

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 706 059**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/18 (2007.01)

A61K 47/26 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.05.2013 PCT/EP2013/060649**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.11.2013 WO13174936**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2013 E 13725348 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018 EP 2854760**

54 Título: **Composición farmacéutica acuosa que contiene un agente terapéutico biológico y derivado de L-arginina y una inyección que incluye la composición**

30 Prioridad:

25.05.2012 US 201261651588 P

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

27.03.2019

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**SCHMITT, DAVID y
WALLNY, HANS-JOACHIM**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 706 059 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica acuosa que contiene un agente terapéutico biológico y derivado de L-arginina y una inyección que incluye la composición.

Campo técnico de la invención.

La presente invención se refiere a una composición oftálmica acuosa, adecuada como una inyección, particularmente una inyección intravítrea, donde la composición incluye un agente terapéutico biológico que es un anticuerpo de isotipo IgG1/lambda o un anticuerpo monoclonal aislado que específicamente se une a una proteína C5, y L-arginina.

Antecedentes de la invención.

La industria farmacéutica ha estado desarrollando composiciones que incluyen agentes terapéuticos biológicos (por ejemplo, agentes biológicos tales como anticuerpos monoclonales) durante muchos años para el tratamiento de una diversidad de afecciones. Tales agentes biológicos tienden a ser moléculas relativamente grandes que son bastante adaptables para la administración oral y algunas formas de administración parenteral. Sin embargo, los agentes biológicos pueden presentar desventajas para la administración a través de la inyección, particularmente, la inyección intravítrea. Debido a su tamaño, los agentes biológicos, cuando se incluyen en composiciones acuosas, con frecuencia imparten viscosidad sustancial a dichas composiciones. A su vez, dichas composiciones pueden ser difíciles de administrar a través de dispositivos de inyección (por ejemplo, una jeringa). Sin embargo, la inyección de un agente biológico en un sitio de una enfermedad o afección es muy conveniente.

Como consecuencia, la industria farmacéutica ha dedicado sustanciales recursos para desarrollar técnicas para disminuir la viscosidad de las composiciones acuosas que incluyen un agente biológico tal como un anticuerpo monoclonal. Mientras que la industria ha sido exitosa en cuanto a sus esfuerzos para disminuir la viscosidad de muchas composiciones acuosas que contienen agentes biológicos, formar una composición adecuada para inyección, particularmente inyección intravítrea, puede ser particularmente difícil. Para una inyección intravítrea en particular, es típicamente conveniente usar una aguja de muy pequeño calibre (es decir, típicamente por lo menos calibre 28 y más típicamente por lo menos calibre 30) para evitar dañar el ojo. Sin embargo, empujar una composición viscosa a través de dicha aguja pequeña resulta particularmente no conveniente, dado que puede ser difícil para los médicos determinar la cantidad correcta de fuerza que se usa para administrar la composición en una proporción deseada.

Las inyecciones intravítreas son particularmente convenientes para tratar enfermedades de la retina tales como degeneración macular relacionada con la edad (AMD, según sus siglas en inglés), dado que un dispositivo de inyección (por ejemplo, una jeringa con una aguja) se usa típicamente para colocar las inyecciones en el humor vítreo más cercano a la retina, que se encuentra en la parte posterior del ojo. Recientemente, se ha descubierto que un anticuerpo monoclonal de isotipo IgG1/lambda es capaz de lentificar el avance de la degeneración macular relacionada con la edad (AMD), ver Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nro. 20100034809. Desafortunadamente, el anticuerpo monoclonal isotipo IgG1/lambda, como muchos de tales anticuerpos, tiende a elevar significativamente la viscosidad de las composiciones acuosas, de modo de dificultar la administración como una inyección intravítrea.

