

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 815 598**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.05.2015 PCT/EP2015/060818**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.11.2015 WO15177059**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2015 E 15723695 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2020 EP 3145488**

54 Título: **Composición farmacéutica líquida**

30 Prioridad:

23.05.2014 EP 14169755

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

30.03.2021

73 Titular/es:

**FRESENIUS KABI DEUTSCHLAND GMBH
(100.0%)**

**Else-Kröner-Strasse 1
61352 Bad Homburg v.d.H, DE**

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 815 598 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica líquida

5 Introducción

La presente invención se refiere a una nueva formulación de proteínas. En particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica líquida de adalimumab, a un método de fabricación de la composición, a un kit que incluye la composición, a un empaque que incluye la composición, a un método de fabricación del empaque y a métodos de tratamiento utilizando la composición y/o empaque.

Antecedentes

El tratamiento de las enfermedades autoinmunes relacionadas con el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α), como la artritis reumatoide, la psoriasis y otras enfermedades autoinmunes, se ha logrado mediante el uso de fármacos aprobados por la FDA como Adalimumab (HUMIRA®, Abbott Corporation). El adalimumab es un anticuerpo monoclonal humano que inhibe la actividad del FNT- α humano para evitar que active los receptores de FNT, regulando a la baja las respuestas inflamatorias asociadas con las enfermedades autoinmunes. Las indicaciones médicas aprobadas para Adalimumab incluyen artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica moderada a grave y artritis idiopática juvenil.

El adalimumab generalmente se administra a un paciente mediante inyección subcutánea y, por lo tanto, se proporciona en forma líquida, típicamente en paquetes tales como viales, jeringas precargadas o "dispositivos de pluma" precargados. Los dispositivos de pluma disponibles comercialmente (Pluma HUMIRA®) generalmente incluyen una jeringa de vidrio precargada de 1 ml, precargada con 0,8 ml de una formulación estéril de 40 mg de adalimumab (véase más abajo), con una aguja fija (ya sea de caucho natural gris o una versión sin látex) y una cubierta de la aguja. Las formulaciones comerciales (HUMIRA®) de Adalimumab contienen los siguientes ingredientes:

Ingrediente	Cantidad por contenedor (mg) (volumen de llenado = 0,8 ml)	Cantidad (mg/ml)
Adalimumab	40	50
Ácido Cítrico Monohidrato	1,04	1,3
Fosfato de sodio dibásico dihidrato	1,22	1,53
Manitol	9,6	12
Fosfato de sodio monobásico dihidrato	0,69	0,86
Polisorbato 80	0,8	1
Cloruro de sodio	4,93	6,16
Citrato de sodio	0,24	0,3
agua para inyección e hidróxido de sodio	q.b. para ajustar el pH a 5,2	q.b. para ajustar el pH a 5,2

El adalimumab, y su método de fabricación, se describe en el documento WO97/29131 (BASF) como D2E7, y en otras partes de la técnica.

Aunque la formulación comercial mencionada anteriormente de Adalimumab es estable (al menos hasta cierto punto), el anticuerpo relevante puede ser inestable durante períodos prolongados o en condiciones de estrés, lo que impide el almacenamiento prolongado de dichas formulaciones. Tal degradación de la formulación puede deberse a una variedad de factores, que incluyen:

• Efectos físicos, tales como:

◦ Inhibición inadecuada de la agregación de las moléculas de proteína relevantes (una función supuestamente cumplida por Tween-80);

◦ Inhibición inadecuada de la precipitación;

◦ Inhibición inadecuada de la adsorción de las moléculas de proteína relevantes en la interfase de agua y aire o en la superficie de contacto de cualquier material de empaque (una función supuestamente cumplida por Tween-80);

◦ Regulación inadecuada de la presión osmótica (una función supuestamente cumplida por el manitol);

• Efectos químicos, como:

◦ Regulación inadecuada de la oxidación (una función supuestamente servida por manitol y potencialmente socavada por Tween-80, que puede promover la oxidación de dobles enlaces);

◦ Inhibición inadecuada de la fotooxidación;

◦ Inhibición inadecuada de la hidrólisis de enlaces éster que conduce a la formación de productos de ácido, aldehído y peróxido, lo que afecta la estabilidad del anticuerpo;

◦ Estabilización y mantenimiento inadecuados del pH;

◦ Inhibición inadecuada de la fragmentación de proteínas;

◦ Inhibición inadecuada del desplegamiento de proteínas;

Cualquiera, algunos o todos los factores anteriores pueden conducir a un fármaco inviable (que puede ser inseguro para su uso en tratamientos médicos) o un fármaco cuya viabilidad es variable e impredecible, especialmente en vista de las tensiones variables (agitación, calor, luz) a los que pueden estar expuestos diferentes lotes de fármaco durante la fabricación, el transporte y el almacenamiento.

En términos de la estabilización física y química de Adalimumab, la compleja gama de componentes dentro de las formulaciones comerciales antes mencionadas parece funcionar por debajo de las expectativas, especialmente en vista de la gran cantidad de componentes. Aunque esta combinación particular de excipientes representa indudablemente un 'equilibrio delicado' (dada la interacción entre diversos factores técnicos) y fue el resultado de una extensa investigación y desarrollo, en vista del riesgo de bajo rendimiento, es cuestionable si un número tan grande de excipientes diferentes está justificado, especialmente dado que esto aumenta inevitablemente las cargas de procesamiento y costes, los riesgos de toxicidad y los riesgos de interacciones perjudiciales entre los componentes que podrían comprometer la formulación. Incluso si no se pudiera superar el rendimiento general de las formulaciones comerciales, una formulación alternativa que tenga un rendimiento comparativo pero que contenga pocos componentes representaría un reemplazo muy deseable para las formulaciones comerciales, al menos por las razones antes mencionadas.

Para garantizar un rendimiento clínico reproducible de un producto farmacéutico a base de proteínas, dichos productos deben permanecer en una forma estable y consistente a lo largo del tiempo. Está bien establecido que pueden producirse alteraciones moleculares durante todas las etapas del proceso de fabricación, incluso durante la producción de la formulación final y durante el almacenamiento. Las alteraciones moleculares pueden modificar un atributo de calidad de un producto biofarmacéutico, dando como resultado un cambio indeseable en la identidad, fuerza o pureza del producto. Algunos de estos problemas se delinean más arriba.

El objetivo principal del desarrollo de la formulación es proporcionar una composición farmacéutica que respalde la estabilidad de una proteína biofarmacéutica durante todas las etapas de su producción, almacenamiento, envío y uso. El desarrollo de la formulación de una proteína biofarmacéutica innovadora, o un anticuerpo monoclonal biosimilar (mAb), es esencial para su seguridad, eficacia clínica y éxito comercial.

Por tanto, existe la necesidad de proporcionar formulaciones líquidas alternativas o mejoradas de adalimumab. Deseablemente, cualquier formulación nueva resolvería al menos uno de los problemas mencionados anteriormente y/o al menos un problema inherente a la técnica anterior, y puede resolver apropiadamente dos o más de dichos problemas. Deseablemente, el (los) problema(s) de la técnica anterior pueden resolverse reduciendo al mismo tiempo la complejidad de la formulación.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica líquida que comprende adalimumab (que incluye apropiadamente cualquier biosimilar del mismo) como se define en la reivindicación 1. La composición exhibe opcionalmente uno o más parámetros o propiedades dadas en el presente documento en relación con una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, pH, osmolalidad, agregación, fragmentación, desplegamiento proteico, turbidez, estabilidad en general, vida útil, etc.).

El perfil de isoformas del adalimumab dentro de la composición, tal como se mide (o es medido) por referencia al área integrada del "pico principal" relacionado con el adalimumab en un electroferograma producido por enfoque

isoelectrónico (apropiadamente enfoque isoelectrónico capilar como se describe en el presente documento, u
opcionalmente otros protocolos de enfoque isoelectrónico estándar bien conocidos en la técnica), cambia en no más
del 20% cuando se somete a estrés lumínico (apropiadamente 7 horas de exposición a 765 W/m² de luz,
apropiadamente de acuerdo con las pautas actuales ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicamentos,
5 convenientemente el documento CPMP/ICH/279/95).

La composición farmacéutica líquida puede tener un pH mayor o igual a pH 5,4.

La composición de la presente invención se puede proporcionar en un paquete (por ejemplo, jeringa precargada,
10 pluma, bolsa intravenosa o un paquete/recipiente que contenga cualquiera de los elementos mencionados
anteriormente), opcionalmente con un conjunto de instrucciones con guías sobre la administración (por ejemplo
subcutánea) de la composición farmacéutica líquida.

La composición de la presente invención puede usarse para proporcionar un método de tratamiento de una
15 enfermedad o trastorno médico en un paciente que necesite dicho tratamiento, comprendiendo dicho método
administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica líquida como
se define en el presente documento.

Breve descripción de los dibujos

20 Para una mejor comprensión de la invención, y para mostrar cómo se llevan a cabo realizaciones de la misma, se
hace ahora referencia, a modo de ejemplo, a los siguientes dibujos esquemáticos, en los que:

La Figura 1 es un gráfico de barras que muestra el contenido de proteína (mg/ml), según lo determinado por la DO,
25 de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las
formulaciones comparativas de HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 4
semanas (barras rojas) de la (s) formulación(s) estando calentadas a 40°C.

La Figura 2 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, según lo determinado por SE-HPLC, de las
30 formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del
comparador HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras
verdes) y 4 semanas (barras naranjas) de la formulación o las formulaciones calentadas a 40°C.

La Figura 3 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer,
35 de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las
formulaciones del comparador HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azul oscuro, tiempo=0) y después
de 2 semanas (barras rosadas) y 4 semanas (barras azul claro) de la formulación o formulaciones calentadas a
40°C.

La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la temperatura de desplegamiento (°C), determinada por DSF, de
40 las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones
comparativas HUMIRA®).

La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, según lo determinado por SE-HPLC, de las
45 formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del
comparador HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras rojas, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras
verdes) y 4 semanas (barras púrpuras) de la(s) formulación(es) calentadas a 40°C.

La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer,
50 de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las
formulaciones del comparador HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2
semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones calentadas a 40°C.

La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, según lo determinado por el
55 análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0)
y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o las formulaciones
calentadas a 40°C.

La Figura 8 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas de grupo de picos del ácido, según lo
60 determinado por el análisis iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario
(barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la(s)
formulación(es) que se calientan a 40°C.

La Figura 9 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por nefelometría, de las formulaciones de
65 DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras
rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se calientan a 40°C.

La Figura 10 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o las formulaciones agitadas mecánicamente (agitación).

La Figura 11 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o las formulaciones que se agitan mecánicamente (agitación).

La Figura 12 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por nefelometría, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se agitan mecánicamente (agitación).

La Figura 13 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, según lo determinado por SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones comparativas HUMIRA®), antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

La Figura 14 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

La Figura 15 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, según lo determinado por el análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del comparador HUMIRA®), antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

La Figura 16 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas de grupo de picos del ácido, según lo determinado por el análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del comparador HUMIRA®), antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

La Figura 17 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

Descripción detallada de la invención

Definiciones

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos utilizados en la especificación y las reivindicaciones tienen los siguientes significados que se establecen a continuación.

Las referencias en el presente documento a "adalimumab" incluyen el fármaco originador (disponible comercialmente), adalimumab como se define en el documento WO97/29131 (BASF) (particularmente D2E7) y en otras partes de la técnica, y también biosimilares del mismo. D2E7 de WO97/29131 "tiene un dominio CDR3 de cadena liviana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y un dominio CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4". Preferiblemente, el anticuerpo D2E7 tiene una región variable de cadena liviana (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. WO97/29131 da detalles de cada uno de estos listados de secuencias. Las referencias en el presente documento a "adalimumab" pueden incluir biosimilares que, por ejemplo, pueden compartir al menos el 75%, apropiadamente al menos el 80%, apropiadamente al menos el 85%, apropiadamente al menos el 90%, apropiadamente al menos el 95%, apropiadamente al menos el 96%, apropiadamente al menos el 97%, apropiadamente al menos el 98% o más apropiadamente al menos el 99% de identidad de secuencia de proteína con cualquiera de las secuencias de proteína descritas en el documento WO97/ 29131 (especialmente en relación con D2E7) o en otro lugar en relación con "adalimumab". Alternativa o adicionalmente, las referencias en el presente documento a "adalimumab" pueden incluir biosimilares que exhiban al menos 75%, apropiadamente al menos 80%, apropiadamente al menos 85%, apropiadamente al menos 90%, apropiadamente al menos 95%, apropiadamente al menos 96%, apropiadamente al menos 97%, apropiadamente al menos 98% o más apropiadamente al menos 99% de homología de secuencia de proteínas con cualquiera de las secuencias de proteínas descritas en el documento WO97/29131 (especialmente en relación con D2E7) o en cualquier otro lugar en relación con "adalimumab". Alternativa o adicionalmente, un biosimilar puede tener un perfil de glicosilación (ligeramente) diferente, incluso si la secuencia de la proteína es sustancialmente la misma o diferente en la medida especificada anteriormente.

El término "biosimilar" (también conocido como productos biológicos de subsecuentes) es bien conocido en la técnica, y el experto en la materia apreciaría fácilmente cuándo una sustancia farmacológica se consideraría un biosimilar de adalimumab. Además, tales "biosimilares" tendrían que ser aprobados oficialmente como "biosimilares" para su comercialización antes de que dicho "biosimilar" se venda en el mercado abierto. El término "biosimilar" se utiliza generalmente para describir versiones posteriores (generalmente de una fuente diferente) de "productos biofarmacéuticos innovadores" ("productos biológicos" cuya sustancia farmacológica es fabricada por un organismo vivo o derivada de un organismo vivo o mediante ADN recombinante o metodologías de expresión génica controladas) que hayan recibido previamente una autorización de comercialización oficial. Dado que los productos biológicos tienen un alto grado de complejidad molecular y, en general, son sensibles a los cambios en los procesos de fabricación (por ejemplo, si se utilizan diferentes líneas celulares en su producción), y dado que los fabricantes subsiguientes generalmente no tienen acceso al clon molecular del originador, banco de células, conocimientos sobre el proceso de fermentación y purificación, ni del principio activo en sí (solo el producto farmacéutico comercializado por el innovador), es poco probable que cualquier "biosimilar" sea exactamente igual al producto farmacéutico innovador.

Para los propósitos de diversos cálculos molares (por ejemplo, para las relaciones molares entre adalimumab y otro componente de la composición farmacéutica líquida de la invención), el peso molecular de adalimumab puede tomarse como 144190,3 g/mol (peso molecular de referencia) basado en los detalles descritos en la base de datos CAS para CAS # 331731-18-1, Adalimumab, donde la fórmula molecular se toma como $C_{6428}H_{9912}N_{1694}O_{1987}S_{46}$. Como tal, una composición farmacéutica líquida que contiene 50 mg/ml de adalimumab puede considerarse una solución de adalimumab 0,347 mM (o 347 μ M). Esto no pretende ser de ninguna manera limitante con respecto a la naturaleza de los biosimilares de adalimumab cubiertos por el alcance de la presente invención, ni al nivel de glicosilación, cualquiera de los cuales puede afectar el peso molecular real. Sin embargo, cuando un biosimilar tiene un peso molecular diferente, el peso molecular de referencia mencionado anteriormente debe usarse apropiadamente con el fin de evaluar si dicho biosimilar cae o no dentro del alcance de cualquier definición molar estipulada dentro de esta especificación. Por tanto, el número de moles en un peso conocido de dicho biosimilar debe calcularse, solo para los propósitos de esta invención, utilizando el peso molecular de referencia anterior.

En el presente documento, el término "regulador" o "solución regulador" se refiere a una solución generalmente acuosa que comprende una mezcla de un ácido (generalmente un ácido débil, por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, forma imidazolio de histidina) y su base conjugada (por ejemplo, una sal de acetato o citrato, por ejemplo, acetato de sodio, citrato de sodio o histidina) o alternativamente una mezcla de una base (normalmente una base débil, por ejemplo, histidina) y su ácido conjugado (por ejemplo, sal de histidina protonada). El pH de una "solución regulador" cambiará muy sólo ligeramente tras la adición de una pequeña cantidad de ácido o base fuerte debido al "efecto regulador" impartido por el "agente regulador".

En el presente documento un "sistema regulador" comprende uno o más agentes reguladores y/o un conjugado(s) ácido/base del mismo, y más apropiadamente comprende uno o más agentes reguladores y un conjugado(s) ácido/base del mismo, y lo más convenientemente comprende un agente regulador solamente y un conjugado ácido/base del mismo. A menos que se indique lo contrario, cualquier concentración estipulada en el presente documento en relación con un "sistema regulador" (es decir, una concentración regulador) se refiere apropiadamente a la concentración combinada del o de los agentes reguladores y/o del conjugado ácido/base de los mismos. En otras palabras, las concentraciones estipuladas en el presente documento en relación con un "sistema regulador" se refieren apropiadamente a la concentración combinada de todas las especies regulador relevantes (es decir, las especies en equilibrio dinámico entre sí, por ejemplo, citrato/ácido cítrico). Como tal, una concentración dada de un sistema regulador de citrato generalmente se relaciona con la concentración combinada de citrato (o sal(es) de citrato, por ejemplo, citrato de sodio) y ácido cítrico. El pH total de la composición que comprende el sistema regulador relevante es generalmente un reflejo de la concentración de equilibrio de cada una de las especies regulador relevantes (es decir, el equilibrio entre el agente o agentes reguladores y el conjugado ácido/base del mismo).

En el presente documento, el término "agente regulador" se refiere a un componente ácido o base (normalmente un ácido débil o una base débil) de un regulador o solución regulador. Un agente regulador ayuda a mantener el pH de una solución dada en o cerca de un valor predeterminado, y los agentes reguladores generalmente se eligen para complementar el valor predeterminado. Un agente regulador es apropiadamente un solo compuesto que da lugar a un efecto regulador deseado, especialmente cuando dicho agente regulador se mezcla con (y es apropiadamente capaz de intercambiar protones con) una cantidad apropiada (dependiendo del pH deseado predeterminado) de su correspondiente "conjugado ácido/base", o si la cantidad requerida de su correspondiente "conjugado ácido/base" se forma in situ, esto se puede lograr añadiendo ácido o base fuerte hasta que se alcance el pH requerido. A modo de ejemplo:

- Un "agente regulador" de citrato es apropiadamente una sal de citrato, por ejemplo, citrato de sodio, apropiadamente mezclado con su conjugado ácido/base, citrato ácido. Tal "sistema regulador" puede formarse simplemente mezclando una cantidad dada de citrato de sodio con una cantidad dada de ácido cítrico. Alternativamente, sin embargo, dicho regulador puede formarse agregando una cantidad determinada de una base,

apropiadamente una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido citrato hasta que se alcance el pH deseado (y por lo tanto el equilibrio deseado de citrato de sodio/ácido citrato). En el presente documento, salvo que se indique lo contrario, cualquier concentración dada en relación con un regulador de citrato o un agente regulador de citrato se refiere apropiadamente a la concentración combinada del o de los agentes reguladores (por ejemplo, citrato de sodio) y/o del conjugado ácido/base de los mismos (por ejemplo, ácido cítrico). El experto en la materia podrá calcular fácilmente dicha concentración. Dichas concentraciones pueden calcularse por referencia a las concentraciones combinadas de agente(s) regulador y conjugado(s) ácido/base, donde se forma un sistema regulador simplemente mezclando agente (s) regulador y conjugado(s) ácido/base. Alternativamente, cuando se forma un sistema regulador mezclando el(los) agente(s) regulador o el conjugado(s) ácido/base con un ajustador de pH (por ejemplo, ácido fuerte o base fuerte) para producir una mezcla de cada uno, estas concentraciones pueden calcularse apropiadamente, con referencia a las cantidades/concentraciones iniciales del o de los agentes reguladores o del conjugado o conjugados ácido/base, respectivamente. Por ejemplo, cuando se forma un sistema regulador usando una cantidad/concentración conocida de ácido cítrico que se mezcla con un ajustador de pH (por ejemplo, hidróxido de sodio) hasta que se alcanza el pH deseado, la concentración del sistema regulador se puede calcular por referencia a la cantidad inicial de ácido cítrico.

En el presente documento, un "conjugado ácido/base" se refiere al ácido conjugado o base conjugada (lo que sea relevante a un pH particular, típicamente el ácido conjugado en el contexto de la presente invención) de un "agente regulador" particular. El conjugado ácido/base de un agente regulador de citrato (por ejemplo, citrato de sodio) es apropiadamente ácido cítrico.

En el presente documento, el término "especie regulador" se refiere a la especie particular (excluyendo cualquier contraanión o contraaniones asociados, es decir, se ignoran los iones de sodio para los sistemas de citrato de sodio/ácido cítrico) de un sistema regulador dado que están en equilibrio dinámico con (y en intercambio de protones con) unos a otros. Por ejemplo, los aniones citrato y el ácido cítrico juntos constituyen la "especie regulador de citrato" de un "sistema regulador de citrato".

