mediada por el objetivo debido a la alta especificidad del adalimumab para el TNF humano y de primates, la eliminación aumentada fue muy probablemente causada por inmunogenicidad, es decir, anticuerpos antifármacos, potencialmente con características neutralizantes/inhedoras. Tal eliminación incrementada representa una característica clave de los complejos anticuerpo-fármaco, en comparación con el fármaco, al que no está enlazado ningún anticuerpo. También el punto de tiempo de la primera aparición, es decir, después de una semana, coincide bien con esta interpretación, un efecto esperado para una proteína humana administrada a una especie animal, específicamente si se inyectó a través de una ruta en riesgo de provocar inmunogenicidad, tales como administración subcutánea.

La Figura 1-b ilustra el resultado para el tratamiento del grupo 2 en este estudio, que se dosificó con la misma cantidad de la versión de adalimumab del cesionario, formulada como Humira® aunque utilizando una concentración ligeramente más alta de ácido cítrico. En general, este cambio en la formulación no tuvo un impacto sustancial en la cinética de resorción, es decir, el punto de tiempo cuando se alcanzó la concentración sérica máxima, ni la concentración máxima en sí misma, en la cual ambos estaban en el mismo orden de tamaño. También en este segundo grupo, una fracción sustancial de animales mostró la eliminación pronunciada que indica la formación de ADA, una semana después de la dosificación. Curiosamente, incluso sin tener en cuenta a un individuo que mostró solo una eliminación transitoriamente aumentada, la fracción de animales que desarrolla una respuesta ADA pareció más alta en comparación con el grupo 1. Mientras que se sabe que el ácido cítrico causa un dolor de corta duración con la inyección subcutánea, no se ha descrito hasta ahora un papel de este componente frecuentemente utilizado para la inmunogenicidad de productos biofarmacéuticos.

El grupo 3, se estableció para probar si el componente principal del regulador de Humira®, es decir, fosfato, podría ser intercambiado por ácido adípico, sin afectar los parámetros farmacocinéticos clave y la tolerabilidad, lo cual era el caso. Se eligió el ácido adípico ya que estabiliza favorablemente el adalimumab contra la degradación y/o los procesos de agregación. Con el fin de asegurar una comparación imparcial, era esencial que los individuos respectivos fueran alojados, manipulados y dosificados de la misma manera que los grupos 1 y 2. Además del intercambio de fosfato por ácido adípico, la versión del adalimumab del cesionario se administró a una concentración de ácido cítrico, disminuido en comparación con Humira®, lo que permite potencialmente minimizar el dolor al inyectarse. Inesperadamente, no solo la mayor concentración de ácido cítrico en el grupo 2 dio como resultado una mayor incidencia de inmunogenicidad, sino que además, a una concentración disminuida de ácido cítrico se correlacionó con la menor incidencia de inmunogenicidad en este estudio (Figura 1-c).

La correlación entre la concentración de ácido cítrico y la rata de inmunogenicidad en los tres grupos de este estudio se resume en la Figura 2 y la Tabla 3.

Tabla 3: título general de ADA en el estudio No. 1

No. de grupo	Componente principal regulador*	Concentración del componente principal regulador [mM]	Ácido cítrico [mM]	Incidencia	Frecuencia
1	Fosfato	15,1	9,6	9/15	60%
2**	Fosfato	14,1	7,1	6/15	40%
3	Ácido adípico	23	1,3	5/15	30%
*Además, los reguladores comprenden los siguientes componentes adicionales [mg/mL]: NaCl 5,0-7,0; Manitol 10,0-14,0; Tween80 0,5-1,5; NaOH q.s. para ajustar el pH a 5,20 **formulación comercializada de Humira®					