El documento WO 2011/084750 divulga: una formulación acuosa que comprende 100 mg/ml del anticuerpo anti-VEGF bevacizumab y 25, 50 o 100 mM de acetato de arginina. El documento WO 2011/084750 también divulga: una formulación acuosa que comprende un fragmento F(ab')₂ en una concentración de 75-125 mg/ml; 25, 50, 75 o 100 mM de acetato de arginina; polisorbato 20. Un mecanismo para disminuir la viscosidad de una composición acuosa que contiene anticuerpos monoclonales es incluir alguna cantidad de uno o más compuestos químicos seleccionados capaces de producir una reducción de la viscosidad. Se ha encontrado que arginina, particularmente L-arginina, es particularmente eficaz para disminuir la viscosidad de composiciones acuosas. Sin embargo, se ha sugerido que la arginina, particularmente L-arginina, puede ser tóxica para el ojo y otros tejidos humanos. Ver: *Retinal Toxicity of Commercial Intravitreal Tissue Plasminogen Activator Solution in Cat Eyes*, Charles J Hrach, MD; Mark W. Johnson, MD; Adam S. Hassan, MD; Bo Lei, MD; Paul A. Sieving, MD, PhD; Victor M. Elner MD, PhD, *Arch Ophthalmol.* 2000;118:659-663; y *Retinal Toxicity of Recombinant Tissue Plasminogen Activator in the Rabbit*, Mark W. Johnson, MD; Karl R. Olsen, MD; Eleut Hernandez; W. David Irvine, MD; Robert N. Johnson, MD, *Arch Ophthalmol.* 1990;108(2): 259-263. En consecuencia, la comunidad farmacéutica, particularmente la comunidad oftálmica, ha evitado el uso de compuestos tales como arginina, particularmente L-arginina, en composiciones oftálmicas para disminuir la viscosidad.

Inesperadamente, sin embargo, los inventores de la composición de la presente invención han descubierto que un grupo de compuestos y particularmente arginina se pueden usar en concentraciones relativamente bajas para disminuir la viscosidad de composiciones acuosas que contienen agentes biológicos particulares tales como anticuerpos monoclonales, particularmente anticuerpos monoclonales del isotipo IgG1/lambda. Además, se ha descubierto que la viscosidad se puede disminuir lo suficiente como para ser adecuada para inyección y aún adecuada para inyección intravítrea, sin dañar la retina u otros tejidos oculares.

Síntesis de la invención.

5 El alcance de la invención es definido por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los productos de la presente invención para el uso en un método de tratamiento.

En consecuencia, la presente invención se dirige a una composición oftálmica acuosa adecuada para inyección, que comprende:

- 10 un anticuerpo isotipo IgG1/lambda o un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5 en una concentración de 100 mg/ml;
- un estabilizador en una concentración de 120 mM;
- L-arginina en una concentración de 50 mM;
- 15 histidina en una concentración de 10 mM;
- un tensioactivo en una concentración de 0,01% p/p;
- con un pH ajustado a 5,5.

la composición tiene una viscosidad que no es mayor que 0,01 Pa*s (10 cp) y más preferiblemente no mayor que 0,007 Pa*s (7 cp).

20 La composición es particularmente conveniente como una composición oftálmica acuosa adecuada para inyección intravítrea. La composición incluye un estabilizador tal como trehalosa.

25 El agente terapéutico biológico es un agente biológico que es un anticuerpo isotipo IgG1/lambda y/o un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5.

30 La composición, cuando contiene el agente biológico en una concentración de 100 mg/ml, presenta una viscosidad que es por lo menos 0,003 Pa*s (3 cp), más típicamente por lo menos 0,005 Pa*s (5 cp), aún más típicamente por lo menos 0,007 Pa*s (7 cp) mayor que una viscosidad de una composición sustancialmente idéntica que no contiene el agente biológico.

35 La composición, cuando contiene L-arginina en una concentración de 50 mm, típicamente presentará una viscosidad que es por lo menos 0,003 Pa*s (3 cp), más típicamente por lo menos 0,005 Pa*s (5 cp), aún más típicamente por lo menos 0,007 Pa*s (7 cp) menor que una viscosidad de una composición sustancialmente idéntica que no contiene la guanidina y/o derivado de guanidina.

40 El agente terapéutico biológico tiene un peso molecular que es por lo menos 25.000 Daltones, más típicamente por lo menos 50.000 Daltones y hasta posiblemente por lo menos 75.000 Daltones, pero no mayor que 500.000 Daltones, más típicamente no mayor que 200.000 Daltones y hasta posiblemente no mayor que 125.000 Daltones.