Dado que es algo difícil definir las cantidades (ya sean absolutas o relativas) de un sistema regulador por referencia al peso (ya que el peso total dependerá del pH deseado, que afectará la cantidad de contraiones presentes), en el presente documento las cantidades basadas en el peso pueden determinarse, en cambio, por referencia a un peso teórico de las "especies regulador" pertinentes. Al menos dos especies están presentes en cualquier conjunto dado de "especies regulador" (en cantidades relativas que solo pueden determinarse por referencia al pH), cada una con un peso molecular diferente (que generalmente difiere solo en 1). Por lo tanto, para permitir cálculos y referencias de peso viables, para los propósitos de esta especificación, el peso de cualquier conjunto dado de "especies reguladoras" es un peso teórico basado en solo una de las especies reguladoras, a saber, la más ácida de las especies reguladoras (es decir, la forma más protonada a cualquier pH dado). Por tanto, el peso de un conjunto dado de "especies reguladoras" se expresa como el peso de equivalentes de especies ácidas. A modo de ejemplo, en un sistema regulador de citrato, las especies regulador de citrato pueden consistir en aniones citrato (se ignoran los contraiones) y ácido cítrico. Por tanto, el peso de la "especie regulador" se calcula como si el ácido cítrico fuera la única especie presente en el sistema regulador (aunque el citrato está claramente presente junto con el ácido cítrico). Por tanto, cualquier referencia a una relación en peso o peso que implique una "especie regulador de citrato" se refiere de forma adecuada al peso teórico de equivalentes de ácido cítrico dentro del sistema regulador. Como tal, cuando una composición se forma agregando un ajustador de pH (por ejemplo, hidróxido de sodio) a una cantidad fija de ácido cítrico, el peso original de ácido cítrico se puede considerar como el peso de la "especie regulador" independientemente del pH final. Alternativamente, si se conoce la concentración (es decir, la molaridad) de un sistema regulador, esta se puede convertir en un peso de "especies regulador" por referencia al peso molecular de la forma más ácida de la especie regulador relevante (por ejemplo, ácido cítrico), e ignorando el hecho de que también están presentes aniones citrato.

A menos que se indique lo contrario, las referencias en el presente documento a un "aminoácido" o "aminoácidos", ya sean específicos (por ejemplo, arginina, histidina) o generales (por ejemplo, cualquier aminoácido), en el contexto de su presencia o de otro modo dentro de las composiciones (especialmente composiciones líquidas farmacéuticas de la invención) se refieren a los aminoácidos libres correspondientes (independientemente de su estado de protonación y/o forma de sal, aunque por razones de consistencia las cantidades se calculan apropiadamente con referencia al aminoácido libre per se). Esto puede incluir apropiadamente aminoácidos naturales y/o artificiales. A menos que se indique lo contrario, dichas referencias no están destinadas a referirse a residuos de aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un compuesto más grande (a diferencia de una composición que comprende múltiples compuestos), como un péptido o proteína (donde dicho residuos de aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos). Como tal, aunque el adalimumab, como proteína, contiene residuos de aminoácidos, no se considera que comprenda ningún "aminoácido(s) libre(s)". A modo de ejemplo, una composición definida como "libre de arginina" no contiene ninguna arginina libre pero aún puede incluir una o más proteínas (por ejemplo, adalimumab) que comprenden por sí mismas residuos de arginina.

A menos que se indique lo contrario, las referencias en el presente documento a uno o más "aminoácidos", ya sean específicos o generales, se relacionan apropiadamente con los L-estereoisómeros o un racemato de los mismos, más apropiadamente L-aminoácidos.

El término "sustancialmente libre", cuando se usa en relación con un componente dado de una composición (por ejemplo, "una composición farmacéutica líquida sustancialmente libre de arginina"), se refiere a una composición a la que esencialmente no se ha añadido ninguno de dichos componentes. Como se explicó anteriormente, tales referencias no tienen relación con la presencia de residuo(s) de aminoácido dentro de una estructura de proteína. Cuando una composición está "sustancialmente libre" de un componente dado, dicha composición comprende apropiadamente no más del 0,001% en peso de dicho componente, apropiadamente no más del 0,0001% en peso de dicho componente, apropiadamente no más del 0,00001% en peso, apropiadamente no más del 0,000001% en peso, convenientemente no más del 0,0000001% en peso del mismo, lo más convenientemente no más de 0,0001 partes por billón (en peso).

El término "completamente libre", cuando se usa en relación con un componente dado de una composición (por ejemplo, "una composición farmacéutica líquida sustancialmente libre de arginina"), se refiere a una composición que no contiene ninguno de dichos componentes. Como se explicó anteriormente, tales referencias no tienen relación con la presencia de residuo(s) de aminoácido dentro de una estructura de proteína.

En el presente documento, en el contexto de la presente memoria descriptiva, un "ácido fuerte" es apropiadamente uno que tiene un pK_a de -1,0 o menos, mientras que un "ácido débil" es apropiadamente uno que tiene un pK_a de 2,0 o más. En el presente documento, en el contexto de la presente memoria descriptiva, una "base fuerte" es apropiadamente una cuyo ácido conjugado tiene un pK_a de 12 o más (apropiadamente 14 o más), mientras que una "base débil" es apropiadamente una cuyo ácido conjugado tiene un pK_a de 10 o menos.

En el presente documento un "estabilizador" se refiere a un componente que facilita el mantenimiento de la integridad estructural del fármaco biofarmacéutico, particularmente durante la congelación y/o liofilización y/o almacenamiento (especialmente cuando se expone a estrés). Este efecto estabilizador puede surgir por una variedad de razones, aunque típicamente tales estabilizadores pueden actuar como osmolitos que mitigan la desnaturalización de proteínas. Los estabilizadores típicos incluyen aminoácidos (es decir, aminoácidos libres que no forman parte de un péptido o proteína -por ejemplo, glicina, arginina, histidina, ácido aspártico, lisina-) y estabilizadores de azúcar, como un poliol de azúcar (por ejemplo, manitol, sorbitol) y/o un disacárido (por ejemplo, trehalosa, sacarosa, maltosa, lactosa), aunque las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención incluyen un estabilizador, al menos uno de los cuales es un estabilizador de azúcar (es decir, un poliol de azúcar o un disacárido). Más apropiadamente, el al menos un estabilizador de azúcar es un azúcar no reductor (ya sea un poliol de azúcar o un disacárido).

En el presente documento, un "azúcar no reductor" es generalmente un azúcar sin restos aldehído o sin la capacidad de formar un resto aldehído (por ejemplo, mediante isomerismo).

En el presente documento, un "modificador de tonicidad" o "agente de tonicidad" se refiere a un reactivo cuya inclusión dentro de una composición contribuye apropiadamente a (o aumenta) la osmolalidad y osmolaridad general de la composición. De manera adecuada, un agente de tonicidad, como se usa en el presente documento, incluye un agente que funciona para hacer una solución similar en características osmóticas a los fluidos fisiológicos.

En el presente documento las referencias a cantidades específicas de un componente dado de una composición, especialmente un agente regulador, estabilizador, aminoácido, tensioactivo o agente de tonicidad, se relacionan apropiadamente con las cantidades de la forma anhidra pura del componente relevante (o composiciones formadas usando dichas cantidades de la forma anhidra pura), aunque dicho componente se puede usar en una forma no anhidra al formar la composición. Las cantidades de cualquier forma no anhidra correspondiente (por ejemplo, monohidratos, dihidratos, etc.) pueden calcularse fácilmente usando simplemente el multiplicador apropiado. Por ejemplo, a menos que se indique lo contrario (según los Ejemplos, cuando las cantidades se relacionan con trehalosa dihidrato), las cantidades estipuladas en relación con la trehalosa se refieren a la forma anhidra de trehalosa (o composiciones formadas usando las cantidades/concentraciones estipuladas de trehalosa anhidra), que tiene un peso molecular de 342,296 g/mol, por lo que para calcular la cantidad correspondiente de trehalosa dihidrato necesaria para formar la misma composición (se tendría que agregar menos agua) es necesario multiplicar la cantidad estipulada por 378,33/342,296, ya que 378,33 es el peso molecular de la trehalosa dihidrato. La persona experta comprenderá fácilmente cómo ajustar con buen juicio la cantidad de diluyente/agua dependiendo de la forma de los componentes usados, con el fin de derivar las concentraciones objetivo.

En el presente documento, el término "composición farmacéutica" se refiere a una formulación de un ingrediente farmacéutico activo que hace que la actividad biológica del ingrediente activo sea terapéuticamente efectiva, pero que no incluye otros ingredientes que son obviamente tóxicos para un sujeto al que se pretende que la formulación sea administrada.

En el presente documento, el término "estable" generalmente se refiere a la estabilidad física y/o estabilidad química y/o estabilidad biológica de un componente, típicamente un activo o composición del mismo, durante conservación/almacenamiento.

Debe apreciarse que las referencias a "tratar" o "tratamiento" incluyen tanto la profilaxis como el alivio de los síntomas establecidos de una afección. Por lo tanto, "tratar" o "tratamiento" de un estado, trastorno o afección incluye: (1) prevenir o retrasar la aparición de los síntomas clínicos del estado, trastorno o afección que se desarrolla en un ser humano que puede estar afligido o predispuesto al estado, trastorno o afección, pero aún no experimenta ni muestra síntomas clínicos o subclínicos del estado, trastorno o afección, (2) inhibir el estado, trastorno o afección, es decir, detener, reducir o retrasar el desarrollo de la enfermedad o una recaída de la misma (en caso de tratamiento de mantenimiento) o al menos uno de sus síntomas clínicos o subclínicos, o (3) aliviar o atenuar la enfermedad, es decir, provocar la regresión del estado, trastorno o afección o al menos uno de sus síntomas clínicos o subclínicos.

En el contexto de la presente invención, una "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad efectiva" del anticuerpo significa una cantidad que es efectiva, cuando se administra a un mamífero para tratar una enfermedad o trastorno, en el aspecto profiláctico y terapéutico y el anticuerpo es efectivo en el tratamiento de las enfermedades en cuestión.

La "cantidad terapéuticamente efectiva" variará dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad y la edad, peso, etc., del mamífero por tratar.

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

El término "anticuerpo humano recombinante" pretende incluir un anticuerpo humano preparado, expresado, producido o aislado usando un método recombinante.

En el presente documento las cantidades estipuladas para componentes e ingredientes, ya sea que se especifiquen en términos de "partes", ppm (partes por millón), porcentajes (% , por ejemplo % en peso), o proporciones, están destinadas a ser en peso, a menos que se indique lo contrario.

Cuando la cantidad o concentración de un componente particular de una composición dada se especifica como un porcentaje en peso (% en peso o % p/p), dicho porcentaje en peso se refiere al porcentaje de dicho componente en peso con respecto al peso total de la composición como un todo. Los expertos en la técnica entenderán que la suma de los porcentajes en peso de todos los componentes de una composición (se especifiquen o no) totalizará el 100% en peso. Sin embargo, cuando no se enumeran todos los componentes (por ejemplo, cuando se dice que las composiciones "comprenden" uno o más componentes particulares), el balance porcentual en peso puede formarse opcionalmente hasta el 100% en peso con ingredientes no especificados (por ejemplo, un diluyente, como agua, u otros aditivos no esenciales pero adecuados).

En el presente documento, a menos que se indique lo contrario, el término "partes" (por ejemplo, partes en peso, pep) cuando se usa en relación con múltiples ingredientes/componentes, se refiere a relaciones relativas entre dichos múltiples ingredientes/componentes. Expresar relaciones molares o en peso de dos, tres o más componentes da lugar al mismo efecto (por ejemplo, una relación molar de x, y, z es $x_1:y_1:z_1$ respectivamente, o un rango $x_1-x_2 y_1-y_2:z_1-z_2$). Aunque en muchas realizaciones las cantidades de componentes individuales dentro de una composición se pueden dar como un valor de "% en peso", en realizaciones alternativas cualquiera o todos los valores de % en peso se pueden convertir a partes en peso (o proporciones relativas) para definir una composición con múltiples componentes. Esto es así porque las relaciones relativas entre los componentes son a menudo más importantes que las concentraciones absolutas de los mismos en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención. Cuando una composición que comprende múltiples ingredientes se describe en términos de partes en peso solo (es decir, para indicar solo proporciones relativas de ingredientes), no es necesario estipular las cantidades absolutas o concentraciones de dichos ingredientes (ya sea en su totalidad o individualmente) porque las ventajas de la invención pueden provenir de las proporciones relativas de los ingredientes respectivos en lugar de sus cantidades o concentraciones absolutas.

En la composición reivindicada, la composición consta de todos los ingredientes estipulados.

En el presente documento el término "tamaño de partícula" o "tamaño de poro" se refiere respectivamente a la longitud de la dimensión más larga de una partícula o poro dado. Ambos tamaños pueden medirse usando un analizador de tamaño de partículas láser y/o microscopios electrónicos (por ejemplo, microscopio electrónico de túnel, TEM o microscopio electrónico de barrido, SEM). El recuento de partículas (para cualquier tamaño dado) se puede obtener utilizando los protocolos y el equipo descritos en los Ejemplos, que se refieren al recuento de partículas de las partículas subvisibles.

Composición farmacéutica líquida

La presente invención proporciona una composición farmacéutica líquida, apropiadamente como se define en la reivindicación 1. El perfil de isoformas del adalimumab dentro de la composición, tal como se mide (o es medido) por referencia al área integrada del "pico principal" relacionado con el adalimumab en un electroferograma producido durante el enfoque isoelectrónico (apropiadamente enfoque isoelectrónico capilar como se describe en el presente documento, u opcionalmente otros protocolos de enfoque isoelectrónico estándar bien conocidos en la técnica), cambia en no más del 20% cuando se somete a estrés lumínico (apropiadamente 7 horas de exposición a 765 W/m² ligero, apropiadamente de acuerdo con las actuales directrices ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicamentos, convenientemente documento CPMP/ICH/279/95). La composición está apropiadamente (sustancial o totalmente) libre de agentes reguladores de fosfato (por ejemplo, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato disódico) o comprende un sistema regulador de fosfato (incluyendo uno o más agentes reguladores de fosfato y/o conjugado(s) de conjugado ácido/base correspondiente) en una concentración de como máximo 0,1 mM. La composición tiene apropiadamente un pH mayor o igual a pH 5,4. La composición está convenientemente (sustancial o totalmente) libre de arginina o comprende arginina en una concentración de como máximo 0,1 mM. Alternativamente o además, la composición puede incluir apropiadamente uno o más componentes adicionales definidos en el presente documento en relación con una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, incluyendo tensioactivo, excluyendo arginina, etc.), opcionalmente en cualquier cantidad, concentración o forma estipulada en el presente documento; y en la que la composición exhibe opcionalmente uno o más parámetros o propiedades dados en el presente documento en relación con una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, pH, osmolalidad).

Ventajosamente, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas líquidas alternativas y mejoradas, que generalmente presentan una estabilidad y viabilidad comparables o mejores que las de la técnica anterior. Como se ilustra en el presente documento (véase Ejemplos), las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente invención tienen características comparables o mejoradas en comparación con las formulaciones convencionales de adalimumab, por ejemplo, la formulación Humira® disponible comercialmente, cuando se someten a diferentes condiciones de estrés (térmicas, mecánicas y luz). Su desempeño también es en general comparable o mejor que el de muchas otras formulaciones comparativas que fueron sometidas a las mismas pruebas de estrés. Dado que estas condiciones de estrés son muy representativas del tipo de estrés al que se someten tales formulaciones durante la fabricación, el transporte y el almacenamiento, proporcionan una excelente indicación de las ventajas de la invención. Se consideró sorprendente que se pueda lograr un rendimiento de estabilidad tan bueno usando formulaciones menos complejas con menos excipientes a la vista de las enseñanzas generales de la técnica anterior.

Adalimumab

El adalimumab, que está disponible comercialmente en formulaciones de HUMIRA®, y su método de fabricación, se describen en el documento WO97/29131 (BASF) como D2E7 y en otras partes de la técnica. Se describe que tiene "un dominio CDR3 de cadena liviana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y un dominio CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4" (documento WO97/29131). Además, se describe que el anticuerpo D2E7 tiene una región variable de cadena liviana (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 (WO97/29131).

Las indicaciones médicas y la función de Adalimumab se elucidan a continuación.

En el contexto de la invención, "adalimumab" incluye biosimilares, como se definió anteriormente en el presente documento, y el experto en la materia apreciaría fácilmente el alcance del término "adalimumab" en el contexto de la invención.

La composición farmacéutica líquida contiene adalimumab en una concentración de aproximadamente 50 mg /ml.

Regulador, Agente Regulador y pH

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida es una solución regulada cuyo pH se estabiliza mediante un agente regulador (o un sistema regulador), de forma adecuada en combinación con un conjugado ácido/ base del agente regulador. Como tal, la composición farmacéutica líquida comprende de forma adecuada un agente regulador como se define en el presente documento. Preferiblemente, la composición farmacéutica líquida comprende adicionalmente un conjugado ácido/base, en el que dicho conjugado ácido/base corresponde al ácido conjugado o base conjugada del agente regulador, dependiendo de si el agente regulador es en sí mismo una base o un ácido respectivamente. En conjunto, el agente regulador y su conjugado ácido/base pueden considerarse un "sistema regulador". Por tanto, la composición farmacéutica líquida comprende apropiadamente un "sistema regulador" (que comprende apropiadamente uno o más agentes reguladores y un conjugado o conjugados ácido/base del mismo), y cualquier concentración estipulada en relación con el sistema regulador se refiere generalmente a las concentraciones combinadas del agente o agentes reguladores y cualquier conjugado ácido/base de los mismos. Cualquier "sistema regulador" comprende apropiadamente un ácido débil y una base débil (véanse las definiciones anteriores).

De forma adecuada, el agente regulador es un agente regulador de citrato. De forma adecuada, el agente regulador de citrato es una sal de citrato, que comprende de forma adecuada citrato aniónico y uno o más contracciones farmacéuticamente aceptables. Una sal de citrato adecuada puede incluir una sal de citrato de metal (por ejemplo, un citrato de metal alcalino o un citrato de metal alcalinotérreo), o una sal de citrato no metálico (por ejemplo, citrato de amonio, citrato de trietilamonio). En una realización particular, el agente regulador (y la sal de citrato) es citrato de sodio.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende un conjugado ácido/base del agente regulador, más apropiadamente ácido cítrico como ácido conjugado de una sal de citrato. La combinación del agente regulador y su conjugado ácido/base constituye un sistema regulador. De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el agente regulador y su correspondiente conjugado ácido/base, apropiadamente de modo que juntos, el agente regulador y su conjugado ácido/base, estén presentes a un nivel (es decir, cantidad absoluta o concentración) y en una cantidad relativa (o concentración) suficiente para proporcionar el pH deseado para la composición. El sistema regulador puede formarse simplemente mezclando el agente regulador con su conjugado ácido/base o alternativamente puede formarse mezclando un ácido o base con el agente regulador o su conjugado ácido/base para formar in situ la mezcla deseada de agente regulador y conjugado ácido/base. Por ejemplo, el sistema regulador puede formarse simplemente mezclando el agente regulador de citrato (por ejemplo, citrato de sodio) con su conjugado ácido/base (es decir, ácido cítrico), de manera adecuada en una proporción apropiada para proporcionar el pH deseado. Alternativamente, el sistema regulador puede formarse agregando una base (por ejemplo, hidróxido de sodio) al conjugado ácido/base (es decir, ácido cítrico) del agente regulador de citrato, apropiadamente en una cantidad apropiada para proporcionar el pH deseado y la mezcla del agente regulador. (por ejemplo, citrato de sodio) y el correspondiente conjugado ácido/base (por ejemplo, ácido cítrico). Alternativamente, se puede emplear cualquier método de formación del sistema regulador, y el pH se puede ajustar con buen juicio añadiendo ácido adicional (ácido apropiadamente fuerte, como HCl) o base adicional (base apropiadamente fuerte, como hidróxido de sodio).

El sistema regulador es un sistema regulador de citrato, que comprende apropiadamente una sal citrato y ácido cítrico.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende como máximo un agente regulador.

De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida tiene un pH mayor o igual a 5,0, más apropiadamente mayor o igual a pH 5,4. De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida tiene un pH inferior o igual a 6,7, más apropiadamente inferior a 6,5.

En una realización particular, donde el agente regulador es un agente regulador de citrato, la composición farmacéutica líquida tiene un pH entre 5,2 y 6,2, más apropiadamente entre 5,4 y 6,0. En una realización particular, la composición farmacéutica líquida tiene un pH entre 5,7 y 5,9. En una realización particular, la composición farmacéutica líquida tiene un pH de aproximadamente 5,8.