Para caracterizar y confirmar mejor el hallazgo en el estudio No. 1, se realizó un segundo estudio, con un diseño que refleja esencialmente la configuración del estudio No. 1, pero el laboratorio que ejecuta la parte del estudio en vida, es decir, el alojamiento de los animales, dosificación y generación de muestra, fue diferente. Este paso se tomó para garantizar que ningún factor no controlado pueda causar incidentalmente el efecto observado del ácido adípico/ácido cítrico. Como paso adicional, se ha desarrollado un ensayo de ADA dedicado, porque esto permite demostrar directamente la modulación del sistema inmune, ya sea intencional o no. Además, tal análisis permite cuantificar la respuesta inmune, es decir, clasificarlo a un alto título/neutralizar/inhibir, un medio o simplemente una respuesta transitoria.

Centrándonos en la respuesta de título alto clínicamente más crítica, la Figura 3 y la Tabla 4 resumen el resultado de este estudio. Primero, confirmó en general la observación clave del primer estudio de que la concentración de ácido cítrico influye fuertemente en la inmunogenicidad de un fármaco reconocido por el sistema inmune, como adalimumab.

En segundo lugar, los datos muestran que si la versión de adalimumab del cesionario se formula de la misma manera que Humira®, la inmunogenicidad resultante está en el mismo orden de magnitud, es decir, la versión de adalimumab del cesionario puede generalizarse a Humira® a este respecto. Esto fue subrayado por el hecho de que también C_{max} , t_{max} y AUC fueron equivalentes en comparación con Humira®. A una mayor concentración de ácido cítrico, la inmunogenicidad de la versión del adalimumab del cesionario fue menor en comparación con una concentración de ácido cítrico ligeramente menor, pero utilizando ácido adípico como componente principal. Por un lado, esto muestra una vez más que el ácido cítrico muy probablemente desempeña un papel para la inmunogenicidad sobre una amplia gama de sistemas reguladores. La Figura 4 finalmente ilustra que el perfil de respuesta inmune de la formulación de ácido adípico (alto, medio, transitorio, sin respuesta) se comportó de manera estadísticamente significativa en comparación con Humira® ($p < 0,05$ para la prueba T exacta de Fisher; Pearson: 9,167 ($p=0,02716$) para Chi cuadrado, con 3 grados de libertad y excluyendo los casos de cero ocurrencia celular). Sin ácido cítrico, la respuesta de alto título clínicamente relevante a la formulación de ácido adípico fue insignificamente baja.

En conjunto, estos datos muestran que la respuesta inmune se puede modular seleccionando una concentración apropiada de la formulación o solución de aplicación y que, además, el uso de ácido adípico puede dar como resultado un nivel muy bajo de respuesta inmune. Esto puede ser específicamente deseable para los fármacos, con el potencial de ser reconocido por el sistema inmune.

Tabla 4: Ocurrencia de respuestas de título alto en el estudio No. 2

No. de grupo	Componente principal regulador*	Concentración del componente principal regulador [mM]	Ácido cítrico [mM]	Incidencia	Frecuencia
1**	Fosfato	14,1	7,1	9/20	45%

No. de grupo	Componente principal regulador*	Concentración del componente principal regulador [mM]	Ácido cítrico [mM]	Incidencia	Frecuencia
2	Fosfato	14,1	7,1	11/20	55%
3	Ácido acético	20,3	2,4	9/20	45%
4	Ácido adípico	23	1,4	10/20	50%
5	Ácido adípico	23	-	3/20	15%
* Además, los reguladores comprenden los siguientes componentes adicionales [mg/mL]: NaCl 5,0-7,0; Manitol 10,0-14,0; Tween80 0,5-1,5; NaOH q.s. para ajustar el pH a 5,20 ** formulación comercializada de Humira®					

Listado de secuencias

<110> Hexal AG

5 <120> Métodos y formulaciones que permiten la modulación de las respuestas inmunitarias relacionadas con la administración de un fármaco biofarmacéutico

<130> LD41071

<160> 10

<170> versión PatentIn 3,5

<210> 1

10 <211> 1413

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> secuencia de codificación anti TNFalfa IgG de cadena pesada