45 Esta invención también se refiere a un dispositivo de inyección que contiene una composición acuosa como en cualquiera de las realizaciones que se describen en el presente documento. El dispositivo de inyección incluye una cámara que define un espacio de contención y una aguja que define un túnel y donde el túnel se encuentra en comunicación fluida con el espacio de contención, y donde la aguja tiene un calibre de por lo menos 25. La composición acuosa de cualquiera de las reivindicaciones descriptas en la presente solicitud se dispone en el espacio de contención de la cámara. La composición en el espacio de contención preferentemente tiene un volumen que es por lo menos 10 mililitros (ml), más típicamente por lo menos 16 ml y aún más típicamente por lo menos 18 ml, pero es típicamente no mayor de 30 ml, más típicamente no mayor de 24 ml y aún más típicamente no mayor de 22 ml.

50 La presente invención también se refiere a un método para inyectar una composición farmacéutica acuosa de cualquiera de las realizaciones que se describen en la presente solicitud. El método incluye los pasos de:

- 55 proporcionar la inyección tal como se describe en la presente documento;
- perforar tejido biológico de un objetivo biológico con la aguja; e
- inyectar la composición dentro del objetivo biológico.

60 Preferentemente, el tejido biológico es la córnea, la esclerótica, la conjuntiva o una combinación de las mismas, el objetivo biológico es el ojo, y el paso de inyectar la composición incluye inyectar la composición dentro del humor vítreo del ojo.

Breve descripción de los dibujos.

La Fig. 1 es un cuadro que muestra el agregado de un agente biológico en diversas composiciones diferentes.

Descripción detallada de la invención.

La presente invención se predica luego de la formación de una composición oftálmica, que es adecuada para inyección en un mamífero, particularmente un cuerpo humano, y preferentemente adecuada para inyección vítrea dentro del humor vítreo del ojo de un mamífero, particularmente el ojo humano. En un sentido estrecho, la invención involucra el descubrimiento de que bajas concentraciones de L-arginina no presentan toxicidad significativa alguna para el ojo, al mismo tiempo que mantienen la capacidad de disminuir de manera suficiente la viscosidad de una composición acuosa que contiene anticuerpo monoclonal de isotipo IgG1/lambda, por lo tanto, haciendo que esa composición acuosa sea adecuada para inyección intravítrea. Las composiciones de la presente invención que contienen el agente biológico en una concentración de 100 mg/ml típicamente exhibirán una viscosidad que es por lo menos 0,003 Pa*s (3 cp), más típicamente por lo menos 0,005 Pa*s (5 cp), aún más típicamente por lo menos 0,007 Pa*s (7 cp) mayor que una viscosidad de una composición sustancialmente idéntica que no contiene el agente biológico. Tal como se utiliza en la presente solicitud, una composición sustancialmente idéntica que no contiene el agente biológico es una composición que tiene exactamente las mismas concentraciones de cada uno de los excipientes de la composición de la presente invención con la excepción de que el agente biológico no está presente. Para esta definición de composición sustancialmente idéntica, el agua no se considera un excipiente, pero está presente en la composición sustancialmente idéntica en una cantidad suficiente de modo que los excipientes están en concentraciones adecuadas. El Ejemplo 2 de los ejemplos presentados a continuación ilustra dicha composición sustancialmente idéntica. Además, las composiciones que contienen solamente el agente biológico en estas concentraciones en agua, y particularmente en una concentración de 100 mg/ml, típicamente tendrán una viscosidad que es por lo menos 0,01 Pa*s (10 cp), más típicamente por lo menos 0,015 Pa*s (15 cp) e incluso posiblemente por lo menos 0,02 Pa*s (20 cp) o incluso 0,022 Pa*s (22 cp).

A menos que se establezca específicamente de otra manera, la viscosidad de cualquier composición analizada en la presente memoria se determina a una temperatura de 20° C y una tasa de corte de 1029 s⁻¹ con un cono del husillo de geometría 0,5°/40 mm.