De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende un sistema regulador (un sistema regulador de citrato que comprende un agente regulador de citrato) a una concentración de entre 5 y 14 mM, lo más convenientemente, aproximadamente 10 mM. En una realización, el sistema regulador está presente a una concentración de 10 mM. En una realización, la composición farmacéutica líquida comprende un sistema regulador de citrato de sodio/ácido cítrico a una concentración de 10 mM. Esto incluye cuando el "agente(s) regulador(s)" (por ejemplo, citrato de sodio) se forma mediante la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del o los agentes reguladores (por ejemplo, ácido cítrico).

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende la especie regulador (especie regulador de citrato) a una concentración de aproximadamente 0,38 mg/ml a aproximadamente 9,6 mg/ml. En una realización, las especies regulador están presentes a una concentración de entre 0,96 mg/ml y 2,69 mg/ml, lo más convenientemente, aproximadamente 1,9 mg/ml. Esto incluye cuando el "agente regulador" (por ejemplo, citrato de sodio) se forma mediante la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del agente regulador (por ejemplo, ácido cítrico).

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el sistema regulador de citrato en una relación molar de sistema regulador a adalimumab de aproximadamente 14:1 a aproximadamente 40:1, más apropiadamente aproximadamente 29:1. En una realización, el sistema regulador está presente a una concentración de 29:1. Esto incluye cuando el "agente(s) regulador" (por ejemplo, citrato de sodio) se forma mediante la adición de una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al ácido conjugado del agente regulador (por ejemplo, ácido cítrico).

Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un sistema regulador de citrato funcionan particularmente bien en las pruebas de estrés, especialmente en relación con la fragmentación y el desplegamiento de proteínas, que pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del fármaco. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas cuyo sistema regulador de citrato mantiene un pH constante de 5,8 funcionan particularmente bien.

Estabilizador de azúcar

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

10 La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más estabilizadores de azúcar, aunque en realizaciones preferidas solo está presente un único estabilizador de azúcar.

De forma adecuada, el estabilizador de azúcar es un poliol de azúcar (incluidos los alcoholes de azúcar) y/o un disacárido.

15 El estabilizador de azúcar se selecciona apropiadamente del grupo que incluye trehalosa, manitol, sacarosa, sorbitol, maltosa, lactosa, xilitol, arabitol, eritritol, lactitol, maltitol, inositol.

En una realización particular, el estabilizador de azúcar se selecciona del grupo que incluye trehalosa, manitol, sacarosa, maltosa, lactosa, xilitol, arabitol, eritritol, lactitol, maltitol, inositol.

20 En una realización particular, el estabilizador de azúcar es un azúcar no-reductor, opcionalmente un azúcar no reductor enumerado en cualquier lugar del presente documento.

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

25 En una realización particular, el estabilizador de azúcar es trehalosa. La trehalosa es un estabilizador de azúcar particularmente ventajoso para usar junto con un agente regulador/sistema regulador de citrato en formulaciones líquidas de adalimumab.

30 De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende como máximo un estabilizador de azúcar, apropiadamente como máximo un poliol de azúcar y/o disacárido. De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende trehalosa como único estabilizador de azúcar.

35 Apropiadamente, la trehalosa usada para formar la composición farmacéutica líquida es trehalosa dihidrato, aunque apropiadamente cualquier cantidad estipulada en relación con la trehalosa (a menos que se indique lo contrario - como se hace en los Ejemplos) pertenece a trehalosa anhidra pura. Estas cantidades se pueden convertir en una cantidad de trehalosa dihidrato aplicando un multiplicador apropiado. Además, con el fin de evaluar si una formulación dada cae dentro del alcance de cualquiera de las definiciones de cantidad de trehalosa que se dan en el presente documento, una cantidad de trehalosa dihidrato puede convertirse fácilmente en una cantidad correspondiente de trehalosa anhidra pura (con un número igual de moles) mediante la aplicación de dicho multiplicador a la inversa. Este principio puede adoptarse para cualquier componente estabilizador de azúcar. Las concentraciones, cuando se dan como concentración molar, serán por supuesto las mismas independientemente del estado de hidratación del estabilizador de azúcar.

45 De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el estabilizador o estabilizadores de azúcar (más apropiadamente trehalosa) a una concentración de aproximadamente 100 a aproximadamente 300 mM, más apropiadamente de aproximadamente 150 a aproximadamente 250 mM. En una realización, el estabilizador o estabilizadores de azúcar están presentes en una concentración de entre 190 y 210 mM, lo más convenientemente alrededor de 200 mM. En una realización, la trehalosa está presente a una concentración de 200 mM.

50 De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el estabilizador o estabilizadores de azúcar (más apropiadamente trehalosa) a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 140 mg/ml, más apropiadamente de aproximadamente 35 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml, más apropiadamente de aproximadamente 45 mg/ml a aproximadamente 80 mg/ml. En una realización, el estabilizador o estabilizadores de azúcar están presentes a una concentración de entre 65 mg/ml y 72 mg/ml, lo más convenientemente, aproximadamente 68 mg/ml. En una realización particular, la trehalosa está presente en una concentración de aproximadamente 68 mg/ml (que equivale a aproximadamente 75,7 mg/ml de trehalosa dihidrato).

60 De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el estabilizador o estabilizadores de azúcar (más apropiadamente trehalosa) en una relación molar de estabilizador o estabilizadores de azúcar a adalimumab de aproximadamente 290:1 a aproximadamente 860:1, más apropiadamente de aproximadamente 430:1 a aproximadamente 720:1. En una realización, el estabilizador o estabilizadores de azúcar está presente en una relación molar de estabilizador o estabilizadores de azúcar a adalimumab de aproximadamente 550:1 a aproximadamente 605:1, lo más convenientemente de aproximadamente 576:1. En una realización, la trehalosa está presente en una relación molar de trehalosa a adalimumab de aproximadamente 576:1.

65

Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un estabilizador de azúcar como se define en el presente documento funcionan particularmente bien en las pruebas de estrés, especialmente en relación con la agregación, fragmentación y desplegamiento de proteínas, que pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del fármaco. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden trehalosa como estabilizador de azúcar funcionan particularmente bien.

Diluyente

Las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención pueden incluir uno o más diluyentes farmacéuticamente aceptables o mezclas de los mismos. Sin embargo, lo más adecuado es que la composición farmacéutica líquida sea una composición farmacéutica acuosa. Lo más adecuado es que el diluyente sea agua y, de manera adecuada, agua sola. El agua es apropiadamente agua para inyección (API).

De forma adecuada, el diluyente puede constituir el equilibrio de ingredientes en cualquier composición farmacéutica líquida, por ejemplo, de modo que los porcentajes en peso sumen 100%. De manera adecuada, cualquier concentración dada en el presente documento en relación con cualquier componente de la composición farmacéutica líquida representa concentraciones de dicho componente en (y apropiadamente disuelto en) el diluyente en mezcla con cualquier otro componente.

La composición farmacéutica líquida de la invención es apropiadamente una solución y está convenientemente (sustancial o totalmente) libre de partículas o precipitados.

Componentes ausentes o de bajo nivel

Baja/Sin Arginina

De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de arginina (apropiadamente L-arginina) o comprende arginina en una concentración de como máximo 0,1 mM, más apropiadamente como máximo 0,01 mM, lo más adecuado como máximo 0,001 mM.

Apropiadamente, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de arginina o comprende arginina en una proporción molar de arginina a sistema regulador de como máximo 1:150 (es decir, menor o igual a un mol de arginina por cada 150 moles de sistema regulador), más apropiadamente como máximo 1:1500, más apropiadamente como máximo 1:15.000.

Apropiadamente, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de arginina o comprende arginina en una proporción en peso de arginina a adalimumab de como máximo 1:3000 (es decir, menor o igual a una parte en peso de arginina por cada 3000 partes por peso adalimumab), más apropiadamente como máximo 1:30.000, más apropiadamente como máximo 1:300.000.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de arginina o comprende arginina en una relación molar de arginina a adalimumab de como máximo 1:3,75 (es decir, menos de o igual a un mol de arginina por cada 3,75 moles de adalimumab), más apropiadamente como máximo 1:37,5, más apropiadamente como máximo 1:375.

Como se explica en el presente documento, dichas referencias a "arginina" en el contexto de su presencia o de otro modo dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a los correspondientes aminoácidos libres y no a los residuos de aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un compuesto mayor, como como péptido o proteína.

Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (sustancial o totalmente) excluyen la arginina funcionan particularmente bien en las pruebas de estrés, especialmente en relación con la agregación, fragmentación y desplegamiento de proteínas.

Baja/Sin Aminoácidos

Apropiadamente, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una concentración (colectiva) de como máximo 0,1 mM, más apropiadamente como máximo 0,01 mM, más apropiadamente como máximo 0,001 mM.

De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una relación molar (colectiva) de aminoácidos a sistema regulador de como máximo 1:150 (es decir, menos de o igual a un mol de aminoácido(s) por cada 150 moles de sistema regulador), más apropiadamente como máximo 1:1500, más apropiadamente como máximo 1:15.000.

Apropiadamente, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una relación en peso (colectiva) de aminoácido(s) a adalimumab de como máximo 1:3000 (es decir, menor o igual a una parte en peso de aminoácido(s) por cada 3000 partes en peso de adalimumab), más apropiadamente como máximo 1:30.000, más apropiadamente como máximo 1:300.000.

De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una relación molar (colectiva) de aminoácido(s) a adalimumab de como máximo 1:3,75 (es decir, menor o igual a un mol de aminoácido(s) por cada 3,75 moles de adalimumab), más apropiadamente como máximo 1:37,5, más apropiadamente como máximo 1:375.

Como se explica en el presente documento, dichas referencias a "aminoácidos" en el contexto de su presencia o de otro modo dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a los correspondientes aminoácidos libres y no a los residuos de aminoácidos incorporados covalentemente como parte de un compuesto mayor, como un péptido o una proteína.

De forma adecuada, los aminoácidos a los que se hace referencia en esta sección (y que se consideran ausentes o presentes en cantidades bajas) pueden ser aminoácidos naturales y/o artificiales, aunque preferiblemente son aminoácidos naturales. En particular, las composiciones farmacéuticas líquidas están (sustancial o totalmente) libres de cualquier aminoácido seleccionado del grupo que incluye: arginina, lisina, ácido aspártico e histidina; o comprende uno o más de los aminoácidos antes mencionados en una cantidad, concentración, relación molar o relación en peso como se definió anteriormente en relación con "aminoácido(s)".

Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que (sustancial o totalmente) excluyen aminoácidos o ciertos aminoácidos, como se definió anteriormente, funcionan particularmente bien en pruebas de estrés, especialmente en relación con la agregación, fragmentación y desplegamiento de proteínas.

Baja/Sin Fosfato

Apropiadamente, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de agentes reguladores de fosfato (por ejemplo, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio) o comprende un sistema regulador de fosfato en una concentración de como máximo 0,1 mM, más apropiadamente como máximo 0,01 mM, apropiadamente como máximo 0,001 mM.

Apropiadamente, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de agentes reguladores de fosfato (por ejemplo, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio) o comprende un sistema regulador de fosfato en una relación molar de sistema regulador de fosfato a cualquier sistema regulador sin fosfato presente de como máximo 1:150 (es decir, menos de o igual a un mol de sistema regulador fosfato por cada 150 moles de sistema regulador sin-fosfato presente), más apropiadamente como máximo 1:1500, lo más convenientemente como máximo 1:15.000.

Apropiadamente, la composición farmacéutica líquida está (sustancial o totalmente) libre de agentes reguladores de fosfato o comprende un sistema regulador de fosfato en una relación molar de sistema regulador de fosfato a adalimumab de como máximo 1:3,75 (es decir, menor o igual a un mol de fosfato sistema regulador por cada 3,75 moles de adalimumab), más apropiadamente como máximo 1:37,5, más apropiadamente como máximo 1:375.

Las referencias a "agentes reguladores de fosfato" en el contexto de su presencia o de otro modo dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas se refieren a cualquier sal de fosfato en cualquier forma o estado de protonación, incluyendo fosfato, monohidrógeno fosfato y dihidrógeno fosfato. Sin embargo, excluye apropiadamente cualquier resto o resto fosfato que pueda incorporarse covalentemente como parte de un compuesto mayor, tal como un péptido o proteína fosforilado o glicosilado.

Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que excluyen (sustancial o totalmente) los agentes reguladores de fosfato se comportan particularmente bien en las pruebas de estrés, especialmente en relación con la agregación, fragmentación y desplegamiento de proteínas.

Componentes adicionales

Agente de tonicidad

La composición farmacéutica líquida de la invención incluye un "modificador de tonicidad" (o "agente de tonicidad") o uno o más agentes de tonicidad, apropiadamente como se define en el presente documento.

La inclusión de un agente de tonicidad contribuye apropiadamente a (o aumenta) la osmolalidad y osmolaridad generales de la composición. De forma adecuada, está presente un agente de tonicidad dentro de la composición en una cantidad o concentración suficiente para que la composición sea (sustancialmente) isotónica con los fluidos

corporales. De manera adecuada, está presente un agente de tonicidad dentro de la composición en una cantidad o concentración suficiente para que la composición tenga una osmolaridad u osmolalidad dentro de un intervalo definido en el presente documento.

5 Puede usarse cualquier agente de tonicidad adecuado. Sin embargo, de forma adecuada, el agente de tonicidad se selecciona del grupo que incluye sales metálicas solubles en agua (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de calcio), azúcares, agente de tonicidad solubles en agua/alcoholes de azúcar (por ejemplo, glucosa, sacarosa, manitol) y/u otros polioles solubles en agua. De forma adecuada, el o los agentes de tonicidades no son regulados (es decir, dan lugar a un efecto regulador pequeño o nulo). Como tal, cualquier agente de tonicidad de sales metálicas no son apropiadamente agentes reguladores.

10 La composición farmacéutica líquida puede comprender uno o más agentes de tonicidad, aunque preferiblemente solo está presente un único "agente de tonicidad" como tal (a pesar de cualquier efecto de tonicidad impartido a la composición por componentes destinados a cumplir otra función como se define en el presente documento).

15 Lo más preferiblemente, el agente de tonicidad es o comprende una sal metálica (preferiblemente una sal metálica soluble en agua no regulador). De manera adecuada, dicha sal metálica es o comprende un haluro metálico, apropiadamente un haluro de metal alcalino o alcalinotérreo, apropiadamente un cloruro de metal alcalino.

20 En una realización particular, el agente de tonicidad es o comprende cloruro de sodio. En una realización particular, el agente de tonicidad es cloruro de sodio. El cloruro de sodio es un estabilizador particularmente ventajoso para uso junto con un agente regulador de citrato/sistema regulador en formulaciones líquidas de adalimumab.

25 De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el o los agentes de tonicidad (más apropiadamente cloruro de sodio) a una concentración de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 mM, más apropiadamente de aproximadamente 20 a aproximadamente 100 mM, más apropiadamente de aproximadamente 25 a aproximadamente 75 mM. En una realización, el o los agentes de tonicidad están presentes a una concentración de entre 40 y 60 mM, lo más convenientemente alrededor de 50 mM. En una realización, el cloruro de sodio está presente a una concentración de 50 mM.

30 De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el agente de tonicidad (más apropiadamente cloruro de sodio) a una concentración de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 12 mg/ml, más apropiadamente de aproximadamente 1,2 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, más apropiadamente de aproximadamente 1,5 mg/ml a aproximadamente 4,4 mg/ml. En una realización, el o los agentes de tonicidad están presentes a una concentración de entre 2,7 mg/ml y 3,1 mg/ml, lo más convenientemente, aproximadamente 2,9 mg/ml. En una realización particular, el cloruro de sodio está presente en una concentración de aproximadamente 29 mg/ml.

35 De manera adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el o los agentes de tonicidad (más apropiadamente cloruro de sodio) en una relación molar de agente de tonicidad a adalimumab de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 580:1, más apropiadamente de aproximadamente 60:1 a aproximadamente 290:1, más apropiadamente de aproximadamente 70:1 a aproximadamente 220:1. En una realización, el o los agentes de tonicidad están presentes en una relación molar de agente de tonicidad a adalimumab de aproximadamente 115:1 a aproximadamente 175:1, más apropiadamente aproximadamente 145:1. En una realización, el cloruro de sodio está presente en una relación molar de cloruro de sodio a adalimumab de aproximadamente 145:1.

40 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un agente de tonicidad como se define en el presente documento funcionan particularmente bien en las pruebas de estrés, especialmente en relación con la agregación, fragmentación y desplegamiento de proteínas, que pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del fármaco. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden cloruro de sodio, particularmente en un intervalo de cantidades según lo estipulado, funcionan particularmente bien.

45 Tensioactivo

50 La composición farmacéutica líquida de la invención incluye un tensioactivo o uno o más tensioactivos, apropiadamente como se define en el presente documento, presentes en una cantidad en comparación con el adalimumab tal que la relación molar de adalimumab a tensioactivo de azúcar es 1:0,1-3,2.

55 La inclusión de un tensioactivo contribuye de forma adecuada a la estabilización de la proteína adalimumab.

60 Puede usarse cualquier tensioactivo adecuado. Sin embargo, apropiadamente el tensioactivo es un tensioactivo no iónico, más apropiadamente un Polisorbato (ésteres de alquilo de polioxietilenglicol y sorbitán) o un tensioactivo de Span (ésteres de alquilo de sorbitán).

65

Aunque se pueden incluir uno o más tensioactivos dentro de la composición farmacéutica líquida de la invención, lo más convenientemente es que sólo esté presente un único tensioactivo, lo más convenientemente un único tensioactivo no iónico (apropiadamente como se define en el presente documento).

5 Los tensioactivos se seleccionan apropiadamente de Polisorbato 20 (Polioxietilen (20) monolaurato de sorbitán), Polisorbato 40 (Polioxietilen (20) monopalmitato de sorbitán), Polisorbato 60 (Polioxietilen (20) monoestearato de sorbitán), Polisorbato 80 (Polioxietileno (20) sorbitán monooleato), Monolaurato de sorbitán, Monopalmitato de sorbitán, Monoestearato de sorbitán, Triestearato de sorbitán y/o Monooleato de sorbitán.

10 En una realización particular, el o los tensioactivos se seleccionan de Polisorbato 20, Polisorbato 40, Polisorbato 60 y/o Polisorbato 80. En una realización particular, la composición farmacéutica líquida comprende un único tensioactivo seleccionado entre Polisorbato 20, Polisorbato 40, Polisorbato 60 y Polisorbato 80.

15 En una realización particular, el tensioactivo es Polisorbato 80 o Polisorbato 20. En una realización particular, el tensioactivo es Polisorbato 80.

20 De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el (los) tensioactivo(s) (más apropiadamente Polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 5 mM (es decir, 0,1 μ M)-5 mM), más apropiadamente de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 2 mM, más apropiadamente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1,0 mM. En una realización, el (los) tensioactivo(s) está presente en una concentración de entre 0,72 y 0,80 mM, más apropiadamente alrededor de 0,76 mM. En una realización, el Polisorbato 80 está presente a una concentración de 0,76 mM.

25 De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el(los) tensioactivo(s) (más apropiadamente Polisorbato 80) a una concentración de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, más apropiadamente de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 2 mg/ml, más apropiadamente de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 1,5 mg/ml. En una realización, el (los) tensioactivo(s) está presente en una concentración de entre 0,9 mg/ml y 1,1 mg/ml, lo más convenientemente, aproximadamente 1,0 mg/ml. En una realización particular, el Polisorbato 80 está presente a una concentración de aproximadamente 1,0 mg/ml.

30 De forma adecuada, la composición farmacéutica líquida comprende el (los) tensioactivo(s) (más apropiadamente Polisorbato 80) en una relación molar de tensioactivo(s) a adalimumab de aproximadamente 1:3500 a aproximadamente 15:1, más apropiadamente de aproximadamente 1:350 a aproximadamente 6:1, más apropiadamente de aproximadamente 1:35 a aproximadamente 3:1. En una realización, el (los) tensioactivo(s) está presente en una relación molar de tensioactivo(s) a adalimumab de aproximadamente 2,1:1 a aproximadamente 2,3:1, lo más convenientemente de aproximadamente 2,2:1. En una realización, el Polisorbato 80 está presente en una relación molar de Polisorbato 80 a adalimumab de aproximadamente 2,2:1.

35 Como se ilustra en la sección de Ejemplos, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención que incluyen un tensioactivo como se define en el presente documento funcionan particularmente bien en las pruebas de estrés, especialmente en relación con la agregación, fragmentación y desplegamiento de proteínas, que pueden ser indicadores importantes de estabilidad y viabilidad del fármaco. Además, las composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden Polisorbato, particularmente en un intervalo de cantidades según lo estipulado, funcionan particularmente bien.