15 <400> 1

ES 2 688 726 T3

```

atggcctggg tctggaccct gcctttcctg atggccgctg cccagtccgt gcaggccgag      60
gtgcagctgg tgcagctctg cggcggactg gtgcagcctg gccgggccct gcggctgtcc      120
tgcgccgcct ccggcttcac cttcgacgac tacgccatgc actgggtccg ccaggcccct      180
ggcaaaggcc tgcagtgggt gtccgccatc acctggaact ccggccacat cgactacgcc      240
gactccgtgg agggccgggt caccatctcc cgggacaacg ccaagaactc cctgtacctg      300
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcaa ggtgtcctac      360
ctgtccaccg cctcctccct ggactactgg ggccaggga cctgggtcac cgtgtcctcc      420
gcctccacca agggccccc cgtgttccct ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc      480
ggcacgcggc ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc ctgagcctgt gacagtgtcc      540
tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc      600
ggcctgtact ccctgtcctc cgtcgtcaca gtgccttcc cagcctggg caccagacc      660
tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct      720
aagtcctgcg acaagacca cacctgccct ccctgccctg cccctgagct gctgggcgga      780
ccttcctgtg tcctgttccc tcctaagcct aaggacacc tgatgatctc ccggaccct      840
gaggtcacct gcgtgggtgg ggacgtgtcc cagcaggatc ctgaggtcaa gttcaattgg      900
tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgct aagaccaagc ctcggaaga gcagtacaac      960
tccacctacc ggggtggtgc cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaaa     1020
gaatacaagt gcaaggtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgagaa aacctctcc     1080
aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacacc tcctccctc ccgggacgag     1140
ctgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtcaagg gcttctaccc ttccgatatc     1200
gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg     1260
ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccgtgg      1320
cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc     1380
cagaagtccc tgtccctgag ccctggcaag tga                                  1413

```

<210> 2

<211> 705

5 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> secuencia de codificación anti TNFalfa IgG de cadena ligera

<400> 2

ES 2 688 726 T3

```

atgtccgtgc tgacccaggt gctggccctg ctgtgctgt ggctgaccgg caccagatgc      60
gacatccaga tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc      120
atcacctgcc gggcctccca gggcatccgg aactacctgg cctggtatca gcagaagcct      180
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gcctccaccc tgcagtccgg cgtgccttcc      240
cggttctccg gctccggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatctcctc cctgcagcct      300
gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacagag ccccttacac cttcggccag      360
ggcaccaagg tggagatcaa gcgtagcgtg gccgctcctt ccgtgttcat ctccctccc      420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc agcgtcgtct gcctgctgaa caactttac      480
cctcgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagagcgg caactcccag      540
gaatccgtca ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtccag caccctgacc      600
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtcac ccaccagggc      660
ctgtcctccc ccgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gctga                        705

```

<210> 3

<211> 470

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena pesada

<400> 3

```

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
1           5           10           15

```

```

Val Gln Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20           25           30

```

```

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35           40           45

```

ES 2 688 726 T3

Asp Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

ES 2 688 726 T3

290

295

300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 4

<211> 234

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena ligera

<400> 4

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

ES 2 688 726 T3

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn
100 105 110

Arg Ala Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena ligera CDR 3

<220>

<221> características_misc

<222> (9)..(9)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 5

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Xaa

1 5

$\langle 210 \rangle$ 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena pesada CDR 3

$\langle 220 \rangle$

<221> características_misc

$\langle 222 \rangle$ (12)..(12)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

$\langle 400 \rangle$ 6

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Xaa

1 **5** **10**

 $\langle 210 \rangle$ 7 $\langle 211 \rangle$ 7

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena ligera CDR 2

<400> 7

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

 $\langle 210 \rangle$ 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

 $\langle 220 \rangle$

<223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena pesada CDR 2

$\langle 400 \rangle$ 8

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena ligera CDR 1

<400> 9

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

10 <210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> secuencia de aminoácido anti TNFalfa IgG de cadena pesada CDR 1