El agente biológico de la presente invención típicamente tiene un peso molecular que es por lo menos 25.000 Daltones, más típicamente por lo menos 50.000 Daltones e incluso posiblemente por lo menos 75.000 Daltones. El agente biológico de la presente invención también típicamente tiene un peso molecular que no es mayor de 500.000 Daltones, más típicamente no mayor de 280.000 Daltones e incluso posiblemente no mayor de 175.000 Daltones.

En una realización preferida, el agente biológico es una molécula de unión a C5 de complemento aislada (por ejemplo, anticuerpo de unión a C5). El agente biológico puede ser un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5, donde dicho anticuerpo tiene una constante de afinidad (K_A) de por lo menos 1×10⁷ M⁻¹, 10⁸ M⁻¹, 10⁹ M⁻¹, 10¹⁰ M⁻¹, o 10¹¹ M⁻¹. Adicional o alternativamente, el agente biológico puede ser un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5 e inhibe la vía completa alternativa según se mide mediante ensayo hemolítico in vitro con un rango IC₅₀ de aproximadamente 20 pM a aproximadamente 200 pM.

En una realización preferida, el anticuerpo de la invención es un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5. El anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal humano o humanizado aislado que se une específicamente a una proteína C5. El anticuerpo puede ser adicional o alternativamente ser un anticuerpo quimérico aislado que se une específicamente a una proteína C5. Como una característica adicional o alternativa adicional, el anticuerpo puede comprender una región constante de cadena pesada humana y una región constante de cadena liviana humana.

Preferentemente, el anticuerpo monoclonal que se une específicamente a C5 es un isotipo IgG.

También se contempla que el anticuerpo aislado puede comprender un marco en donde los aminoácidos han sido sustituidos en el marco del anticuerpo a partir de secuencias de línea germinal humana VH o VL respectivas.

Los ejemplos de anticuerpos monoclonales que se desean o sus fragmentos de unión a antígeno que se unen específicamente a una proteína C5 se revelan en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nro. 20100034809.

Se ha sugerido que arginina y compuestos similares a arginina pueden ser tóxicos. Sin embargo, ventajosamente se ha encontrado que niveles bajos de arginina presentan toxicidad sustancialmente menor, e incluso, no tienen toxicidad sustancial. Se ha encontrado específicamente que concentraciones más bajas de arginina no producen daño a células fotorreceptoras del ojo de un conejo, mientras que las más altas concentraciones (por ejemplo, aproximadamente 150 mM) han mostrado daño a células fotorreceptoras. Como tal, la L-arginina está presente en la composición en una concentración que es 50.

Convenientemente, L-arginina, incluso en la baja concentración citada con anterioridad, puede sustancialmente reducir la viscosidad de la composición producida por la inclusión del agente biológico dentro de la

composición. Las composiciones de la presente invención que contienen L-arginina en una concentración de 50 mm típicamente presentarán una viscosidad que es por lo menos 0,003 Pa*s (3 cp), más típicamente por lo menos 0,005 Pa*s (5 cp), aún más típicamente por lo menos 0,007 Pa*s (7 cp) menor que la viscosidad de una composición sustancialmente idéntica que no contiene L-arginina. Tal como se utiliza en la presente memoria, una composición sustancialmente idéntica que no contiene L-arginina es una composición que tiene exactamente las mismas concentraciones de cada uno de los excipientes y el agente biológico de la composición de la presente invención, con la excepción de que la guanidina o derivado de guanidina no está presente. Para esta definición de composición sustancialmente idéntica, el agua no se considera un excipiente, pero está presente en la composición sustancialmente idéntica en una cantidad suficiente de modo que los excipientes y el agente biológico estén en concentraciones adecuadas. El Ejemplo 3 de los ejemplos presentados a continuación ilustra dicha composición sustancialmente idéntica.

La composición de la presente invención también típicamente incluirá un agente estabilizador de proteína. Los ejemplos de agentes estabilizadores de proteína potenciales incluyen, sin limitación, manitol, cloruro de sodio, glicina y trehalosa. El agente estabilizador de proteína está presente en la composición en una concentración que es de 120.