Otros parámetros relacionados con la invención

Osmolalidad

40 Apropriadamente, la osmolalidad de la composición farmacéutica líquida está entre 200 y 405 mOsm/kg, más apropiadamente entre 220 y 390 mOsm/kg, más apropiadamente entre 230 y 350 mOsm/kg, más apropiadamente entre 240 y 340 mOsm/kg, más apropiadamente entre 260 y 320 mOsm/kg, más apropiadamente entre 280 y 310 mOsm/kg. De manera adecuada, las cantidades y concentraciones relativas de los diversos componentes de la composición pueden ajustarse con buen juicio para lograr la osmolalidad deseada, y la nueva combinación particular de componentes permite que esto se logre en gran medida sin socavar otros parámetros importantes. Sin embargo, de manera adecuada, las cantidades y concentraciones relativas de los diversos componentes de la composición pueden seleccionarse para optimizar otros parámetros -la presente divulgación, que incluye los Ejemplos y protocolos establecidos en la misma, permite al experto en la materia lograr este fin y realizar una, algunos o todos los beneficios de la presente invención-.

Temperatura de desplegamiento de proteínas

45 De manera adecuada, la temperatura de desplegamiento de la proteína (medida apropiadamente mediante los protocolos DSF definidos en el presente documento) de adalimumab en la composición farmacéutica líquida de la invención es mayor o igual a 65°C, más apropiadamente mayor o igual a 70°C. La nueva combinación de

componentes presentes en la composición de la invención permite al experto alcanzar altas temperaturas de desplegamiento, que pueden considerarse deseables desde la perspectiva de la estabilidad térmica.

Parámetros cuando se somete a estrés térmico

5 Apropriadamente, la cantidad (o concentración) de agregados (apropiadamente derivados de adalimumab, y apropiadamente según lo determinado por los protocolos SE-HPLC como se definen en el presente documento) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad en relación con un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a tensión térmica a 40°C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40°C) durante un período de 28 días, apropiadamente por no más de un factor de 3, apropiadamente por no más de un factor de 2,5, convenientemente no más de un factor de 2,2.

15 Apropriadamente, la cantidad (o concentración) de fragmentos (apropiadamente derivados de adalimumab y medidos apropiadamente a través de los protocolos de Bioanalyzer definidos en el presente documento) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a estrés térmico a 40°C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40°C) durante un período de 28 días, apropiadamente por un factor de no más de 3, apropiadamente por un factor de no más de 2,5, convenientemente por no más de un factor de 2,2.

20 Apropriadamente, la turbidez (apropiadamente medida mediante nefelometría de acuerdo con los protocolos establecidos en el presente documento) de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición es sometida a estrés térmicamente a 40°C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40°C) durante un período de 28 días, apropiadamente por un factor de no más de 1,5, de manera adecuada por un factor de no más de 1,2, y apropiadamente la turbidez no aumenta en absoluto.

25 De forma adecuada, el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (ya sea mediante aumento o disminución, aunque generalmente mediante una disminución del pH) en no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a estrés térmico a 40°C (es decir, la composición se mantiene a una temperatura de 40°C) durante un período de 28 días, convenientemente en no más de 0,2 unidades de pH, convenientemente en no más de 0,1 unidades de pH, lo más convenientemente el pH no cambia en absoluto (hasta una posición decimal).

Parámetros cuando se somete a esfuerzos mecánicos

35 Apropriadamente, la cantidad (o concentración) de agregados (apropiadamente derivados de adalimumab, y apropiadamente según lo determinado por los protocolos SE-HPLC como se definen en el presente documento) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad en relación con un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a tensión mecánicamente (es decir, se agita según los protocolos delineados en el presente documento) durante un período de 48 horas, apropiadamente por un factor de no más de 1,5, de manera adecuada por un factor de no más de 1,2, de manera adecuada por un factor de no más de 1,1.

45 Apropriadamente, la cantidad (o concentración) de fragmentos (apropiadamente derivados de adalimumab y medidos apropiadamente mediante los protocolos de Bioanalyzer definidos en el presente documento) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a tensión mecánicamente (es decir, se agita según los protocolos delineados en el presente documento) durante un período de 48 horas, apropiadamente por un factor de no más de 1,5, de manera adecuada por un factor de no más de 1,2, apropiadamente por un factor de no más de 1,1.

50 De manera adecuada, la turbidez (apropiadamente medida mediante nefelometría de acuerdo con los protocolos establecidos en el presente documento) de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a tensión mecánicamente (es decir, agitado según los protocolos delineados en el presente documento) durante un período de 48 horas, apropiadamente por no más de factor de 1,5, apropiadamente por no más de factor de 1,2, apropiadamente por no más de factor de 1,1, y convenientemente la turbidez no aumenta en absoluto.

55 De manera adecuada, el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (ya sea por aumento o disminución, aunque generalmente por una disminución del pH) en no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición se somete a tensión mecánica (es decir, se agita según los protocolos delineados en el presente documento) durante un período de 48 horas, convenientemente en no más de 0,2 unidades de pH, convenientemente en no más de 0,1 unidades de pH, lo más convenientemente el pH no cambia en absoluto (hasta una posición decimal).

60 Parámetros cuando se somete a tensión ligera

65

5 Apropriadamente, la cantidad (o concentración) de agregados (apropiadamente derivados de adalimumab, y apropiadamente según lo determinado por los protocolos SE-HPLC como se definen en el presente documento) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 50 (es decir, 50 veces la cantidad con respecto a un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos divulgados en el presente documento, es decir, 7 horas a 765 W/m²), apropiadamente por un factor de no más de 45, apropiadamente en ningún más de un factor de 35, convenientemente no más de un factor de 30.

10 Apropriadamente, la cantidad (o concentración) de fragmentos (apropiadamente derivados de adalimumab y medidos apropiadamente a través de los protocolos de Bioanalyzer definidos en el presente documento) presentes dentro de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 4 (es decir, 4 veces la cantidad relativa a un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos divulgados en el presente documento, es decir, 7 horas a 765 W/m²), apropiadamente por un factor de no más de 3, apropiadamente por un factor de no más de 2,5, convenientemente por no más de un factor de 2.

15 Apropriadamente, la turbidez (apropiadamente medida mediante nefelometría de acuerdo con los protocolos establecidos en el presente documento) de la composición farmacéutica líquida aumenta por no más de un factor de 2 (es decir, 2 veces la cantidad relativa a un tiempo de inicio arbitrario) cuando la composición es sometida a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos divulgados en el presente documento, es decir, 7 horas a 765 W/m²), apropiadamente por no más de un factor de 1,5, apropiadamente por no más de un factor de 1,2, y apropiadamente la turbidez no aumenta en absoluto.

20 Apropriadamente, el pH de la composición farmacéutica líquida cambia (ya sea mediante aumento o disminución, aunque generalmente mediante una disminución del pH) en no más de 0,5 unidades de pH cuando la composición está sometida a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos divulgados En el presente documento, es decir, 7 horas a 765 W/m²), apropiadamente en no más de 0,2 unidades de pH, apropiadamente en no más de 0,1 unidades de pH, lo más convenientemente el pH no cambia en absoluto (hasta un decimal).

25 Apropriadamente, el perfil de isoformas de adalimumab, en particular el área integrada del "pico principal", en la composición farmacéutica líquida (medido apropiadamente mediante enfoque isoelectrónico, apropiadamente cIEF, apropiadamente usando un iCE280, apropiadamente empleando un protocolo como se establece en el presente documento) es razonablemente estable cuando la composición se somete a estrés lumínico (es decir, la composición se expone a la luz de acuerdo con los protocolos divulgados en el presente documento, es decir, 7 horas a 765 W/m²). De forma adecuada, el estrés lumínico se realiza de acuerdo con las directrices actuales ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicamentos (en relación con las pruebas de fotoestabilidad de nuevas sustancias activas y fármacos), como se ilustra en el documento CPMP /ICH/279/95. Apropriadamente, el perfil de isoformas del adalimumab dentro de la composición, medido por referencia al área integrada del "pico principal" relacionado con el adalimumab en un electroferograma producido por enfoque isoelectrónico (apropiadamente enfoque isoelectrónico capilar como se describe en el presente documento, u opcionalmente otro protocolos estándar de enfoque isoelectrónico bien conocidos en la técnica), cambios en no más del 20% cuando se somete a estrés lumínico (apropiadamente 7 horas de exposición a 765 W/m² de luz, de acuerdo con las directrices actuales de ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicamentos, documento adecuado CPMP/ICH/279/95). Apropriadamente, el perfil de isoformas de adalimumab dentro de la composición (medido apropiadamente por referencia al área integrada del "pico principal" relacionado con adalimumab) no cambia en más del 15% (ya sea un aumento o una reducción en el área del pico) cuando se somete a estrés lumínico de esta manera, apropiadamente en no más del 10%, apropiadamente en no más del 5%, apropiadamente en no más del 4%. Las composiciones de adalimumab de la técnica anterior exhiben una estabilidad de perfil de isoformas inferior debido al fenómeno de fotooxidación que se inhibe debidamente mediante el uso de un regulador de citrato dentro de las composiciones farmacéuticas líquidas particulares de la invención. Como tal, en las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención, el adalimumab exhibe una fotoestabilidad superior. En una realización particular, el adalimumab tiene una fotoestabilidad en la composición farmacéutica líquida de la invención mayor que las formulaciones comerciales de HUMIRA® como se definen en el presente documento (apropiadamente como se indica por los perfiles de isoformas relativos, particularmente en relación con el pico principal de adalimumab). Se entenderá que el "pico principal" correspondiente a adalimumab se refiere al pico principal de adalimumab de un electroferograma (es decir, el que tiene el área de pico integrada más alta) resultante de las mediciones de enfoque isoelectrónico, apropiadamente realizadas como se define en el presente documento. De manera adecuada, el electroferograma se adquiere a 280 nm, apropiadamente durante tiempos de preenfoco y de enfoque de 1 y 6 minutos respectivamente, de manera adecuada a un voltaje de 1500 V (preenfoco) y 3000 V (enfoco). De forma adecuada, los picos son picos de absorbancia, de forma adecuada a 280 nm. La separación de las diversas isoformas se consigue apropiadamente usando hidróxido de sodio 100 mM (en metilcelulosa al 0,1%) como solución catódica y apropiadamente ácido o-fosfórico 80 mM (en metilcelulosa al 0,1%) como solución anódica. Apropriadamente, las muestras para mediciones de enfoque isoelectrónico se preparan de acuerdo con un protocolo definido en el presente documento o en cualquier otro lugar de la técnica, pero en particular pueden involucrar apropiadamente uno o más o todos de: i) purificación; ii) eliminación de sales (por ejemplo, con centrifugación, apropiadamente con un corte a 10 kDa); iii)

predilución para dar un contenido de proteína de aproximadamente 5,0 mg/ml, apropiadamente aproximadamente 1,0 mg/ml, en el que el diluyente puede incluir opcionalmente metilcelulosa, Pharmalyte 5-8 (GE Healthcare), Pharmalyte 8-10,5 (GE Healthcare), marcador de pl bajo 7,05 (Protein Simple), marcador de pl alto 9,50 (Protein Simple) y agua purificada; iv) una o más etapas de centrifugación adicionales (por ejemplo, 3 minutos a 10.000 rpm, apropiadamente seguidas de 2 minutos a 7000 rpm, apropiadamente en una muestra de 150 microlitros). El enfoque isoelectrónico es apropiadamente enfoque isoelectrónico capilar (cIEF), y se realiza apropiadamente usando un sistema iCE280 de Protein Simple.

Métodos de estabilización de anticuerpos.

En vista de los puntos mencionados anteriormente en esta subsección, y los datos presentados en los Ejemplos, la presente invención también proporciona un método para estabilizar las composiciones líquidas de adalimumab (química y/o físicamente opcionalmente en relación con uno o más de los parámetros/propiedades mencionados anteriormente), que comprende mezclar con adalimumab con cualquier componente relevante requerido para formar una composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento. Diferentes realizaciones requerirán de manera adecuada que se mezclen diferentes combinaciones de componentes, potencialmente en diferentes cantidades, y el experto en la materia puede deducir fácilmente tales combinaciones y cantidades haciendo referencia a la divulgación anterior relacionada con la composición farmacéutica líquida. Estas diferentes combinaciones de componentes pueden estabilizar las composiciones líquidas de adalimumab en diferentes aspectos. Por ejemplo, mezclar adalimumab con los componentes mencionados anteriormente para formar una composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento puede estabilizar al adalimumab mediante:

i) Aumentar la temperatura de desplegamiento de las proteínas de adalimumab;

ii) inhibir la formación de agregados;

iii) inhibir la formación de fragmentos;

iv) inhibir la formación de partículas subvisibles (≤ 25 micrómetros o ≤ 10 micrómetros);

v) inhibir la turbidificación;

vi) inhibir los cambios de pH;

vii) inhibir la fotooxidación; y/o

viii) Reducir la inestabilidad en los ciclos de congelación/descongelación.

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

i) Aumento de la temperatura de desplegamiento de proteínas para adalimumab;

ii) Inhibición de la formación de agregados;

iii) Inhibición de la formación de fragmentos;

iv) Inhibición de la formación de partículas subvisibles (≤ 25 micrómetros o ≤ 10 micrómetros);

v) inhibición de la turbidificación;

vi) Inhibición de cambios de pH;

vii) Inhibición de la fotooxidación;

viii) Reducción de la inestabilidad en los ciclos de congelación/descongelación; y/o

ix) Estabilización del perfil de isoformas (especialmente con respecto al "pico principal" como se define en el presente documento);

comprendiendo el método fabricar una composición farmacéutica líquida de adalimumab como se define en el presente documento.

De manera adecuada, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención tienen una vida útil de al menos 6 meses, apropiadamente al menos 12 meses, apropiadamente al menos 18 meses, más apropiadamente al menos 24 meses. De manera adecuada, las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención tienen una vida útil de al

menos 6 meses, apropiadamente al menos 12 meses, apropiadamente al menos 18 meses, más apropiadamente al menos 24 meses, a una temperatura de 2-8°C.

Permitir al experto optimizar las propiedades clave de estabilidad

5 La novedosa combinación de componentes divulgada para su uso en composiciones farmacéuticas líquidas de la invención permite al experto producir composiciones (y con buen juicio de tubo aleteado) que exhiben propiedades comparables o mejoradas en relación con las composiciones de la técnica anterior. En particular, la presente divulgación ahora proporciona al experto en la materia todas las herramientas necesarias para optimizar la estabilidad de la formulación y, en particular, optimizar una o más de: inhibición de la agregación, fragmentación, desplegamiento de proteínas, precipitación, desplazamiento del pH y oxidación (especialmente fotooxidación). Además, la persona experta recibe orientación sobre cómo lograr tales optimizaciones (variando con buen juicio las composiciones) y cómo, en el proceso, minimizar cualquier efecto secundario perjudicial. La presente divulgación permite al experto trabajar en todo el alcance de la invención para producir una variedad de composiciones específicas que exhiben propiedades comparables o mejoradas con respecto a las composiciones de la técnica anterior, y esto se puede lograr usando menos componentes.

Realizaciones particulares

20 La composición farmacéutica líquida de la presente invención consta de adalimumab, sistema regulador de citrato, estabilizador de azúcar, agente de tonicidad y tensioactivo en una relación molar de 1: 14-40: 288-865: 28-576: 0,1-3,2 respectivamente.

25 También se describe una composición farmacéutica líquida que comprende adalimumab, sistema regulador de citrato, estabilizador de azúcar, agente de tonicidad y tensioactivo en una relación molar de 1: 14-40: 548-605: 115-173: 2-2,4 respectivamente.

30 También se describe una composición farmacéutica líquida que puede consistir en adalimumab, sistema regulador de citrato de sodio/ácido cítrico, trehalosa, cloruro de sodio y Polisorbato 80 en una proporción molar de 1:5,7-145: 288-865:28-576:0,002-11 respectivamente.

35 También se describe una composición farmacéutica líquida que puede consistir en adalimumab, sistema regulador de citrato de sodio/ácido cítrico, trehalosa, cloruro de sodio y Polisorbato 80 en una proporción molar de 1:14-40:548-605:115-173:2-2,4 respectivamente;

- una composición farmacéutica líquida que puede consistir en adalimumab, sistema regulador de citrato de sodio/ácido cítrico, trehalosa, cloruro de sodio y Polisorbato 80 en una relación molar de 1:28,8:576:144:2,2 respectivamente;

40 - una composición farmacéutica líquida que puede consistir en adalimumab, especies regulador de citrato, trehalosa, cloruro de sodio y Polisorbato 80 en una proporción en peso de 25-75:0,38-9,6:15-140:0,5-12:0,01-2 respectivamente; a composición farmacéutica líquida que puede consistir en adalimumab, especies regulador de citrato, trehalosa, cloruro de sodio y Polisorbato 80 en una relación en peso de 45-55:0,96-2,69:65-72:2,7-3,1:0,9-1,1 respectivamente; y

45 - una composición farmacéutica líquida que puede consistir en adalimumab, especies regulador de citrato, trehalosa, cloruro de sodio y Polisorbato 80 en una proporción en peso de 50:1,9:68:2,9:1 respectivamente.

50 Cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente relativas a las proporciones molares y/o en peso de los diversos componentes puede definirse adicionalmente por referencia a la ausencia (sustancial o total) o niveles bajos de componente(s) tales como arginina, aminoácidos, tensioactivos (opcionalmente con la excepción del Polisorbato 80) y/o agentes/sistemas reguladores de fosfato, como se define en cualquier lugar del presente documento.

55 Se apreciará que el agente regulador (por ejemplo, citrato de sodio) o el sistema regulador (citrato/ácido cítrico) de cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente se puede incorporar directamente a las composiciones o se pueden producir in situ, por ejemplo, mediante una reacción ácido-base, apropiadamente haciendo reaccionar un ácido conjugado del agente regulador (por ejemplo, ácido cítrico) con una base (por ejemplo, hidróxido de sodio). Independientemente del método utilizado para proporcionar o producir el agente regulador o el sistema regulador, de forma adecuada la composición resultante comprende en última instancia un equilibrio apropiado del agente regulador y cualquier conjugado ácido/base para proporcionar el pH deseado. El experto en la materia podrá calcular fácilmente o determinar experimentalmente, sin un esfuerzo indebido, el equilibrio adecuado de agente regulador y conjugado ácido/base, y/o la cantidad de base que debe añadirse a un ácido conjugado para producir la cantidad apropiada de agente regulador y proporcionar el pH deseado.

65 En una realización, la composición farmacéutica líquida puede consistir en:

- adalimumab;
- 5 - un agente regulador de citrato (por ejemplo, citrato de sodio) (o sistema regulador de citrato);
- un estabilizador de azúcar (por ejemplo, trehalosa);
- un agente de tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio);
- 10 - un tensioactivo (por ejemplo, Polisorbato 80); y
- agua (para inyección);
- en la que la composición:
- 15
 - está (sustancialmente o totalmente) libre de arginina (apropiadamente L-arginina); comprende arginina en una concentración de como máximo 0,1 mM;
 - 20 ◦ está (sustancial o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una concentración (colectiva) de como máximo 0,1 mM; y,
 - está (sustancialmente o totalmente) libre de agentes reguladores de fosfato (por ejemplo, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio) o comprende un sistema regulador de fosfato en una concentración de como máximo 0,1 mM.
- 25 En una realización, la composición farmacéutica líquida puede consistir en:
 - Adalimumab (50 mg/ml);
 - 30 - un sistema regulador de citrato de 5 a 14 mM (por ejemplo, citrato de sodio/ácido cítrico);
 - 100 a aproximadamente 300 mM de un estabilizador de azúcar (por ejemplo, trehalosa);
 - un agente de tonicidad de 10 a aproximadamente 200 mM (por ejemplo, cloruro de sodio);
 - 35 - de 0,05 mg/ml a aproximadamente 1,5 mg/ml de tensioactivo (por ejemplo, Polisorbato 80); y
 - agua (para inyección);
 - 40 - en la que la composición:
 - tiene un pH entre 5,4 y 6,2 (por ejemplo, pH 5,8)
 - 45 ◦ está (sustancial o totalmente) libre de arginina (apropiadamente L-arginina); comprende arginina en una concentración de como máximo 0,1 mM;
 - está (sustancial o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una concentración (colectiva) de como máximo 0,1 mM; y,
 - 50 ◦ está (sustancial o totalmente) libre de agentes reguladores de fosfato (por ejemplo, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio) o comprende un sistema regulador de fosfato en una concentración de como máximo 0,1 mM.
 - 55 En una realización, la composición farmacéutica líquida puede consistir en:
 - 50 mg/ml de adalimumab;
 - un sistema regulador de citrato de sodio/ácido cítrico de 5 a 14 mM;
 - 60 - trehalosa de 190 a 210 mM;
 - cloruro de sodio de 40 a 60 mM;
 - 0,9 mg/ml y 1,1 mg/ml de Polisorbato 80; y
 - 65 - agua (para inyección);

- donde la composición:

◦ tiene un pH entre 5,7 y 5,9;

◦ está (sustancial o totalmente) libre de arginina (apropiadamente L-arginina) o comprende arginina en una concentración de como máximo 0,001 mM;

◦ está (sustancial o totalmente) libre de aminoácidos o comprende uno o más aminoácidos en una concentración (colectiva) de como máximo 0,001 mM, y

◦ está (sustancial o totalmente) libre de agentes reguladores de fosfato (por ejemplo, dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio) o comprende un sistema de regulador de fosfato en una concentración de como máximo 0,001 mM.