<400> 10

Asp Tyr Ala Met His
1 5

REIVINDICACIONES

1. Un método para usar ácido hexanodióico o al menos una sal del mismo, y/o ácido cítrico o al menos una sal del mismo, para modular la inmunogenicidad de una formulación farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-TNF α .
- 5 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho método comprende disolver dicho anticuerpo anti-TNF α en un regulador que comprende al menos ácido hexanodióico o al menos una sal del mismo.
3. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, cuyo método da como resultado una reducción de la inmunogenicidad de la formulación farmacéutica.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la formulación tiene un contenido reducido, o es esencialmente libre, de ácido cítrico o una sal del mismo.
- 10 5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, cuyo método da como resultado un aumento de la inmunogenicidad de la formulación farmacéutica.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la formulación comprende ácido cítrico, o una sal del mismo.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la formulación comprende además al menos un estabilizador seleccionado del grupo que consiste en un aminoácido, un poliol de azúcar, un disacárido y/o un polisacárido.
- 15 8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicho disacárido es al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa, maltosa y/o lactosa.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en el que dicho poliol de azúcar es al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en manitol y/o sorbitol.
- 20 10. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la formulación está diseñada para administrarse por vía intramuscular o subcutánea.
11. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la formulación está diseñada para administrarse de forma no oral.