La composición de la presente invención también incluye un tensioactivo. El tensioactivo puede incluir tensioactivo no iónico, aniónico, catiónico o anfótero o zwitteriónico o una combinación de dichos tensioactivos. Los ejemplos de tensioactivo potencialmente adecuados incluyen, sin limitación, éteres de alcoholes grasos y/o alquilo éteres de polioxietileno, por ej., éteres de macrogol tales como cetomacrogol 1000, derivados de aceite de ricino de polioxietileno, ésteres de ácido graso de sorbitán y polioxietileno, por ej., el comercialmente disponible Tweens®, estearatos de polioxietileno, polisorbatos, polaxámeros, ciclodextrinas, combinaciones de los mismos o similares. Polisorbato 20 es un tensioactivo particularmente preferido. El tensioactivo está presente en la composición en una concentración que es 0,001% p/v.

La composición de la presente invención también incluye un agente tampón (buffer), que es histidina. El agente tampón está presente en la composición en una concentración que es de 10 mM.

Ingredientes adicionales.

Diversos ingredientes adicionales se pueden incluir en la composición de la presente invención. La composición de la presente invención es acuosa y típicamente incluye una cantidad sustancial (por ej., por lo menos 60 o 90% p/v) de agua.

Como una ventaja particular de la presente invención, se ha encontrado que L-arginina puede reducir la agregación del agente biológico, particularmente, la agregación de un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5. También se ha encontrado ventajosamente que la L-arginina y el agente biológico (por ej., un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5) se pueden combinar en una composición de la presente invención para disminuir sustancialmente la viscosidad de la composición, particularmente con pH menor. La viscosidad de la composición es típicamente por lo menos 0,002 Pa*s (2 cp), más típicamente por lo menos 0,003 Pa*s (3 cp) y aún más típicamente por lo menos 0,004 Pa*s (4 cp).

La viscosidad de la composición es también típicamente no mayor de 0,01 Pa*s (10 cp), más típicamente no mayor de 0,0075 Pa*s (7,5 cp) y aún más típicamente no mayor de 0,006 Pa*s (6 cp) o incluso 0,0055 Pa*s (5,5 cp).

El pH de la composición es 5,5. La viscosidad de la composición es también típicamente no mayor de 0,008 Pa*s (8 cp), más típicamente no mayor de 0,0065 Pa*s (6,5 cp) y aún más típicamente no mayor de 0,0059 Pa*s (5,9 cp) o incluso 0,0057 Pa*s (5,7 cp).

Al proporcionar dicha viscosidad disminuida, la composición se puede administrar más fácilmente mediante un dispositivo de inyección y particularmente a través de una aguja de calibre relativamente pequeño. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "aguja de calibre pequeño" se refiere a cualquier miembro tubular elongado diseñado para penetrar y ser insertado a través del tejido biológico como piel o tejido ocular (por ejemplo, cornea, esclerótica y/o tejido conjuntival). Además, el término "calibre", tal como se usa en la presente memoria, quiere decir proporcionar referencias de diámetros interno y externo del sistema de calibre numérico común usado para agujas de jeringas. Ventajosamente, las composiciones de la presente invención se pueden inyectar a través de agujas de pequeño calibre que tienen un calibre que es por lo menos 27, más típicamente por lo menos 28, aún más típicamente por lo menos 29 o 30 e incluso posiblemente por lo menos 31. Como una ventaja adicional, la capacidad de usar dichas agujas de calibre pequeño permite la inyección intravítrea más conveniente de la composición de la presente invención para el tratamiento de enfermedades retinianas tales como degeneración macular relacionada con la edad.

Por lo tanto, la presente invención se dirige además a métodos para tratar enfermedades. Por consiguiente, se proporciona un dispositivo de inyección (por ejemplo, una jeringa) que tiene una cámara que define un espacio de contención que está en comunicación fluida con un túnel de una aguja de calibre pequeño. El espacio de contención

se carga o de otro modo se llena con la composición de la presente invención. El dispositivo de inyección luego se puede usar para administrar la composición a un objetivo biológico. Preferentemente, la aguja de calibre pequeño se usa para perforar el tejido del objetivo biológico seguido de la inyección de la composición al objetivo. Tal como se sugiere, la composición permite la inyección particularmente adecuada al ojo. Por lo tanto, en una realización preferida el objetivo biológico es el ojo, el tejido perforado por la aguja es la cornea, la conjuntiva, la esclerótica o una combinación de las anteriores, y la composición es inyección dentro del humor vítreo del ojo.