En una realización, la composición farmacéutica líquida puede consistir en:

- 50 mg/ml de adalimumab;

- un sistema regulador de citrato de sodio/ácido cítrico 10 mM;

- trehalosa 200 mM;

- cloruro de sodio 50 mM;

- 1,0 mg/ml de Polisorbato 80; y

- agua (para inyección);

- donde la composición:

◦ tiene un pH de 5,8;

◦ no contiene arginina;

◦ está libre de aminoácidos; y

◦ está libre de sistemas reguladores de fosfato.

Método de fabricación de una composición farmacéutica líquida.

En el presente documento se describe un método de fabricación de una composición farmacéutica líquida, apropiadamente como se define en el presente documento. El método comprende de manera adecuada mezclar juntos, en cualquier orden particular que se considere apropiado, cualquier componente relevante requerido para formar una composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento. El experto en la materia puede referirse a los Ejemplos o a técnicas bien conocidas en el arte para formar composiciones farmacéuticas líquidas (especialmente aquellas para inyección mediante jeringa). Diferentes realizaciones requerirán de manera adecuada que se mezclen diferentes combinaciones de componentes, potencialmente en diferentes cantidades. El experto en la materia puede deducir fácilmente tales combinaciones y cantidades haciendo referencia a la divulgación anterior relacionada con la composición farmacéutica líquida.

De manera adecuada, el método implica mezclar juntos los componentes relevantes de manera adecuada, en un diluyente (por ejemplo, agua), de manera adecuada de modo que todos los componentes se disuelven (sustancial o totalmente) en el diluyente.

El método puede implicar la preparación de una premezcla (o presolución) de algunos o todos los componentes (opcionalmente con parte o todo el diluyente) excluyendo adalimumab, y el adalimumab puede entonces en sí mismo (opcionalmente con o predisolto en algunos de los diluyente) mezclarse con la premezcla (o presolución) para producir la composición farmacéutica líquida, o una composición a la que luego se añaden los componentes finales para proporcionar la composición farmacéutica líquida final. Lo más adecuado es que la premezcla contenga todos los componentes excepto el adalimumab y, opcionalmente, también algo de diluyente (que se puede usar para predisolver el adalimumab), de manera adecuada para que el adalimumab se agregue a una mezcla que ofrezca una estabilización óptima de adalimumab. De forma adecuada, la premezcla mencionada anteriormente se prepara con el pH deseado para la formulación farmacéutica líquida final.

De forma adecuada, el método implica formar un sistema regulador, de forma adecuada un sistema regulador que comprende un agente regulador como se define en el presente documento. El sistema regulador se forma apropiadamente en una premezcla antes de la adición de adalimumab, aunque el sistema regulador se puede formar opcionalmente con adalimumab presente. El sistema regulador puede formarse simplemente mezclando el agente regulador (suministrado listo para su uso) con su conjugado ácido/base (convenientemente en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado; esto puede ser determinado por el experto en la materia, ya sea teórica o experimentalmente). En el caso de un sistema regulador de citrato, esto significa mezclar citrato de sodio con ácido cítrico. Alternativamente, el sistema regulador puede formarse mediante la adición de un ácido fuerte (por ejemplo, HCl) al agente regulador (por ejemplo, citrato de sodio) para formar in situ el conjugado ácido/base (por ejemplo, ácido cítrico) (de nuevo apropiadamente en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado). Alternativamente, el sistema regulador puede formarse añadiendo una base fuerte (por ejemplo, hidróxido de sodio) al conjugado ácido/base (por ejemplo, ácido cítrico) del agente regulador (por ejemplo, citrato de sodio) para formar in situ el agente regulador (de nuevo de forma adecuada en cantidades relativas apropiadas para proporcionar el pH deseado). El pH de la premezcla de la composición farmacéutica líquida final puede ajustarse con buen juicio añadiendo la cantidad requerida de base fuerte o ácido fuerte, o incluso una cantidad de agente regulador o conjugado ácido/base.

En ciertas realizaciones, el agente regulador y/o el sistema regulador se preforman como una mezcla separada y el sistema regulador se transfiere a un precursor de la composición farmacéutica líquida (que comprende algunos o todos los componentes excepto el agente regulador y/o el sistema regulador, que comprende apropiadamente adalimumab y potencialmente solo adalimumab) mediante intercambio de regulador (por ejemplo, mediante diafiltración hasta que se alcancen las concentraciones u osmolalidad relevantes). A continuación, pueden añadirse excipientes adicionales si es necesario para producir la composición farmacéutica líquida final. El pH se puede ajustar una vez o antes de que estén presentes todos los componentes.

Cualquiera, algunos o todos los componentes pueden disolverse o mezclarse previamente con un diluyente antes de mezclarlos con otros componentes.

La composición farmacéutica líquida final se puede filtrar, de forma adecuada para eliminar las partículas. De forma adecuada, la filtración se realiza a través de filtros de tamaño igual o inferior a 1 μm , apropiadamente de 0,22 μm . De manera adecuada, la filtración se realiza a través de filtros PES o filtros PVDF, apropiadamente con filtros PES de 0,22 μm .

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica líquida obtenible, obtenida o directamente obtenida mediante el método de fabricación en el presente documento descrito.

Dispositivo de administración de fármacos

En el presente documento se describe un dispositivo de administración de fármacos que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento. De forma adecuada, el dispositivo de administración de fármacos comprende una cámara dentro de la cual reside la composición farmacéutica. De forma adecuada, el dispositivo de administración de fármacos es estéril.

El dispositivo de administración de fármacos puede ser un vial, ampolla, jeringa, pluma de inyección (por ejemplo, que incorpora esencialmente una jeringa) o una bolsa intravenosa. Más apropiadamente, el dispositivo de administración de fármacos es una jeringa, apropiadamente una pluma de inyección. De forma adecuada, la jeringa es una jeringa de vidrio. Apropiadamente, la jeringa comprende una aguja, apropiadamente una aguja de 29G 1, 27 cm.

La presente invención proporciona un método de fabricación de un dispositivo de administración de fármacos, apropiadamente como se define en el presente documento, comprendiendo el método incorporar una composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento dentro de un dispositivo de administración de fármacos. Tal fabricación implica típicamente cargar la composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento en una jeringa, apropiadamente mediante una aguja fijada a la misma. Posteriormente, la aguja se puede quitar, reemplazar o mantener.

Según un undécimo aspecto de la presente invención, se proporciona un dispositivo de administración de fármacos obtenible, obtenida o directamente obtenida mediante un método de fabricación definido en el presente documento.

Paquete

En el presente documento se describe un paquete que comprende una composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento. Apropiadamente, el paquete comprende un dispositivo de administración de fármacos como se define en el presente documento, apropiadamente una pluralidad de dispositivos de administración de fármacos. El paquete puede comprender cualquier recipiente adecuado para contener uno o más dispositivos de administración de fármacos.

Kit de partes

5 También se describe un kit de partes que comprende un dispositivo de administración de fármacos (sin la composición farmacéutica líquida incorporada en el mismo), una composición farmacéutica líquida como se define en el presente documento (opcionalmente contenida en un paquete o recipiente separado) y opcionalmente un conjunto de instrucciones con guías sobre administración (por ejemplo, subcutánea) de la composición farmacéutica líquida. El usuario puede entonces llenar el dispositivo de administración de fármacos con la composición farmacéutica líquida (que se puede proporcionar en un vial o ampolla o similar) antes de la administración.

10 Usos de la composición líquida farmacéutica y métodos de tratamiento

15 Se describe además un método para tratar una enfermedad o trastorno médico; una composición farmacéutica líquida para su uso en terapia; un uso de una composición farmacéutica líquida en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de una enfermedad o trastorno; un método para tratar una enfermedad autoinmune relacionada con el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α); una composición farmacéutica líquida para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α); un uso de una composición farmacéutica líquida en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de una enfermedad autoinmune relacionada con el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α); un método para tratar artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica de moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; una composición farmacéutica líquida para su uso en el tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; y el uso de una composición farmacéutica líquida en la fabricación de un fármaco para el tratamiento de artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis crónica moderada a grave y/o artritis idiopática juvenil; como se define en el presente documento.

25 Las composiciones farmacéuticas líquidas definidas en el presente documento pueden usarse para tratar una o más de las enfermedades o trastornos médicos mencionados anteriormente. En una realización particular, las composiciones farmacéuticas líquidas se utilizan para tratar la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn y la psoriasis.

30 Las composiciones farmacéuticas líquidas se administran de forma adecuada por vía parenteral, de forma adecuada mediante inyección subcutánea.

35 **Ejemplos**

Materiales y Equipamiento

40 Los siguientes materiales se utilizaron en la preparación de las formulaciones descritas en los Ejemplos que siguen:

Ingrediente
Adalimumab DS
Monohidrocloruro de arginina
Ácido Aspártico
Ácido Cítrico Monohidrato
Fosfato de sodio dibásico dihidrato
Clorhidrato de lisina
Manitol
Fosfato de sodio monobásico dihidrato
Poloxámero 188
Polisorbato 80
Cloruro de sodio
Citrato de sodio
Solución de hidróxido de sodio al 30%

(continuación)

Ingrediente
Trehalosa dihidrato
Agua para inyección

Los siguientes materiales se utilizaron en la preparación de las formulaciones descritas en los Ejemplos que siguen:

5 Los siguientes equipos y materiales desechables se usaron en los Ejemplos y Experimentos de criba que siguen.

Ítem	Código	Proveedor
Tubos Eppendorf (0,5 ml, 1,5 ml, 2,0 ml)	NA	Eppendorf
Falcon	Tubos de polipropileno 352096 (15 ml), 352070 (50 ml)	Becton Dickinson
Unidad de filtro de membrana PES (0,22 µm)	Membrana MillexGP Express PES REF SLGP033RS	Millipore
Botellas de PETG	3420-1000, 3420-0500, 2019-0250, 3420-0125, 3420-0060, 2019-0030	Nalgene

Se usó el siguiente empaque en los Ejemplos y Experimentos de criba que siguen.

Ítem	Código	Proveedor
Vial de vidrio DIN2R Tipo I	0212060,6112 11200000A	Nuova Ompi
Tapón de 1 ml	S2-F451 RSV; D 21-7S RB2-40	Daikyo Seiko, LTD
Tapa abatible de 13 mm	12000350	MS-A

10

Se usó el siguiente equipo en los Ejemplos y Experimentos de criba que siguen.

Ítem	Modelo	Fabricante
Escalas analíticas	AX205, PG2002-S	Mettler Toledo
Instrumento de xenón de mesa	Suntest CPS+	Atlas
Pipetas calibradas	P20, P100, P200, P1000	Gilson
HPLC	Aliance	Waters
iCE280	Analizador IEF rápido	Convergent Bioscience
Osmómetro	Osmomat 030/D	Gonotec
PCR	7500 rápido en tiempo real	AB Applied Biosystems
medidores de pH	Seven Multi	Mettler Toledo
Refrigeradores	+2-8°C	Angelantoni
Software Design Expert	ver. 7,1,5	Stat-Ease, Inc.
Cabinas termostáticas	+25°C, +40°C	Angelantoni
Turbidímetro	2100AN IS	Hach Lange
Espectrofotómetro Ultravioleta	Lambda 35	Perkin Elmer

Técnicas y Protocolos Analíticos

15

Se emplearon los siguientes métodos analíticos de protocolos, en los Ejemplos y Experimentos de criba que siguen, por las razones indicadas en la tabla siguiente:

Método No.	Método Analítico	Alcance de la prueba
1	Bioanalyzer	Pureza
2	DSF	Temperatura de desplegamiento
3	iCE280	Perfil de isoformas
4	OD	Contenido de proteínas
5	SE-HPLC	Determinación de agregados
6	Nefelometría	Turbidez
7	Osmolalidad	Osmolalidad de la solución
8	pH	determinación de pH
9	Partículas subvisibles	Recuento de partículas

5 Los protocolos individuales para cada uno de los métodos analíticos anteriores se describen sucesivamente a continuación, y las referencias en los Ejemplos y Experimentos de criba a dichos métodos analíticos utilizaron estos protocolos.

10 1. Pureza-Bioanalyzer

Se utilizó un Bioanalyzer 2100. Los protocolos se pueden encontrar en el manual de instrucciones correspondiente. Sin embargo, los protocolos se han perfeccionado adicionalmente de la siguiente manera.

15 Soluciones:

Mezcla de gel y colorante (Solución de tinción):

20 Agregar 25 µl de concentrado de tinte 230plus a un tubo de matriz de gel de proteína 230plus. Agitar bien en el vórtex y hacer girar el tubo durante 15 segundos. Transferir a un filtro giratorio y centrifugar a 2500 rpm durante al menos 20 minutos. La solución está lista para usar. Almacenar la solución a +5±3°C durante no más de 4 semanas.

Solución decolorante:

25 Pipetear 650 µl de matriz de gel en un filtro giratorio. Centrifugar a 2500 rpm durante al menos 25 min. Almacenar la solución a +5±3°C durante no más de 4 semanas.

Regulador de Muestra:

30 Se recomienda dividir los 200 µl de regulador de muestra en alícuotas de 25 µl y descongelar las alícuotas para cada chip. Almacenar la solución madre de regulador de muestra y las alícuotas a -20°C, no más allá de la fecha de caducidad proporcionada por el proveedor.

Solución madre de maleimida:

35 Disolver 23,4 mg de maleimida en 1 ml de agua MilliQ (0,24 M). Someter a vórtex bien la solución. Posteriormente diluir la solución 1:4 con agua MilliQ. (por ejemplo, 50 µl de solución madre + 150 µl de MilliQ). La concentración final de la solución de maleimida diluida es 60 mM. (Dado que aún no hay datos disponibles sobre la estabilidad de esta solución, debe prepararse de nuevo antes de comenzar cada sesión analítica).

40 Solución OTf:

Para el análisis de muestras de Adalimumab, la solución reductora debe prepararse con DTT 1M, por lo tanto, disolver 154,0 mg de DTT en 1 ml de Agua MilliQ.

45 Solución no reductora:

ES 2 815 598 T3

Agregar 1 µl. de agua MilliQ en una alícuota de regulador de muestra (25 µl) y agitar durante 5 segundos. Usar la solución no reductora dentro de su día de preparación.

Solución reductora:

- 5 Añadir 1 µl de la solución DTf correspondiente a una alícuota de regulador de muestra (25 µl) y agitar en el vórtex durante 5 segundos. Utilizar la solución reductora dentro de su día de preparación.

Preparación de la Muestra:

- 10
- Las muestras se analizan a concentraciones que oscilan entre 2,4 y 3 mg/ml.
 - Si es necesario, las muestras se pueden diluir a la concentración objetivo utilizando Agua Milli Q.
- 15 Las muestras se preparan de acuerdo con la Guía del Kit de Reactivos utilizando los regulados de muestra reductores y no reductores de acuerdo con las instrucciones de la Guía del Kit de Reactivos y también mencionado anteriormente. Se recomienda encarecidamente utilizar, a diferencia de la guía, volúmenes mayores para lograr resultados reproducibles y precisos. A continuación se muestra un ejemplo de cómo preparar la serie y las muestras:

20 Solución de preparación de muestras con condición reductora y no reductora

Reactivo	Volumen µl	Volumen Total µl
Muestra diluida a 3 mg/ml	3 µl	6 µl
Regulador de muestra (reductor o no reductor)	2 µl	
Solución de maleimida	1 µl	
Las muestras deben mezclarse bien (mediante vórtex) y centrifugarse. Todas las muestras y la serie se calientan 5 minutos a 70°C		
agua MilliQ	84 µl	90 µl
agitar bien con vórtex y centrifugar cargando 6 µl de toda las muestras y la serie		

25 Nota 1: Para los IPC cuya concentración está entre 2,4 mg/ml y 3,0 mg/ml, la preparación de la muestra sigue la tabla anterior, pero el volumen de Agua MilliQ añadido después del calentamiento de la muestra se calcula para alcanzar una concentración final de proteína de 0,1 mg/ml.

A continuación se presenta un ejemplo de preparación de muestra para una muestra que tiene una concentración entre 2,4 y 3,0 mg/ml:

30 Solución de preparación de muestras con condición reductora y no reductora

Reactivo	Volumen µl	Volumen Total µl
Muestra (2,6 mg/ml)	3 µl	6 µl
Regulador de muestra (reductor o no reductor)	2 µl	
Solución de maleimida	1 µl	
Las muestras deben mezclarse bien (mediante vórtex) y centrifugarse. Todas las muestras y la serie se calientan durante 5 minutos a 70°C		
agua MilliQ	72 µl	78 µl
agitar bien con vórtex y centrifugar carga de 6 µl de todas las muestras y la serie		

35 Nota 2: Todos los pocillos deben estar cargados. Si el número de muestras es menor que los pocillos disponibles, los pocillos vacíos se pueden utilizar para duplicados adicionales o muestras en blanco.

Preparación del sistema y el chip:

ES 2 815 598 T3

- Para limpiar el sistema antes y después de un análisis, llenar el "Limpiador de Electrodo" con 600ml de Agua MilliQ y colocarlo en el Bioanalyzer Agilent 2100, cerrar la tapa y dejar que el sistema se detenga. No se requiere ninguna acción adicional.

- 5 - Ajustar la placa base de la estación de cebado del chip en la posición "A" y el clip de la jeringa en su posición central.

Preparación del chip
Preparación del sistema
Insertar un nuevo Chip de Proteína en la estación de cebado
Pipetear 12 µl de Mezcla de Gel y colorante en el pocillo marcado con G (Arriba a la derecha)
Colocar el émbolo a 1 ml y cerrar la estación de cebado del chip
Presionar el émbolo hasta que quede sujeto por el clip
Esperar 60 segundos y luego soltar el clip
Esperar 5 segundos y tirar lentamente del émbolo hasta la marca de 1 ml.
Abrir la estación de cebado de chip
Retirar la solución en este pocillo
Pipetear 12 µl de mezcla de gel y colorante en el pocillo marcado con G (ARRIBA a la derecha) y en todos los pocillos restantes marcados con G
Pipetear 12 µl de solución decolorante en el pocillo marcado con DS

- 10 Carga de la Serie y la Muestra:

- Transferir 6 µl de cada muestra a un pocillo de muestra y también 6 µl de la serie en el pocillo dedicado, que está claramente indicado con un símbolo de serie.

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

Ejemplo de conjunto de muestra

Pocillo	Muestra	Cantidad µl
1	Blanco	6
2	Blanco	6
3	Muestra desconocida 1 rep 1	6
4	Muestra desconocida 1 rep 2	6
5	Muestra desconocida 2 rep 1	6
6	Muestra desconocida 2 rep 2	6
7	Muestra desconocida 3 rep 1	6
8	Muestra desconocida 3 rep 2	6
9	Material de Referencia Actual rep 1	6
10	Material de Referencia Actual rep 2	6
Serie	Serie	6

Análisis de datos y evaluación de los resultados:

- 20

Para obtener resultados, se deben ejecutar las siguientes operaciones mínimas

- Colocar el chip en el lugar específico y cerrar la tapa.

- 25

- En el contexto del instrumento, seleccionar Ensayo-Electroforesis-Proteína-Proteína 230 Plus.

- Hacer clic en INICIAR para iniciar el análisis, que se completa en 30 minutos.
- Los datos brutos se muestran haciendo clic en "Análisis de datos", donde se enumeran todos los experimentos realizados en el día. Hacer clic en el experimento de interés y seleccionarlo.
- El gel generado a partir del experimento elegido se abre automáticamente.
- Los datos se pueden mostrar como una imagen de electroferografía o similar al gel.

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

Resultados:

En condiciones no reductoras, los resultados se indican como % de pureza y % LMW (suma de picos antes del monómero).

En condiciones reductoras, los resultados se indican como % de Pureza, como suma de cadena pesada y cadena liviana.

Los valores indicativos de peso molecular se muestran en la siguiente tabla:

Peso molecular indicativo de Adalimumab

Condición	Resultado	KDa
No Reductora	Monómero	151
Reductora	LC	27
	HC	58

2. Temperatura de Desplegamiento-DSF

La DSF (fluorimetría diferencial de barrido) se realizó de la siguiente manera:

Se añadieron 2 microlitros de Sypro Orange (Colorante de gel de proteína naranja, cod. S6650, Life Technologies) previamente diluido 500 veces en agua para inyección a 20 microlitros de solución de producto farmacéutico. Tras la adición de Sypro Orange, las soluciones de DP (preparación por triplicado) se llenan en placas de 96 pocillos (Placa de Reacción MicroAmp Fast 96-W de 0,1 ml, cod. 4346907). A continuación, las placas se sellan con una cubierta protectora transparente (Película Adhesiva Óptica MicroAmp, cod. 4311971) y luego se someten a centrifugación para eliminar las burbujas de aire. Luego, las placas se insertan en el sistema de PCR 7500 Fast Real-Time AB Applied Biosystem y se escanean en busca de perfiles de emisión a temperaturas desde la temperatura ambiente hasta 90-100°C. La dependencia de la intensidad de la emisión de fluorescencia de la temperatura es una curva que típicamente muestra un punto de inversión/discontinuación a la temperatura de desnaturalización, parámetro utilizado para comparar las diferentes composiciones.