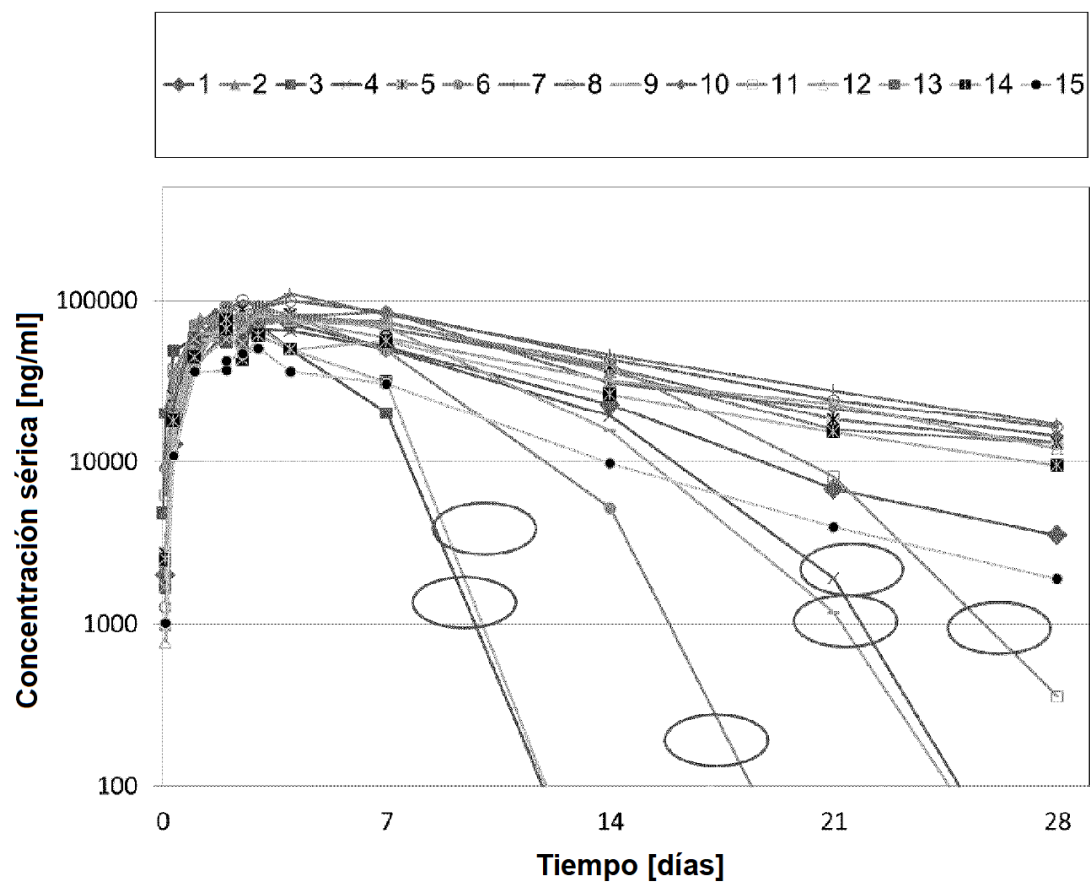


Fig. 1A

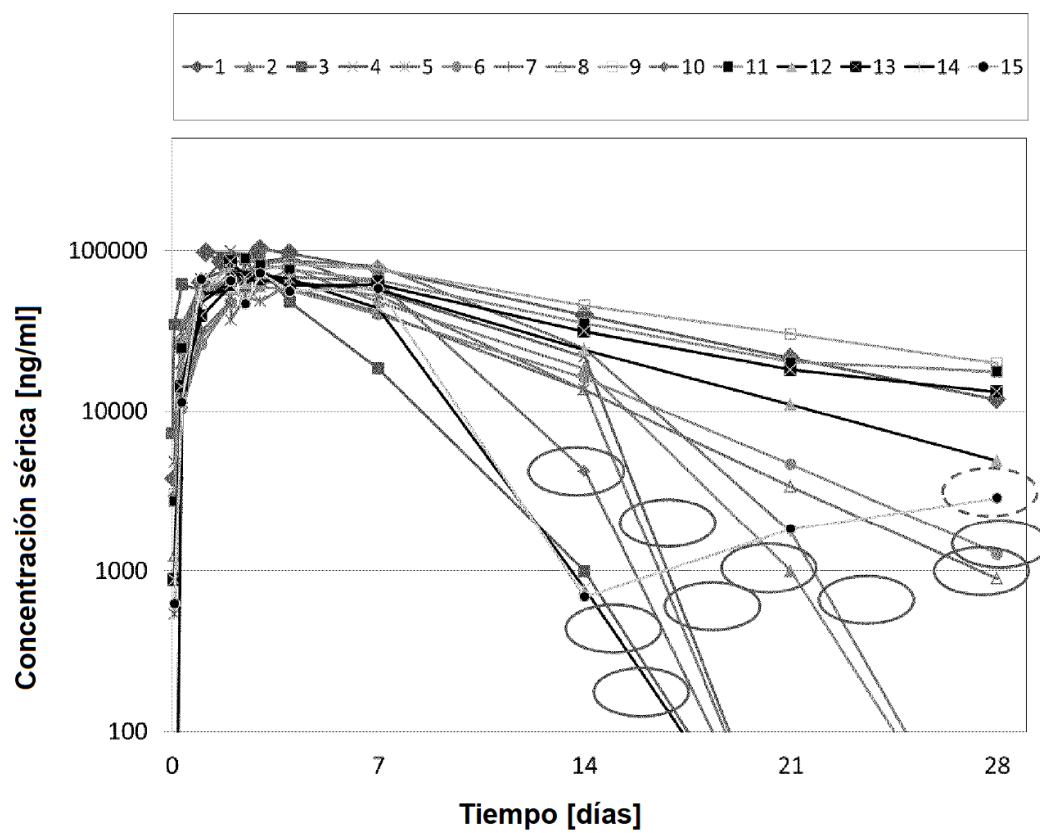