El volumen de la inyección es típicamente por lo menos 10 microlitros (μl), más típicamente por lo menos 35 μl y aún más típicamente por lo menos 45 μl . El volumen de la inyección es también típicamente no mayor de 100 μl , más típicamente no mayor de 75 μl y aún más típicamente no mayor de 60 μl .

Además, cuando se da una cantidad, concentración, u otro valor o parámetro tanto como un rango, rango preferido, o una lista de valores preferibles superiores y valores preferibles inferiores, esto debe entenderse como específicamente que revelan todos los rangos formados a partir de cualquier límite o valor preferido de rango superior y cualquier límite o valor preferido de rango inferior, independientemente de si los rangos se revelan separadamente. Cuando un rango de valores numéricos se enumera en la presente solicitud, a menos que se indique lo contrario, el rango pretende incluir sus extremos, y todos los números enteros y fracciones dentro del rango. No es intención que el alcance de la invención sea limitado a los valores específicos enumerados cuando se define un rango.

EJEMPLOS.

Ejemplo 1.

La Tabla 1 anterior es una formulación para una emulsión ejemplar de acuerdo con la presente invención.

Tabla 1.

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN
Agente biológico (por ej., un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5)	100 mg/ml
Estabilizador (por ej., trehalosa)	120 mm
Guanidina y/o derivado de guanidina (por ej., L-arginina)	50 mm
Histidina	10 mm
Tensioactivo	0,01% p/p
Hidróxido de Sodio	Ajustar pH a 5,5
Ácido Clorhídrico	Ajustar pH a 5,5
Agua Purificada	CS 100

Se entiende que las concentraciones en la Tabla 1 puede ser variadas por $\pm 10\%$, $\pm 20\%$, $\pm 30\%$, $\pm 90\%$ de aquellas concentraciones o más, y que esas variaciones pueden usarse específicamente para crear rangos para los ingredientes de la composición de la presente invención. Por ejemplo, un ingrediente en una concentración de 10 mm con una variación de $\pm 20\%$ quiere decir que el ingrediente puede tener un rango de concentración de 8 a 12 mm.

Ejemplo 2.

Tal como se analizó con anterioridad, las composiciones de la presente invención que contienen un agente biológico en concentraciones particulares presentarán una viscosidad que es mayor que una viscosidad de una composición sustancialmente idéntica que no contiene el agente biológico. Con fines de ejemplificación, la Tabla 2 debajo muestra una composición de acuerdo con la presente invención y una composición sustancialmente idéntica que no contiene el agente biológico.

Tabla 2.

Ingredientes	Formulación de la Invención	Formulación Sustancialmente Idéntica
Agente biológico	100 mg/ml	0,000 mg/ml
Arginina	10,5 mg/ml	10,5 mg/ml
Polisorbato	0,1 mg/ml	0,1 mg/ml
NaOH	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml
Trehalosa	45,4 mg/ml	45,4 mg/ml
agua	c.s.p. 1 ml	c.s.p. 1 ml

Ejemplo 3.

5 Tal como se analizó con anterioridad, las composiciones de la presente invención que contienen una guanidina y/o un derivado de guanidina en concentraciones particulares presentarán una viscosidad que es menor que una viscosidad de una composición sustancialmente idéntica que no contiene la guanidina y/o el derivado de guanidina. Con fines de ejemplificación, la Tabla 3 debajo muestra una composición de acuerdo con la presente invención y una composición sustancialmente idéntica que no contiene la guanidina y/o el derivado de guanidina.

Tabla 3.

Ingredientes	Formulación de la invención	Formulación sustancialmente Idéntica
Agente biológico	100 mg/ml	100 mg/ml
Arginina	10,5 mg/ml	0,0 mg/ml
Polisorbato	0,1 mg/ml	0,1 mg/ml
NaOH	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml
Trehalosa	45,4 mg/ml	45,4 mg/ml
Agua	c.s.p. 1 ml	c.s.p. 1 ml

Ejemplo 4.