3. Perfil de isoformas iCE280

cIEF por iCE280 (perfil de isoformas): Después de la purificación y eliminación de sales con centrifugación en dispositivos centrífugos Amicon Ultra-4 (corte 10 kDa), las muestras fueron prediluidas a la concentración de 5,0 mg/ml con agua purificada. Luego se hizo una segunda dilución a 1,0 mg/ml con una solución compuesta de: metilcelulosa, Pharmalyte 5-8 (GE Healthcare), Pharmalyte 8-10,5 (GE Healthcare), marcador de pl bajo 7,05 (Protein Simple), marcador de pl alto 9,50 (Protein Simple) y agua purificada. Tras la dilución, las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 3 minutos. Luego, se lleva a cabo una etapa de centrifugación adicional (2 minutos a 7000 rpm) en 150 microL de cada muestra transferida en insertos de vidrio. El cIEF (enfoque isoeléctrico capilar) se realizó con el sistema iCE280 de Protein Simple, utilizando cartuchos capilares Fc con recubrimiento de 100 micrómetros de ID y una longitud total de 50 nm (Cat. No. 101700/101701 de Protein Simple). La separación de las diversas isoformas se realiza utilizando hidróxido de sodio 100 mM (en metilcelulosa al 0,1%) como solución catódica y ácido o-fosfórico 80 mM (en metilcelulosa al 0,1%) como solución anódica. El electroferograma se adquiere a 280 nm sobre tiempos de preenfoco y enfoque de 1 y 6 minutos respectivamente, a un voltaje de 1500 V (preenfoco) y 3000 V (enfoco).

4. Contenido de proteína-OD

Se tomaron medidas de DO (contenido de proteína) en muestras que inicialmente se diluyeron gravimétricamente (se hicieron diluciones independientes por triplicado) con regulador o placebo relevante desde la concentración inicial hasta aproximadamente 10 mg/ml. Se ensayó la absorbancia de las soluciones diluidas a 280 y 320 nm en cubetas de cuarzo con una longitud de paso de 0,1 cm, a temperatura ambiente, con un espectrofotómetro de doble haz (Lambda 35 de Perkin Elmer). Se utilizó el valor de 1,35 como coeficiente de extinción molar de Adalimumab.

5. Determinación de agregados SE-HPLC

Las muestras se diluyeron con DPBS 1X a una concentración de 0,5 ml y se inyectaron (volumen de inyección de 20 microL) en una Columna TSK gel Super SW3000 4,6 mm ID X30,0 cm cod,18675 de Tosoh manteniendo condiciones isocráticas (fase móvil: Fosfato de Sodio 50 mM + Perclorato de sodio 0,4 M, pH 6,3 ± 0,1). La detección UV se realizó a 214 nm a un flujo de 0,35 ml. La duración de cada ejecución analítica fue de 15 minutos. Antes del análisis, las muestras se mantuvieron a 2-8°C en el muestreador automático de los sistemas HPLC Waters Alliance utilizados para esta prueba.

6. Turbidez-Nefelometría

La turbidez se evaluó mediante mediciones nefelométricas (efecto basado en el efecto de difusión de la luz causado por partículas con dimensiones típicamente <1 micrón) realizadas con un turbidímetro 2100AN IS Turbidimeter Hach a temperatura ambiente. Se colocaron cantidades mínimas de 3 ml de solución en cubetas de vidrio de volumen reducido y se evaluó el efecto de difusión después de la calibración previa del instrumento con una serie de soluciones estándar (0,1-7500 NTU).

7. Determinación de la osmolalidad-Osmolalidad

La osmolalidad se midió en función de la característica crioscópica de las soluciones. Las pruebas se realizaron con un Osmomat 030-D de Gonotech sometiendo 50 microL de la muestra a congelación. La temperatura de congelación depende de la osmolalidad de la solución (es decir, de la presencia de agentes disueltos como sales, azúcares, otras especies iónicas y no iónicas, etc.).

8. Determinación del pH-pH

El pH se determinó usando medidas potenciométricas realizadas a temperatura ambiente con medidores de pH Mettler Toledo Seven Multi.

9. Recuento de partículas: Partículas subvisibles

Las muestras se diluyeron 5 veces con agua purificada hasta un volumen final de 25 ml. El número de partículas se determina a temperatura ambiente por PAMAS SVSS por Aminstruments que recopila cuatro análisis independientes y promedia los resultados para cada fracción dimensional respectiva de interés.

Ejemplo 1: formulaciones para la primera criba de formulación

El siguiente primer conjunto de formulaciones (a las que a menudo se hace referencia en el presente documento como formulaciones DoE1) se muestra a continuación en la Tabla 1.

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

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador
11	25	Citrato	5,4	Trehalosa dihidrato (200 mM)
12	25	Citrato	5,4	Monohidrocloreto de Arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM)
13	75	Citrato	5,6	Manitol (200 mM)
14	50	Citrato	5,6	Clorhidrato de Lisina (100 mM)
15	100	Citrato	5,6	Manitol (200 mM)
16	100	Citrato	5,8	Clorhidrato de Lisina (100 mM)
17	75	Citrato	5,8	Monohidrocloreto de Arginina + Ácido Aspártico (80 mM + 20 mM)

Las formulaciones de la Tabla 1 se fabricaron a partir de un material DS sin tensioactivo preformulado.

5 Se diafiltraron alícuotas del DS con regulador de citrato de sodio/ácido cítrico 10 mM a pH 5,2 hasta que se logró un intercambio de volumen de tres veces con el regulador. A continuación, se añadieron los excipientes necesarios a los materiales de DS intercambiados con regulador y se ajustó el pH al objetivo mediante la adición de una solución diluida de hidróxido de sodio. Cada formulación se filtró a través de filtros PES de 0,22 µm.

10 En la Tabla 2, se reportan los resultados en términos de recuperación de material y osmolalidad para los materiales de DS de tres intercambios de regulador.

Tabla 2: Recuperación y osmolalidad de los materiales DS después del intercambio de regulador

Regulador	Después del intercambio							
	Volumen inicial de DS (ml)	Concentración inicial de DS(mg/ml)	tratado con proteína(m/g)	Volumen final(m/L)	Concentración final(mg/ml)	proteína recuperada(mg)	recuperación(%)	Osmolalidad (mOsm/kg)
Citrato	200	63,3	12660	200	54,5	10900	86	39

Hubo una buena recuperación para el regulador de citrato de sodio ($\leq 90\%$). Los valores de osmolalidad indican el grado satisfactorio de intercambio de regulados alcanzado, con un mínimo residual de especies provenientes del SD originario.

5 Ejemplo 2: Formulaciones para la segunda criba de formulación

El siguiente segundo conjunto de formulaciones (a las que a menudo se hace referencia en el presente documento como formulaciones DoE2) se muestra a continuación en la Tabla 3 (como se deriva de la Tabla 4 más adelante).

10 Tabla 3: Lista de formulaciones de DoE2 para los Experimentos 2 de criba posteriores (formulaciones derivadas de las presentadas en la Tabla 4 con el tensioactivo adicional indicado)

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

Tabla 4: Prototipo de formulación derivada de la criba DoE1

Formulación	Sal (NaCl) mM	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador
B	100	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)

15 Las formulaciones de DoE2 (Tabla 3) se fabricaron partiendo de un material DS, sin tensioactivo preformulado.

Se diafiltraron tres alícuotas del DS hasta que se logró un intercambio de volumen de tres veces. A continuación, se añadieron los excipientes necesarios a los materiales de DS intercambiados con regulador y se ajustó el pH al objetivo mediante la adición de una solución diluida de hidróxido de sodio. Cada formulación se filtró a través de filtros PES de 0,22 μm .

20

En la Tabla 5, se presentan los resultados en términos de osmolalidad y turbidez para los materiales de DS con intercambio de regulador.

25 Los valores de osmolalidad ($\leq 40 \text{ mOsm/kg}$) indicaron el grado satisfactorio de intercambio de regulador alcanzado, con un mínimo residual de especies provenientes del SD originario.

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

Regulador	Turbidez (NTU)	Osmolalidad (mOsm/kg)
Citrato	52	42

30 Ejemplo 3: Formulaciones Comparativas para la primera y la segunda criba

Con fines de comparación y control, se prepararon u obtuvieron tres formulaciones de referencia, que incluyen Ref-1 (Humira® composición fabricada por el Solicitante); Ref-2 (RMP US-Humira® producto de fármaco comercial de los EEUU); y Ref-3 (RMP EU-Humira® producto de fármaco comercial de la UE). Todas estas formulaciones de referencia tenían la composición que se muestra en la Tabla 6.

35

Tabla 6: Composición de Humira DP

Ingrediente	Cantidad por recipiente (mg) (volumen de llenado = 0,8 ml)	Cantidad (mg/ml)
Adalimumab	40	50
Ácido Cítrico Monohidrato	1,04	1,3
Fosfato de sodio dibásico dihidrato	1,22	1,53
Manitol	9,6	12
Fosfato de sodio monobásico dihidrato	0,69	0,86

(continuación)

Ingrediente	Cantidad por recipiente (mg) (volumen de llenado = 0,8 ml)	Cantidad (mg/ml)
Polisorbato 80	0,8	1
Cloruro de sodio	4,93	6,16
Citrato de sodio	0,24	0,3
agua para inyección e hidróxido de sodio	q.b. para ajustar el pH a 5,2	q.b. para ajustar el pH a 5,2

Cribado

5 Una primer criba de formulación (DoE1) condujo a la identificación de diversos factores (por ejemplo, pH, presencia de NaCl, tipo de excipiente) responsables de la estabilidad de las proteínas y, en última instancia, a la selección de formulaciones por seguir en una segunda criba (DoE2), que buscaba afinar las formulaciones y evaluar cómo los tensioactivos, como el Polisorbato 80, pueden afectar la estabilidad de la proteína.

10 Cada una de las dos cribas involucró diversas pruebas analíticas, como se define en el presente documento anteriormente y se refiere a continuación, sobre una gama de formulaciones diferentes que fueron expuestas a niveles variables de estrés térmico, mecánico y lumínico durante periodos prolongados (por ejemplo, 1 mes). Estas cribas de formulación permitieron la recopilación de una cantidad significativa de datos, que proporcionaron información sorprendente y valiosa que permitió el desarrollo de nuevas formulaciones ventajosas.

15 Los resultados de las dos cribas de formulaciones se presentan a continuación.

Experimento 1 de criba: Análisis y criba de las formulaciones del Ejemplo 1 frente a las formulaciones comparativas del Ejemplo 3

20 La selección preliminar de DoE (Paso 1) evaluó el efecto que la fuerza iónica (dada por NaCl), el pH y diferentes estabilizadores ejercen sobre la proteína en el curso de estudios de estabilidad a corto plazo.

25 Se ha aplicado un diseño estadístico de superficie de respuesta D-Optimal. Se consideraron tres factores:

- Fuerza iónica (impulsada por la concentración de NaCl, que se varió en el rango de 25 mM a 100 mM y se estableció como un factor numérico),
- pH (se investigó el rango de 5,4 a 6,4 regulado con citrato);
- Estabilizador/Excipiente (factor categórico que comprende varios niveles: Clorhidrato de Lisina, Arginina + Ácido Aspártico, Manitol, Trehalosa Dihidrato).

35 Estas formulaciones se fabricaron, como se describe en el Ejemplo 1 anterior, partiendo de DS sin Polisorbato 80 y, por lo tanto, estaban libres de tensioactivos.

La Tabla 7 a continuación resume las formulaciones probadas dentro de esta criba. Además de las 7 formulaciones propuestas, también se han analizado dos controles como comparadores:

- Producto farmacéutico comercial de Humira DP (formulado según el Ejemplo 3 anterior)
- Sustancia farmacológica DS formulada como Humira comercial DP (formulada según el Ejemplo 3 anterior)

45 Tabla 7: Lista de formulaciones de DoE1 (Paso 1) cribadas a través de condiciones de estrés térmico (estabilidad a 40°C) y determinación a alto rendimiento de la temperatura de desplegamiento de proteínas (DSF).

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador
11	25	Citrato	5,4	Trehalosa dihidrato (200 mM)
12	25	Citrato	5,4	Monohidrocloreuro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
13	75	Citrato	5,6	Manitol (200 mM)

(continuación)

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador
14	50	Citrato	5,6	Clorhidrato de lisina (100 mM)
15	100	Citrato	5,6	Manitol (200 mM)
16	100	Citrato	5,8	Clorhidrato de lisina (100 mM)
17	75	Citrato	5,8	Monohidrocloreto de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)
Ref-1 (MS)	Composición de Humira (formulación fabricada con una Sustancia Farmacológica MS)-Ejemplo 3			
Ref-2 (RMP US)	Humira comercial DP (Estados Unidos)-Ejemplo 3			
Ref-3 (RMP EU)	Humira comercial DP (UE)-Ejemplo 3			

5 Las formulaciones se probaron de acuerdo con el plan reportado en la Tabla 8. Se consideró el estrés térmico hasta 1 mes a 40°C. En T0 se realizó una evaluación de alto rendimiento realizada con la técnica DSF (dirigida a una criba rápida basada en la determinación de la temperatura de desplegamiento de la proteína).

Tabla 8: Panel de pruebas analíticas realizadas sobre formulaciones preliminares de DoE (Paso 1): condiciones de estrés térmico de 1 mes a 40°C.

Acelerado (40°C)		Tiempo de estabilidad (semanas)		
Métodos	Prueba	0	2s	4s
OD	Contenido	x	-	x
SE-HPLC	Agregados	x	x	x
Bioanalyzer	Pureza	x	x	x
pH	pH	x	x	x
Osmolalidad	Osmolalidad	x	-	-
FBD	T Desplegamiento	x	-	-

10 1.1 Criba por osmolalidad

La osmolalidad de las formulaciones de DoE1 compuestas a partir de los materiales de DS de intercambio de regulados (párrafo 5,1,1) se muestra en la Tabla 9.

15 La mayoría de las formulaciones se encontraron en el rango de osmolalidad de 250 a 400 mOsm/kg, mientras que se observaron valores ligeramente más altos en las concentraciones más altas de cloruro de sodio.

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

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Tiempo 0
11	25	Citrato	5,4	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,340
12	25	Citrato	5,4	Monohidrocloreto de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	0,276
13	75	Citrato	5,6	Manitol (200 mM)	0,422
14	50	Citrato	5,6	Clorhidrato de lisina (100 mM)	0,331
15	100	Citrato	5,6	Manitol (200 mM)	0,473
16	100	Citrato	5,8	Clorhidrato de lisina (100 mM)	0,432

20

(continuación)

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Tiempo 0
17	75	Citrato	5,8	Monohidrocloruro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	0,372
Referencia interna (composición Humira, Merck Serono DS)					0,374
RMP (Estados Unidos) Humira					NA
RMP (UE) Humira					0,310

1.2 Contenido de proteína (OD)

5 El contenido de proteína de las formulaciones de DoE1 se determinó en el tiempo 0 y después de 1 mes a 40°C.

La Figura 1 es un gráfico de barras que muestra el contenido de proteína (mg/ml) de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones comparativas de HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 4 semanas (barras rojas) de la(s) formulación(es) calentadas a 40°C.

Los resultados presentados en la Figura 1, indicaron que no se produjeron cambios significativos a lo largo del tiempo. Todas las concentraciones se encontraron en línea con el objetivo de 50 mg/ml.

15 1.3 Agregación (SE-HPLC)

La Figura 2 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, según lo determinado por SE-HPLC, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones comparativas HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras naranjas) de la formulación o formulaciones calentadas a 40°C. Los agregados totales observados por SE-HPLC sobre estabilidad a 40°C se representan gráficamente en la Figura 2. Se observaron incrementos mínimos en la agregación en todas las formulaciones. Sin embargo, incluso después de 1 mes, todos los niveles de agregación ascendieron a menos del 1%.

25 1.4 Fragmentación (Bioanalyzer)

La Figura 3 es un gráfico de barras que muestra el% de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del comparador HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azul oscuro, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rosadas) y 4 semanas (barras azul claro) de la formulación o formulaciones calentadas a 40°C.

En la Figura 3, se informa la variación de los fragmentos a lo largo del tiempo según lo determinado por Bioanalyzer. Las formulaciones con un pH más ácido tienden a experimentar velocidades de fragmentación más rápidas. Además, la presencia de aminoácidos en este rango de pH puede empeorar considerablemente el perfil de estabilidad. El efecto perjudicial de las especies de aminoácidos también se confirma a pH 5,4 (Formulación 12).

A pH > 5,0 y en presencia de azúcares/poliolos, todas las fórmulas, incluidas las referencias, son comparables (fragmentación inferior al 1% después de 1 mes a 40°C).

40 Los datos se analizaron mediante ANOVA que confirmó la significación estadística del factor pH (valor p < 0,001), lo que también indica que los valores de pH > 5,0 deben buscarse para minimizar la fragmentación.

No se encontró que el cloruro de sodio sea un factor crítico para la estabilidad en el rango de 25 a 100 mM.

45 1.5 Criba por pH

La Tabla 10 muestra el pH de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones comparativas de HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (tiempo=0) y después de 2 y 4 semanas de la formulación (s) siendo calentadas a 40°C.

50 Como puede verse en la Tabla 10, no se observaron desviaciones del pH objetivo.

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

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Tiempo de estabilidad		
					Tiempo 0	2 semanas 40°C	3 semanas 40°C
11	25	Citrato	5,4	Trehalosa dihidrato (200 mM)	5,5	5,5	5,3
12	25	Citrato	5,4	Monohidrocloreuro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	5,4	5,5	5,3
13	75	Citrato	5,6	Mannitol (200 mM)	5,6	5,6	5,5
14	50	Citrato	5,6	Clorhidrato de lisina (100 mM)	5,6	5,6	5,5
15	100	Citrato	5,6	Manitol (200 mM)	5,6	5,6	5,5
16	100	Citrato	5,8	Clorhidrato de lisina (100 mM)	5,8	5,8	5,7
17	75	Citrato	5,8	Monohidrocloreuro de arginina + ácido aspártico (80 mM + 20 mM)	5,8	5,8	5,7
Referencia interna (composición Humira, Merck Serono DS)					5,2	5,2	5,2
RMP (Estados Unidos) Humira					5,3	5,3	5,3
RMP (UE) Humira					5,3	5,3	5,3

1.6 Temperatura de Despliegamiento (DSF)

5 DSF es un método de alto rendimiento que tiene como objetivo la determinación de la temperatura de despliegamiento de proteínas en virtud de interacciones crecientes con sondas fluorescentes a medida que se aplican rampas de temperatura a las muestras. Cuando la proteína comienza a desplegarse, expondrá progresivamente parches hidrófobos al solvente atrayendo las sondas fluorescentes que pasarán del estado libre en solución (no fluorescente) al estado unido (a través de interacciones hidrófobas) con la proteína, aumentando así el grado de señal fluorescente.

10 A partir de la evaluación de la señal de fluorescencia, fue posible determinar el punto medio de las curvas sigmoideas, que indica el punto de transición de cada formulación. Se supone que cuanto mayor es el punto de transición, mayor es la resistencia de la fórmula al estrés térmico.

15 Los resultados de la evaluación realizada en las formulaciones de selección de DoE1 se reportan en la Figura 4. La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la temperatura de despliegamiento (°C), según lo determinado por DSF, de las formulaciones DoE1 (del Ejemplo 1), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones comparativas HUMIRA®).

Conclusión del Experimento 1 de cribado

20 Los resultados obtenidos de las pruebas de Bioanalyzer y DSF se evaluaron de forma combinada mediante el modelo ANOVA para superficies de respuesta con el fin de determinar las mejores composiciones que posiblemente puedan garantizar la mayor estabilidad térmica a la proteína.

25 La lista de las composiciones recomendadas se informa en la Tabla 12, que también compara los rendimientos de las formulaciones de prototipos resultantes con el Humira RMP, en términos de temperatura de despliegamiento y cambio de fragmentación durante 1 mes a 40°C.

30 La formulación B fue extrapolada por el software y, por lo tanto, los valores incluidos en la Tabla son teóricos.

35 Comparando estas fórmulas con el RMP se puede concluir que el comportamiento de estas formulaciones prototipo en respuesta al estrés térmico es comparable al observado para el RMP.