Fig. 1B

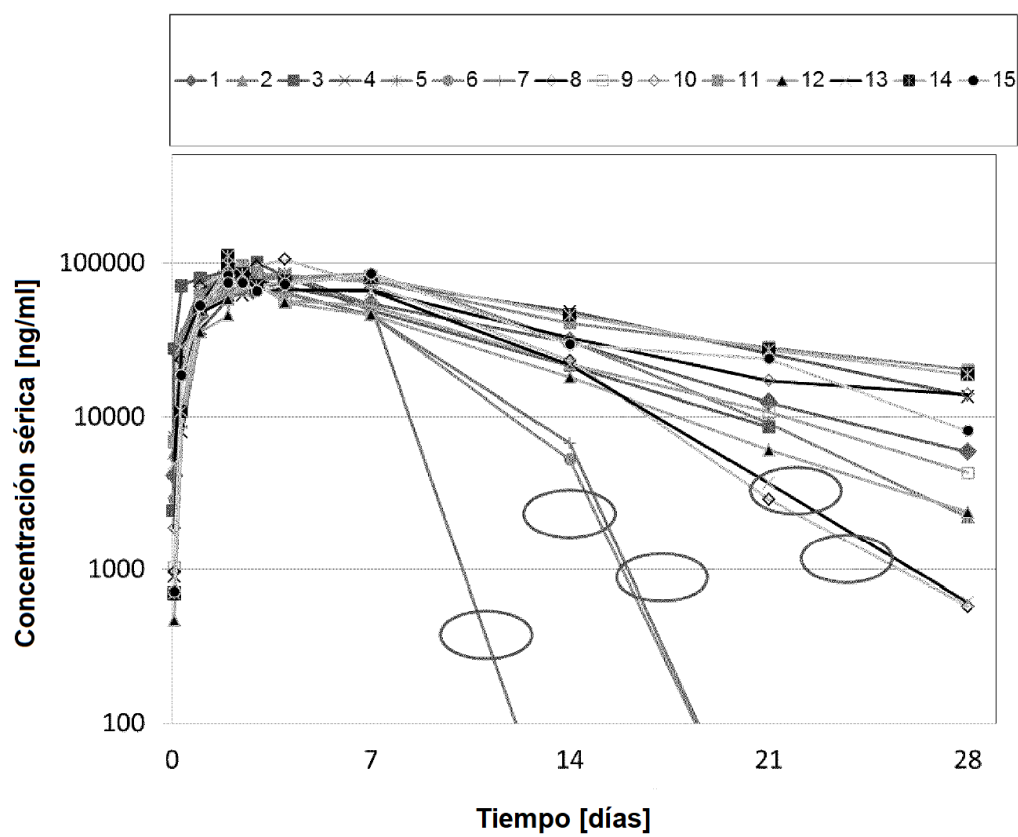


Fig.1C