15 La Tabla 4 debajo se proporciona para ilustrar el efecto de concentraciones relativamente bajas de la guanidina y/o el derivado de guanidina, L-arginina, sobre formulación que contiene un agente biológico de acuerdo con la presente invención. El agente biológico particular en las formulaciones 1 a la 13 de la Tabla 4 es un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una proteína C5.

Formulación	Tampón de Histidina (mm)	Estabilizador	Estabilizador conc. (mm)	Arginina adicional conc. (mm)	Polisorbato (20%)	Color	pH Medido	Viscosidad (mPas)	Osmolaridad (mOsm/kg)
01	10	Trehalosa	170	-	0,01	Incoloro	5,5	13,1	247
02	10	Arginina	150	-	0,01	Incoloro	5,4	3,2	305
03	10	Trehalosa	120	50	0,01	Incoloro	5,5	5,1	274
04	10	Trehalosa	170	-	0	Incoloro	5,4	10,6	257
05	10	Arginina	150	-	0	Incoloro	5,5	3,5	308
06	10	Trehalosa	120	50	0	Incoloro	5,5	5,3	280
07	20	Trehalosa	170	-	0,01	Incoloro	5,5	11,9	278

Tal como se puede ver, incluso concentraciones relativamente bajas de arginina pueden disminuir significativamente la viscosidad de las composiciones que contienen el agente biológico. Tal como se sugiere, guanidina y/o derivado de guanidina y particularmente arginina puede disminuir la agregación del agente biológico. Con referencia a la Fig. 1, se puede observar que las formulaciones con arginina (es decir, formulaciones 2, 3, 5, 6, 9, 10, 12 y 13) presentan agregación significativamente reducida. Para la Fig. 1, t=0 es tiempo igual a cero, agitación es medición después de agitar, C/D es medición después de ciclo de congelar/descongelar, y 40°C 6 s es medición después de seis semanas de almacenamiento a 40° C.

Datos Comparativos.

La Tabla 5 debajo presenta datos comparativos que muestran la capacidad de guanidina y derivados de guanidina de reducir la viscosidad del agente biológico en relación con la capacidad de otras entidades químicas que han sido usadas en el arte previo para reducir viscosidad.

Tabla 5.

ID de Muestra	LFG316	Tampón / Excipiente	Turbidez (75M)	Viscosidad (mPas)
DS / Formulaciones activas				
Fórmula 1	100 mg/ml	Histidina 10mM, PS20 0,01%(p/v), Trehalosa 170mM	22,3	19,77
Fórmula 2	100 mg/ml	Histidina 10mM, PS20 0,01%(p/v), Arginina 150mM	30,8	3,64
Fórmula 3	100 mg/ml	Histidina 10mM, PS20 0,01%(p/v), Guanidina 150mM	43,4	3,80
Fórmula 4	100 mg/ml	Histidina 10mM, PS20 0,01%(p/v), Urea 150mm	24,6	14,98
Fórmula 5	100 mg/ml	Histidina 10mM, PS20 0,01%(p/v), Taurina 150mM	22,6	14,95

Tal como se puede observar, arginina y guanidina fueron mucho más superiores en la reducción de la viscosidad del agente biológico (es decir, un anticuerpo monoclonal isotipo IgG1/lambda) en relación con trehalosa, urea y taurina.

Datos de Toxicidad.

Se realizó un estudio para determinar la toxicidad de un tampón de formulación que contenía Arginina luego de la administración intravítrea al conejo Blanco de Nueva Zelanda durante 4 semanas. Se inyectaron tres tampones en volúmenes de 50 µl y que variaron en las concentraciones de Arginina, de manera intravítrea sobre una base semanal durante 3 semanas (es decir, tres dosis) y se evaluaron para determinar la toxicidad. Los tres tampones fueron de la siguiente manera: (1) 10 mm Histidina, 170 mm, Trehalosa, 0,01% polisorbato 20, pH 5,5; (2) 50 mm Arginina, 10 mm, Histidina, 120 mm Trehalosa, 0,01% polisorbato 20, pH 5,5; y (3) 150 mm Arginina, 10 mm Histidina, 0,01% polisorbato). El tampón que contenía 150mm Arginina mostró degeneración/atrofia de la retina, tanto bilateral como unilateralmente en 4 de 6 animales. Cambios mínimos se caracterizaron mediante una pérdida focal a multifocal de la capa de fotorreceptores mientras que en casos más severos, otras capas fueron afectadas, de modo de producir la atrofia de la retina. La administración intravítrea del tampón que contenía 50 mm arginina fue muy bien tolerada y no dio indicios de toxicidad ocular.