Tabla 12: Resultado de los experimentos DoE1: composiciones recomendadas para la segunda criba

Formulación	Sal (NaCl) mM	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador
B	100	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)

De manera algo inesperada, las formulaciones que contenían trehalosa dihidrato como único estabilizador se comportaron extremadamente bien, especialmente en términos de inhibición de la fragmentación, inhibición del desplegamiento y mantenimiento del pH. Tales formulaciones basadas en trehalosa también exhibieron un buen comportamiento en términos de agregación y precipitación. El hecho de que la trehalosa fuera un candidato tan fuerte como estabilizador, especialmente por sí solo, era extremadamente prometedor en vista de sus propiedades antioxidantes, que impartirían una mayor estabilidad química a largo plazo (especialmente frente a la oxidación y/o fotooxidación) a las formulaciones de adalimumab. Además, se consideró especialmente alentador y allanó el camino para formulaciones menos complejas que emplean menos componentes lo que a su vez reduciría el procesamiento y los costes asociados con la producción del fármaco adalimumab relevante. Como tales, estas formulaciones a base de trehalosa se llevaron a una segunda ronda de Experimentos de criba para ajustar las formulaciones.

Experimento de criba 2: Análisis y Selección de las formulaciones del Ejemplo 2 frente a las Formulaciones Comparativas del Ejemplo 3

Se identificó un prototipo de formulación de la criba anterior (Tabla 12). Dado que el paso anterior se llevó a cabo sin agregar tensioactivo, el segundo paso tuvo como objetivo seleccionar una serie de niveles de tensioactivo Polisorbato 80 compuesto (rango: 0-1 mg/ml) para evaluar si se requiere la adición de tensioactivo para favorecer la estabilidad de la proteína.

La Tabla 3 (Ejemplo 2) resume el diseño de este segundo paso del estudio y enumera las formulaciones (formulaciones DoE2) probadas en este segundo ejercicio de criba.

Por lo general, se ha observado que los tensioactivos contrastan la agregación inducida por estrés mecánico y, por lo tanto, se han realizado pruebas de estrés por agitación para evaluar cómo el Polisorbato 80 afecta la estabilidad de la proteína y la respuesta a la agitación.

Como en el Paso 1, las composiciones de referencia descritas en el Ejemplo 3 también se han evaluado para proporcionar una línea base para el desarrollo de una nueva formulación.

La lista completa de análisis realizados en este bloque de formulaciones se presenta en la Tabla 13. En esta segunda criba, las respectivas formulaciones fueron expuestas a tres tipos diferentes de estrés, térmico, mecánico y lumínico.

Tabla 13: Panel de ensayos analíticos realizados sobre formulaciones DoE2 (Paso 2): condiciones de estrés térmico de 1 mes a 40°C (A), estrés de agitación a 200 rpm (B) y exposición lumínica según ICH Q1B (C).

A. Estrés térmico a 40°C					
	Acelerado (40°C)		Tiempo de estabilidad (semanas)		
	Métodos	Prueba	0	2s	4s
	OD	Contenido	x	-	x
	iCE280	Isoformas	x	x	x
	SE-HPLC	Agregados	x	x	x
	Bioanalyzer	Pureza	x	x	x
	pH	pH	x	x	x
	Osmolalidad	Osmolalidad	x	-	-
	Nefelometría	Turbidez	x	x	x
	DSF	T desplegamiento	x	-	-

(continuación)

B. Condiciones de estrés por agitación					
Estrés por agitación (200 rpm)			Tiempo de estabilidad (horas)		
Métodos	Prueba	0	24 h	48 h	
OD	Contenido	x	-	-	
SE-HPLC	Agregados	x	x	x	
Bioanalyzer	Pureza	x	x	x	
pH	pH	x	x	x	
Nefelometría	Turbidez	x	x	x	
C. Exposición lumínica 7 horas de exposición a 765 W/m ² (ICH Q1 B).					
Exposición lumínica			Muestra		
Métodos	Prueba	Tiempo 0	Expuesta		
OD	Contenido	x	-		
iCE280	Isoformas	x	x		
SE-HPLC	Agregados	x	x		
Bioanalyzer	Pureza	x	x		
pH	pH	x	x		
Nefelometría	Turbidez	x	x		

5 Las pruebas de estrés térmico se realizaron simplemente calentando una muestra de las formulaciones relevantes a la temperatura estipulada durante el período de tiempo estipulado (normalmente 2 semanas o 4 semanas/1 mes).

10 Las pruebas de esfuerzo mecánico se realizaron simplemente agitando mecánicamente una muestra de las formulaciones relevantes a temperatura ambiente a 200 rpm durante el período de tiempo estipulado (típicamente 24 horas o 48 horas).

15 Las pruebas de estrés lumínico se realizaron simplemente exponiendo una muestra de las formulaciones relevantes a 765 W/m² de luz (de acuerdo con las directrices actuales ICH Q1B de la Agencia Europea de Medicamentos en relación con las pruebas de fotoestabilidad de nuevos principios activos y fármacos) durante 7 horas.

15 2.1 Osmolalidad

20 La osmolalidad de las formulaciones de la criba DoE2 se reporta en la Tabla 14. Los valores, comprendidos en el intervalo 378-401 mOsm/kg, probablemente están sobreestimados debido a la presencia de trehalosa dihidrato que puede conducir a algún aumento de la viscosidad que afecta punto crioscópico de las soluciones y por tanto la osmolalidad. Esto se confirmó mediante mediciones en relación con otras formulaciones de prueba, que se diluyeron 3 veces con agua para inyección antes de la prueba de osmolalidad para disminuir la viscosidad: la osmolalidad real de todas estas fórmulas es < 350 mOsm/kg.

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

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0
DoE2-4	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	391
DoE2-5	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	401

25

(continuación)

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0
DoE2-6	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	394

2.2 Contenido de proteína (OD)

- 5 El contenido de proteína de todas las formulaciones de DoE2 en el tiempo 0 estuvo en línea con el objetivo de concentración de proteína de 50 mg/ml (Tabla 15).

Tabla 15: Contenido de proteína (DO) de las formulaciones de cribado de DoE2 (probadas sin diluir)

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de Tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0
DoE2-4	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	50,3
DoE2-5	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	50,4
DoE2-6	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	50,4

10 2.3 Agregados con estrés térmico (SE-HPLC)

Las variaciones en los agregados totales por SE-HPLC se presentan en la Figura 5. La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, según lo determinado por SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones comparativas HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras rojas, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras verdes) y 4 semanas (barras moradas) de la formulación o formulaciones calentadas a 40°C.

Se observaron cambios mínimos para toda la formulación, estando la cantidad total de agregados después de 1 mes a 40°C por debajo del 1%.

Los comportamientos de las formulaciones de criba DoE2 son comparables a las de los materiales RMP.

2.4 Fragmentación con estrés térmico (Bioanalyzer)

25 Las variaciones en los fragmentos por Bioanalyzer se presentan en la Figura 6. La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del comparador HUMIRA®), en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o formulaciones calentadas a 40°C.

30 En el citrato de sodio se observaron variaciones comparables a las observadas en el RMP. Se pueden observar diferencias insignificantes entre las tres fórmulas.

2.5 Perfil de isoformas con estrés térmico (iCE280)

35 Los cambios en el pico principal y en los de los grupos del ácido de las tres formulaciones durante 1 mes a 40°C se reportan en las Figuras 7 y 8 respectivamente

40 La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, según lo determinado por el análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo =0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la formulación o las formulaciones calentadas a 40°C.

La Figura 8 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas de grupo de picos del ácido, según lo determinado por el análisis iCE280, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (barras verdes) de la(s) formulación(es) que se calientan a 40°C.

Los resultados, en términos de grupos del ácido, están en línea con las observaciones realizadas para el pico principal.

2.6 Criba por pH con estrés térmico

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

Se observaron disminuciones de pH en DoE2-5, como se muestra en la Tabla 16. Esto puede derivarse de posibles contaminaciones/proliferación de bacterias en las muestras.

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

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	2 semanas (40°C)	4 semanas (40°C)
DoE2-4	50	Citrato	5.8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	5,8	5,8	5,8
DoE2-5	50	Citrato	5.8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	5,8	5,8	5,2
DoE2-6	50	Citrato	5.8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	5,8	5,8	5,9

2.7 Turbidez con estrés térmico (nefelometría)

La Figura 9 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 2 semanas (barras rojas) y 4 semanas (verde barras) de la formulación o las formulaciones que se calientan a 40°C.

La turbidez de las tres formulaciones está, tiempo 0, en el intervalo de soluciones típicamente opalescentes (6-18 NTU). Con respecto a los materiales DS originarios, de turbidez típica de 19-52 NTU, las soluciones de DP después de la filtración aséptica se clarifican considerablemente.

2.8 Agregados con estrés mecánico (SE-HPLC)

La Figura 10 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, según lo determinado por SE-HPLC, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o las formulaciones que se agitan mecánicamente (agitación).

Las variaciones en los agregados totales por SE-HPLC se presentan en la Figura 10.

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

2.9 Fragmentación con estrés mecánico (Bioanalyzer)

La Figura 11 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo= 0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (barras verdes) de la formulación o formulaciones que se agitan mecánicamente (agitación).

Las variaciones en los fragmentos por Bioanalyzer se presentan en la Figura 11. Se observan cambios mínimos, siendo todos los valores registrados iguales o inferiores al 0,5%.

Después de 48 horas de agitación a temperatura ambiente, todas las muestras presentaron una fragmentación en el rango 0,2–0,4%. No se destacó ninguna tendencia hacia el aumento de la fragmentación con la agitación mecánica.

2.10 Criba por pH con estrés mecánico

5 La variación en el pH de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) durante un período de tiempo durante el cual las formulaciones se agitan mecánicamente (agitación) se muestra en la Tabla 17. No se observaron cambios.

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

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	24 horas	48 horas
DoE2-4	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	5,8	5,8	5,8
DoE2-5	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	5,8	5,8	5,8
DoE2-6	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	5,8	5,9	5,9

10 2.11 Turbidez con estrés mecánico (Nefelometría)

15 La Figura 12 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) en un punto de inicio arbitrario (barras azules, tiempo=0) y después de 24 horas (barras rojas) y 48 horas (verde barras) de la formulación o las formulaciones que se agitan mecánicamente (agitación). No se observaron cambios.

2.12 Agregados con estrés lumínico (SE-HPLC)

20 La Figura 13 es un gráfico de barras que muestra el % de agregación, según lo determinado por SE-HPLC, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del comparador HUMIRA®), antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

25 También se realizaron comparaciones con muestras de Humira (de Estados Unidos y Unión Europea) tratadas en las mismas condiciones. En el RMP, la agregación aumenta hasta un 9-15% con la exposición lumínica (en el tiempo 0, los agregados son inferiores al 1%). Todas las formulaciones de DoE2 presentan aumentos menores o comparables y, por lo tanto, una resistencia mejor/similar al estrés térmico. Más en detalle:

- 30 • Formulaciones en regulador de citrato: 4,2 → 6,1% de agregados totales tras la exposición lumínica

2.13 Fragmentación con estrés lumínico (Bioanalyzer)

35 La Figura 14 es un gráfico de barras que muestra el % de fragmentación, según lo determinado por un Bioanalyzer, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones del comparador HUMIRA®), antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

40 Se destacan los incrementos mínimos (+ 0,3% como máximo, después de la exposición). Todas las cantidades de fragmentación están muy por debajo del 1% después de una exposición de 7 horas (Figura 14).

2.14 Perfil de isoformas con estrés lumínico (iCE2280)

45 La Figura 15 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas del pico principal, según lo determinado por el análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de referencia (que representan las formulaciones comparativas HUMIRA®), antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo= 0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

50 La Figura 16 es un gráfico de barras que muestra el perfil de isoformas de los grupos de picos del ácido, según lo determinado por el análisis iCE280, de las formulaciones DoE2 (del Ejemplo 2), junto con los estándares de

referencia (que representan las formulaciones comparativas HUMIRA®), antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas).

5 En el PMR de Humira, la exposición lumínica determina efectos significativos: de manera más relevante, se observan disminuciones en la abundancia del pico principal (alrededor del -9%) y aumento concurrente del grupo del ácido (hasta + 15%), relacionados con los fenómenos de fotooxidación.

10 Las fórmulas en regulador de citrato pueden mejorar considerablemente la resistencia de la proteína a los fenómenos de degradación: las disminuciones en la abundancia del pico principal son de alrededor de -3,5% o menos, los aumentos en los grupos del ácido puntúan un máximo de +4%.

2.15 Turbidez con estrés lumínico (Nefelometría)

15 La Figura 17 es un gráfico de barras que muestra la turbidez, determinada por Nefelometría, de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2) antes de la exposición lumínica (barras azules, tiempo=0) y después de 7 horas de exposición lumínica a 765 W/m² (barras rojas). Esencialmente no se observaron cambios.

2.16 Cribado por pH con estrés lumínico

20 La variación en el pH de las formulaciones de DoE2 (del Ejemplo 2), durante un período de tiempo durante el cual las formulaciones se exponen durante 7 horas a la luz a 765 W/m², se muestra en la Tabla 18. No se observaron cambios.

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

Formulación #	Concentración de sal (NaCl) (mM)	Tipo de regulador (10 mM)	pH	Estabilizador	Concentración de tensioactivo (Polisorbato 80) (mg/ml)	Tiempo 0	Después de la exposición
DoE2-4	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0	5,8	5,8
DoE2-5	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	0,5	5,8	5,8
DoE2-6	50	Citrato	5,8	Trehalosa dihidrato (200 mM)	1	5,8	5,9

25 Conclusión del Experimento 2 de cribado

Sobre la base de los datos recopilados, relevantes para el estrés térmico, mecánico y lumínico, se puede llegar a la siguiente conclusión:

30 Formulaciones en regulador de citrato de sodio/ácido cítrico 10 mM a pH 5,8 (DoE2-4, DoE2-5, DoE2- 6):

- Ante estrés térmico, se destacaron rendimientos comparables a Humira.
- Mínimo aumento de la agregación con agitación mecánica.
- Rendimiento mejorado con respecto a Humira cuando se somete a irradiación continua (7 horas).

40 Con base en el trabajo de criba realizado en diferentes formulaciones que varían en regulador/pH, estabilizador, cantidad de agente de isotonicidad (NaCl) y nivel de tensioactivo (Polisorbato 80), la mejor composición, que presenta características comparables o incluso mejoradas con respecto a Humira en diferentes condiciones de estrés (térmico, mecánica, lumínico) se ha identificado como:

Ingrediente	cantidad (mg/ml)
Adalimumab	50
Ácido cítrico monohidrato	2,10 *

(continuación)

Ingrediente	cantidad (mg/ml)
Trehalosa dihidrato	75,67 **
Polisorbato 80	1,00
Cloruro de sodio	2,92 ***
agua para inyección e hidróxido de sodio	q.b. para ajustar el pH a 5,8
* correspondiente a regulador de citrato de sodio/ácido cítrico 10 mM; **correspondiente a 200 mM; *** correspondiente a 50 mM	

5 Tales formulaciones se pueden incorporar fácilmente dentro de jeringas de vidrio precargadas con agujas de 29G (1,27 cm).

Abreviaturas

10	DoE	Diseño de experimento
	PD	Producto farmacéutico
	SD	Substancia farmacéutico
	DSF	Fluorimetría diferencial de barrido
	FT-IR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
	MS-A	Merck Serono-Aubonne
15	MS-V	Merck Serono-Vevey
	DO	Densidad óptica
	PES	Polietersulfona
	Rpm	revoluciones por minuto
	RT	Temperatura ambiente
20	SE-HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución con exclusión de tamaño
	SMI	Resumen de instrucciones de fabricación
	POS	Procedimiento Operativo Estándar
	IT	Instrucción de trabajo

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica líquida que consiste en:

- 5 - 50 mg/ml de adalimumab;
 - un sistema regulador de citrato;
 - un estabilizador de azúcar;
 - 10 - un agente de tonicidad;
 - un tensioactivo; y
 - 15 - agua (para inyección);
- en la que dichos adalimumab, sistema regulador de citrato, estabilizador de azúcar, agente de tonicidad y tensioactivo están presentes en una relación molar de 1:14-40:288-865:28-576:0,1-3,2 respectivamente.