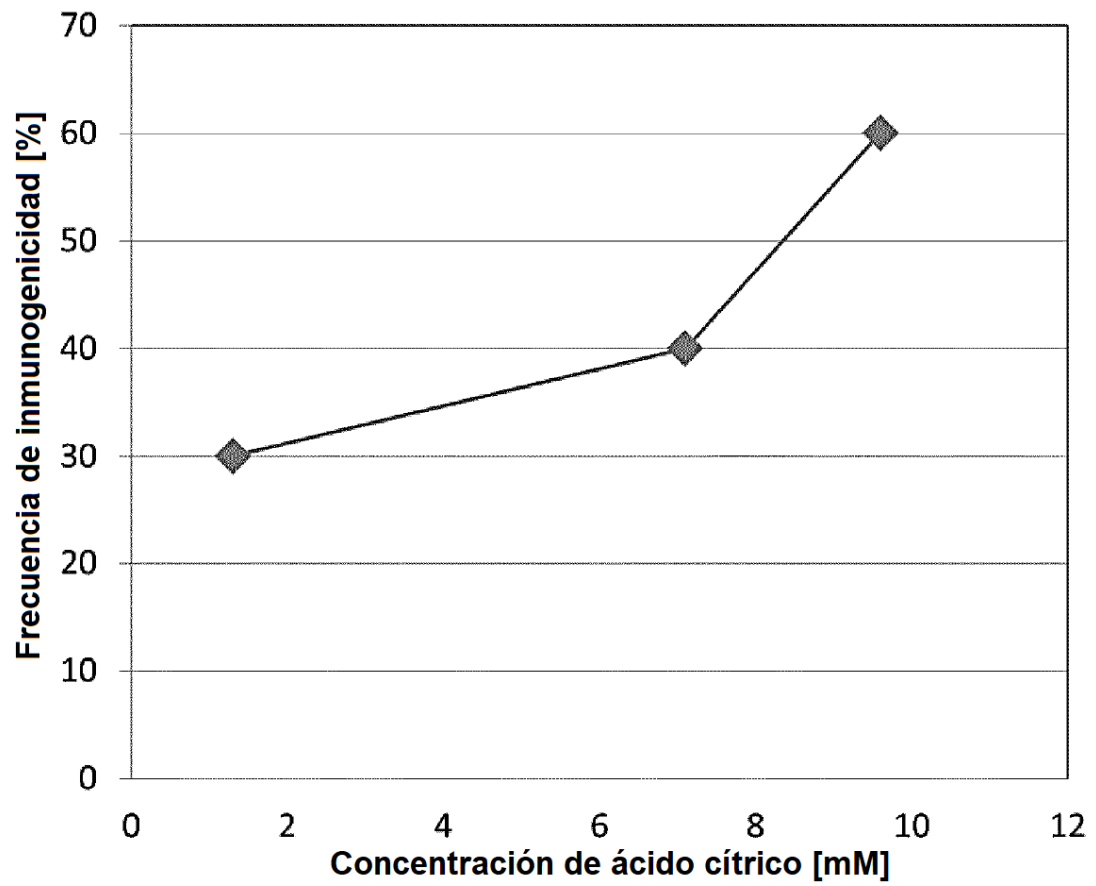


Fig. 2

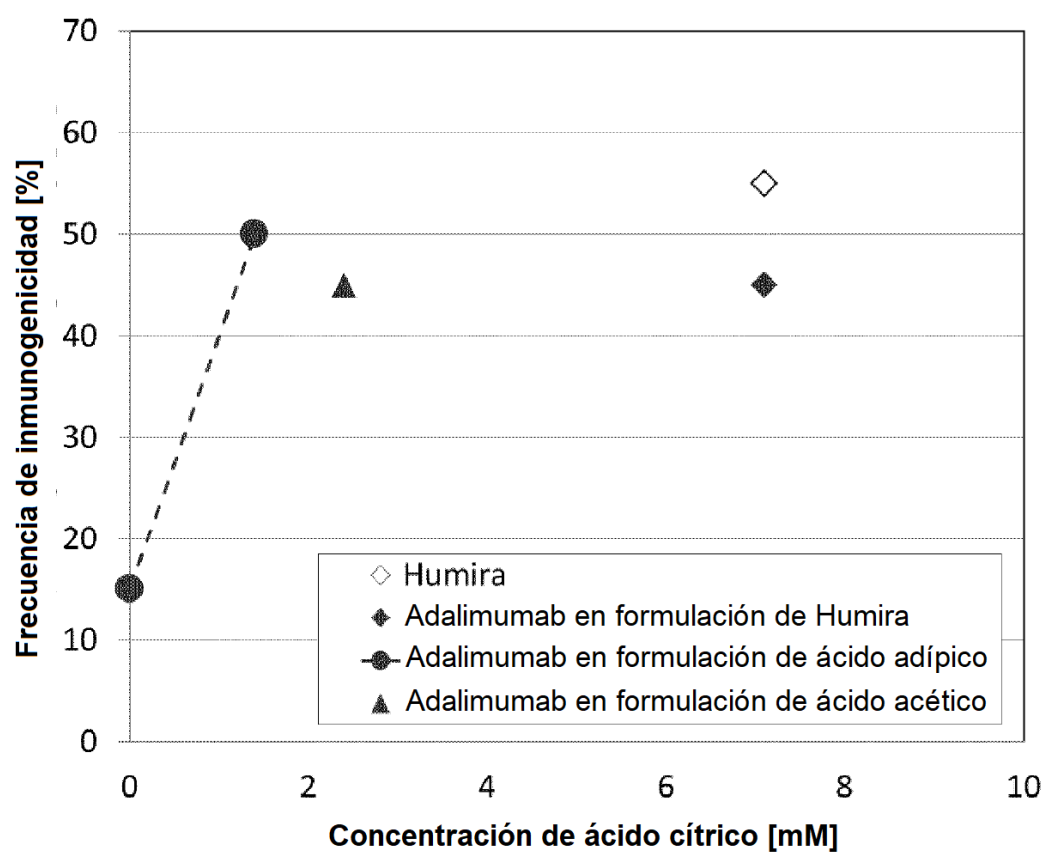