Se realizó un estudio en donde la formulación siguiente: un anticuerpo, 50 mm Arginina; 10 mm Histidina; 120 mm Trehalosa; 0,01% polisorbato 20, pH 5,5, se administró de manera intravítrea a monos macacos durante al menos 26 semanas. La formulación se administró en ambos ojos (50 µl/ojo) una vez cada dos semanas durante 26 semanas (14 dosis). Sobre la base de los resultados de este estudio, la administración intravítrea de la formulación en dosificaciones repetidas hasta 5 mg/ojo al macaco fue muy bien tolerada y no dio indicio de toxicidad de ítem de prueba.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición oftálmica acuosa adecuada para inyección, que comprende:
- un anticuerpo isotipo IgG1/lambda o un anticuerpo monoclonal aislado que se une específicamente a una
10 proteína C5 en una concentración de 100 mg/ml;
 un estabilizador en una concentración de 120 mM;
 L-arginina en una concentración de 50 mM;
15 histidina en una concentración de 10 mM;
 un tensioactivo en una concentración de 0,01% p/p;
 con un pH ajustado a 5,5.
2. Una composición como en la reivindicación 1, donde la composición es una composición oftálmica acuosa
15 adecuada para inyección intravítrea.
3. Una composición como en la reivindicación 1, donde el estabilizador es trehalosa.

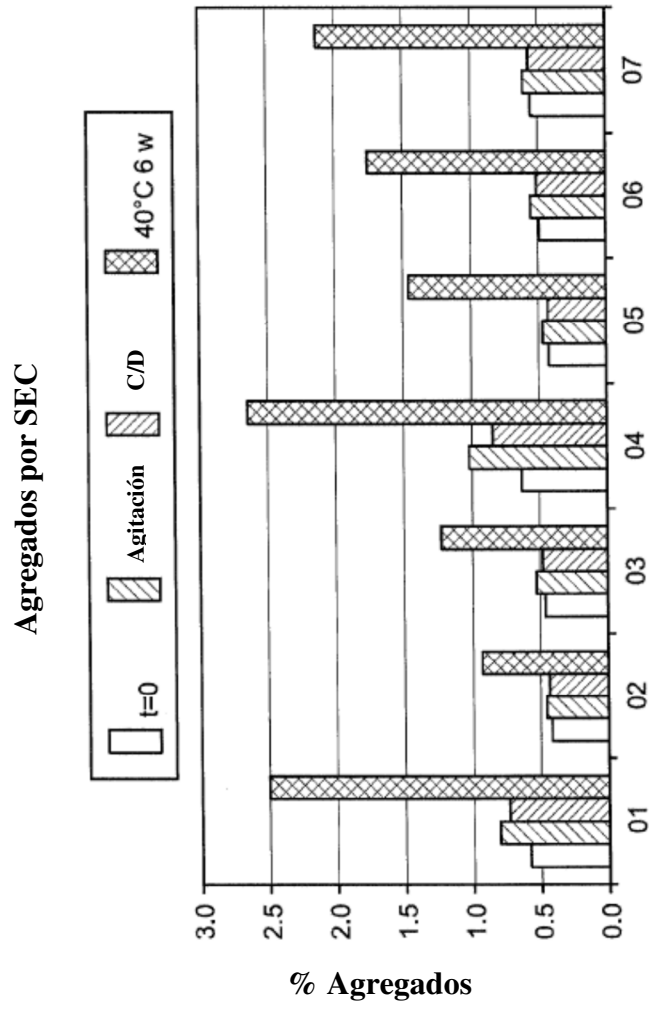


Fig. 1