Fig. 3

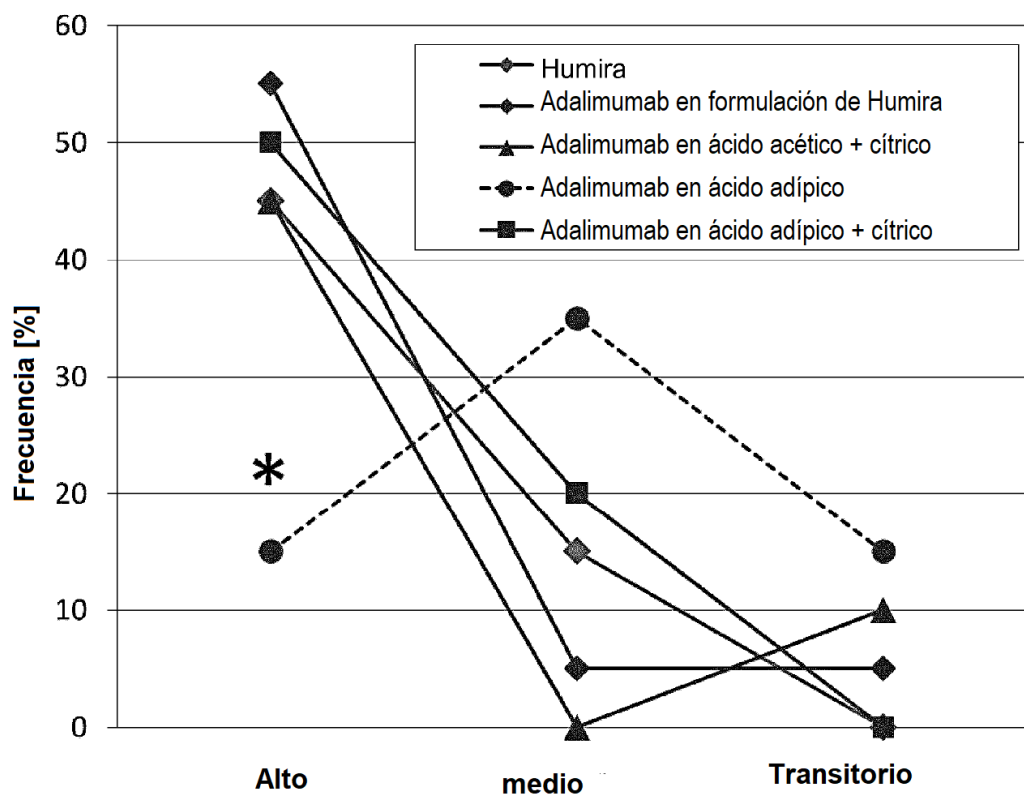


Fig. 4