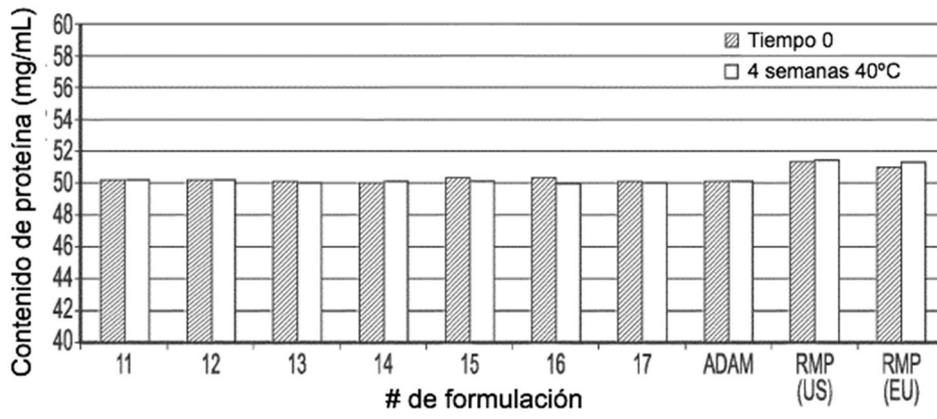


FIG. 1

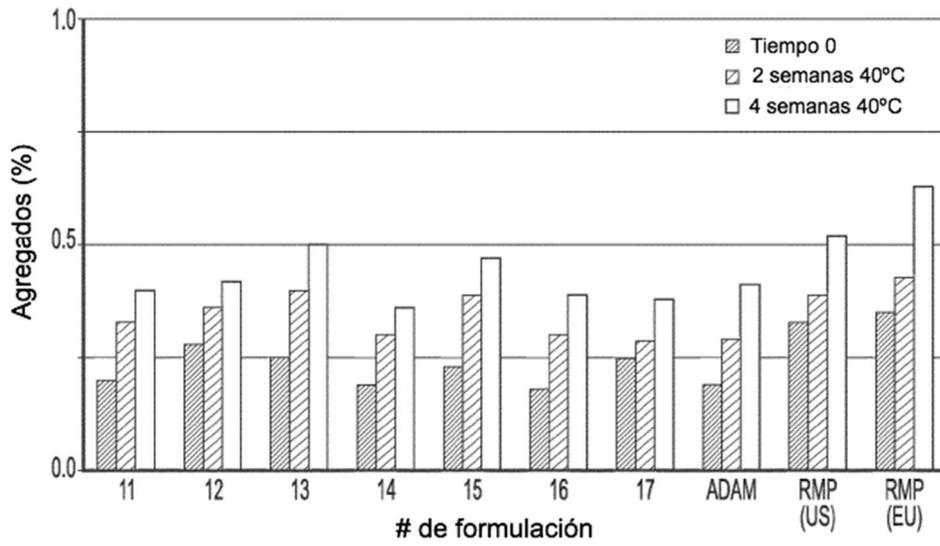


FIG. 2

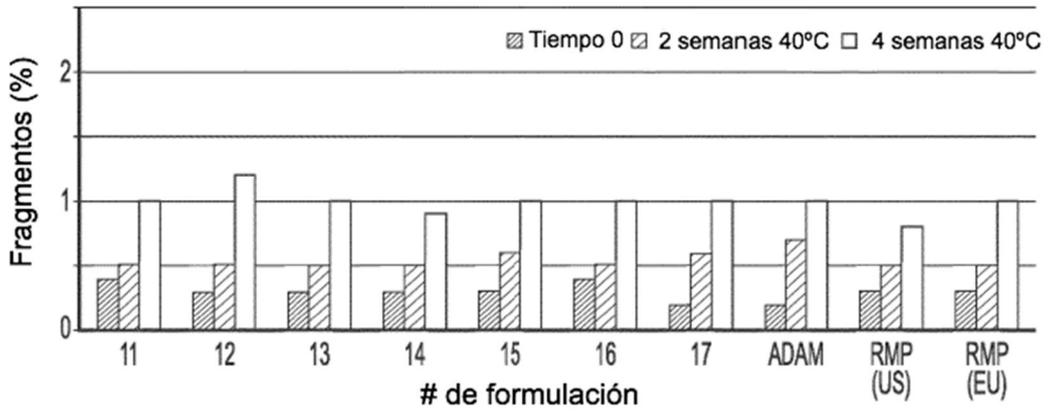


FIG. 3

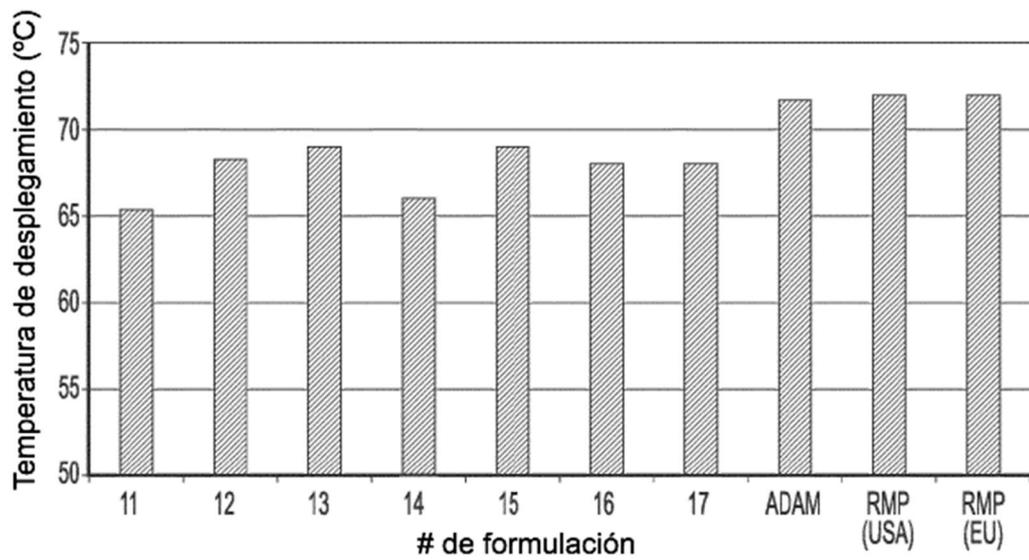


FIG. 4

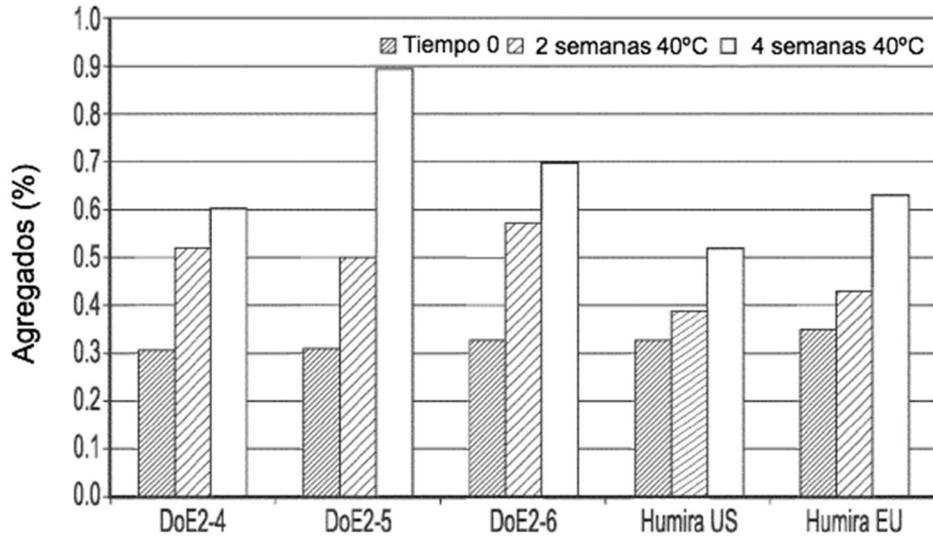


FIG. 5

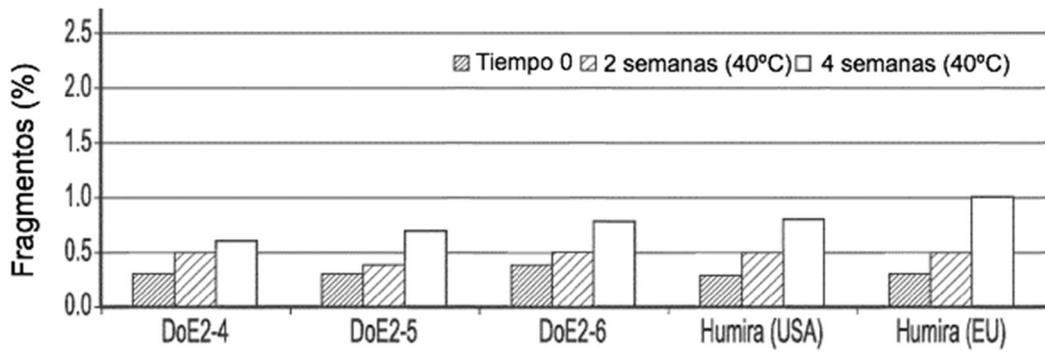


FIG. 6

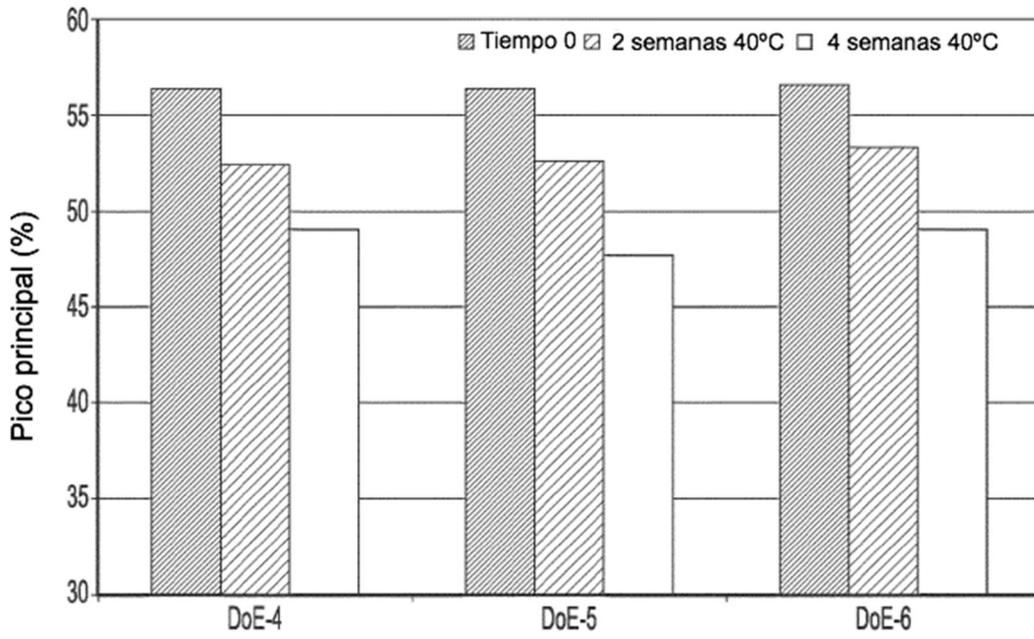


FIG. 7

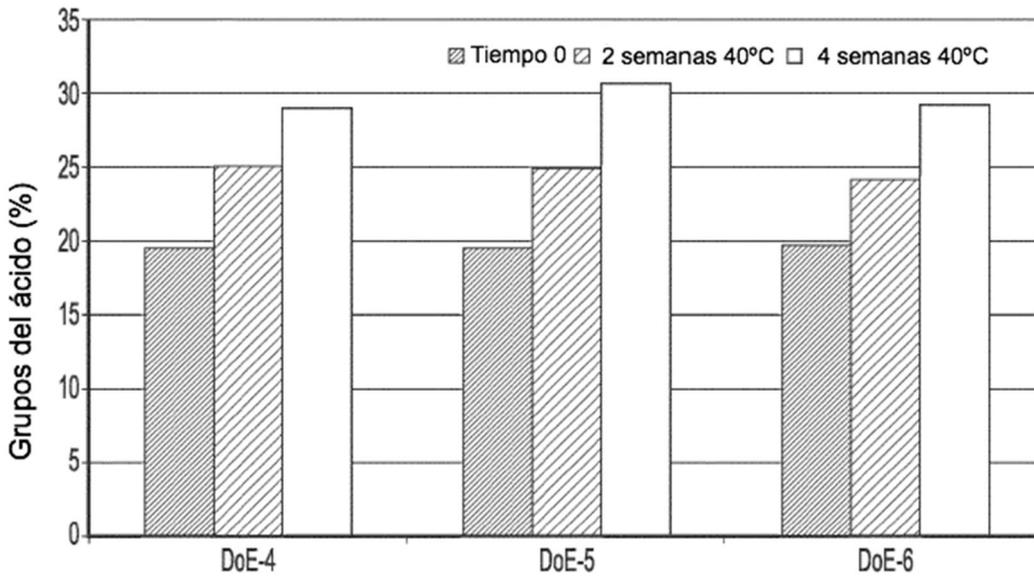


FIG. 8

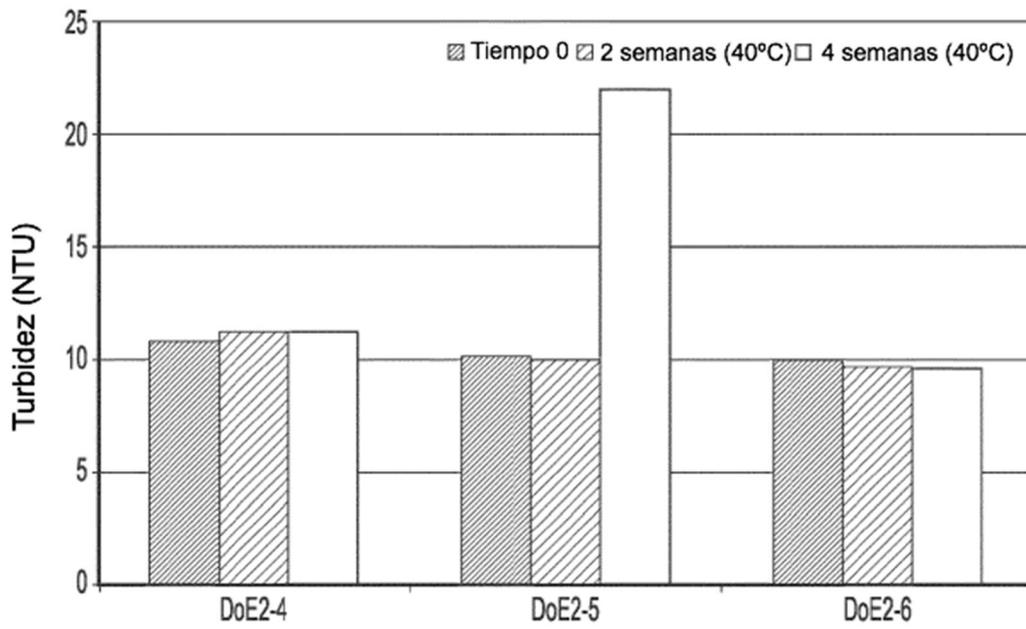


FIG. 9

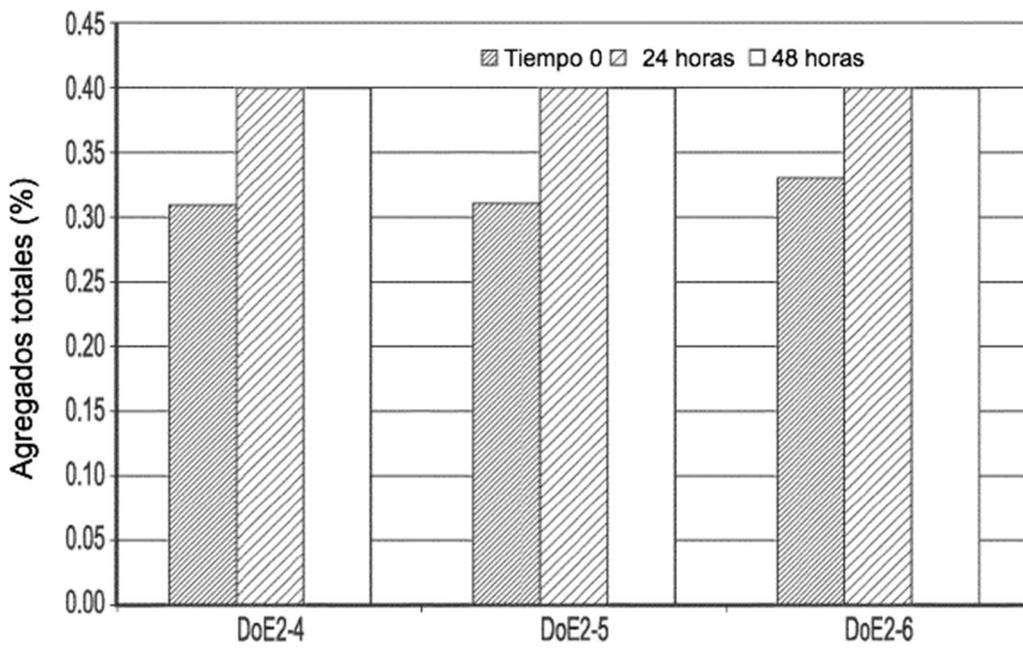


FIG. 10

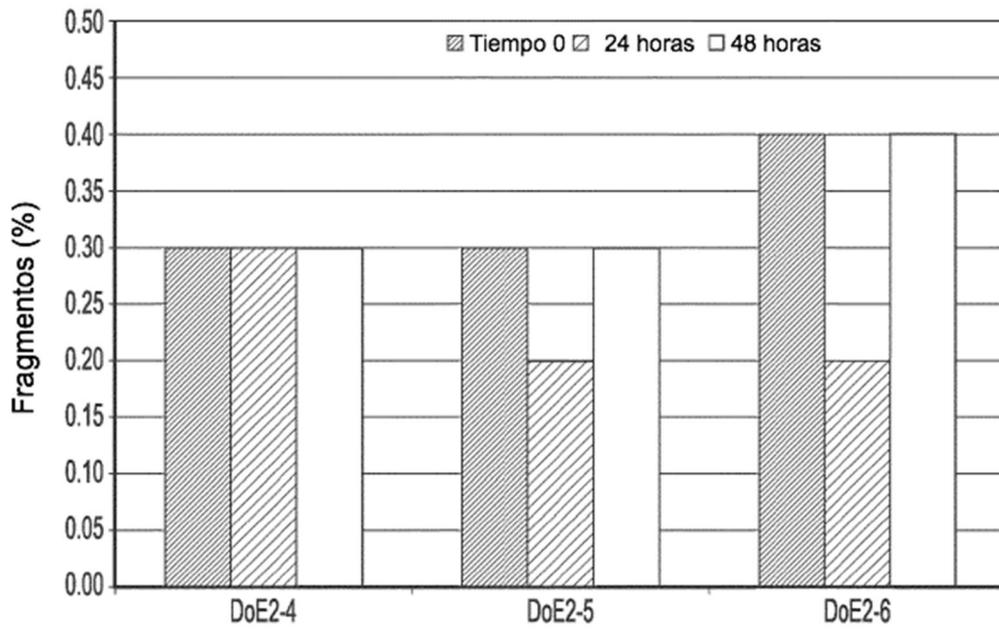


FIG. 11

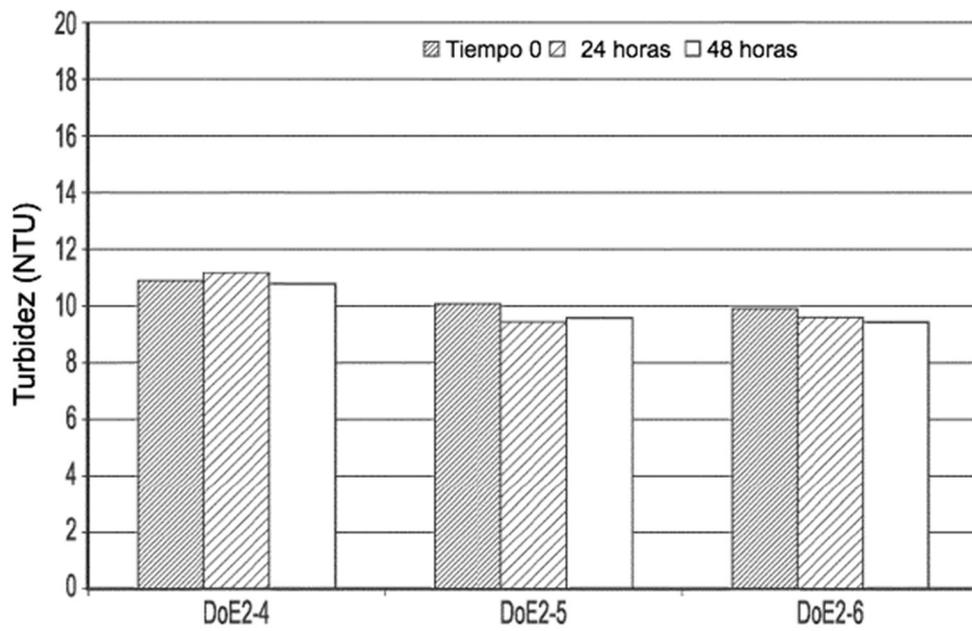


FIG. 12

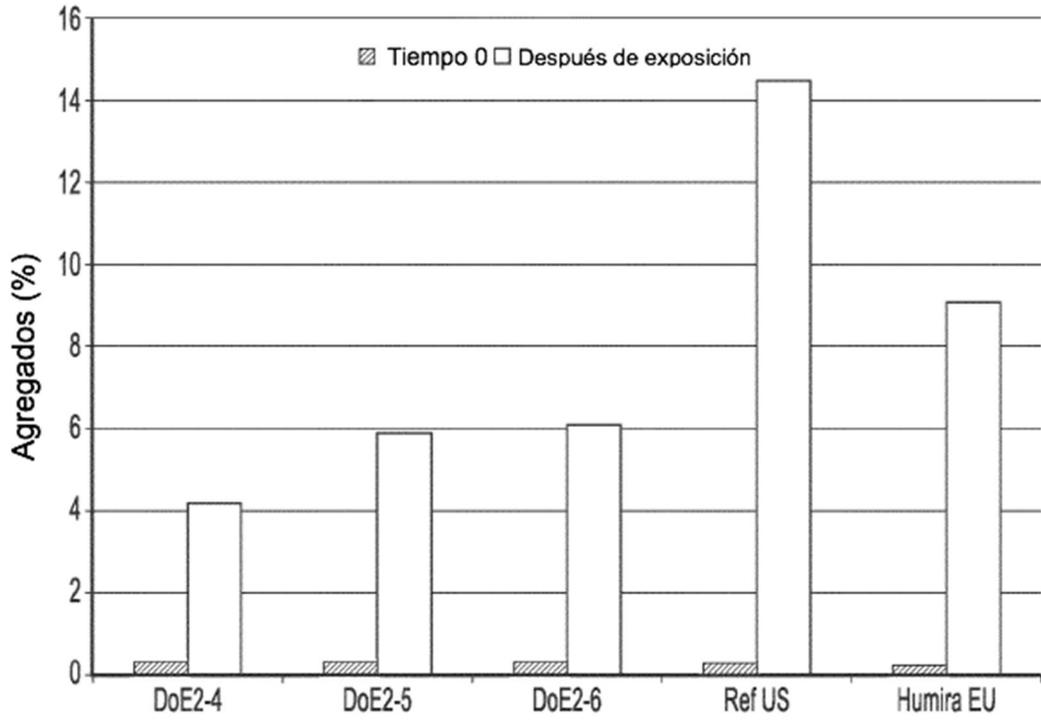


FIG. 13

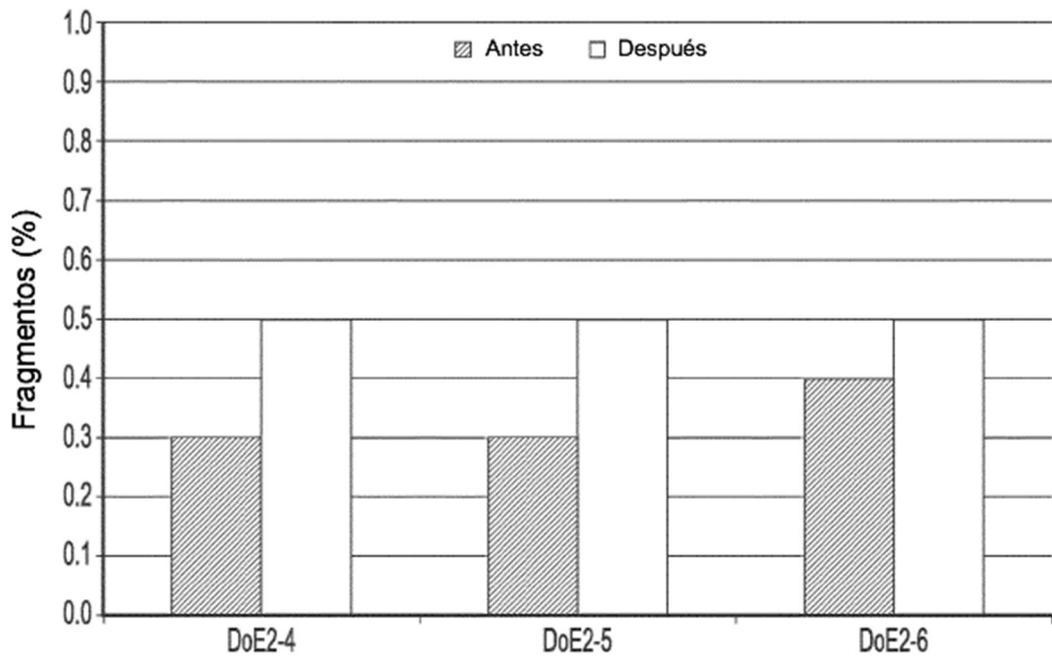


FIG. 14

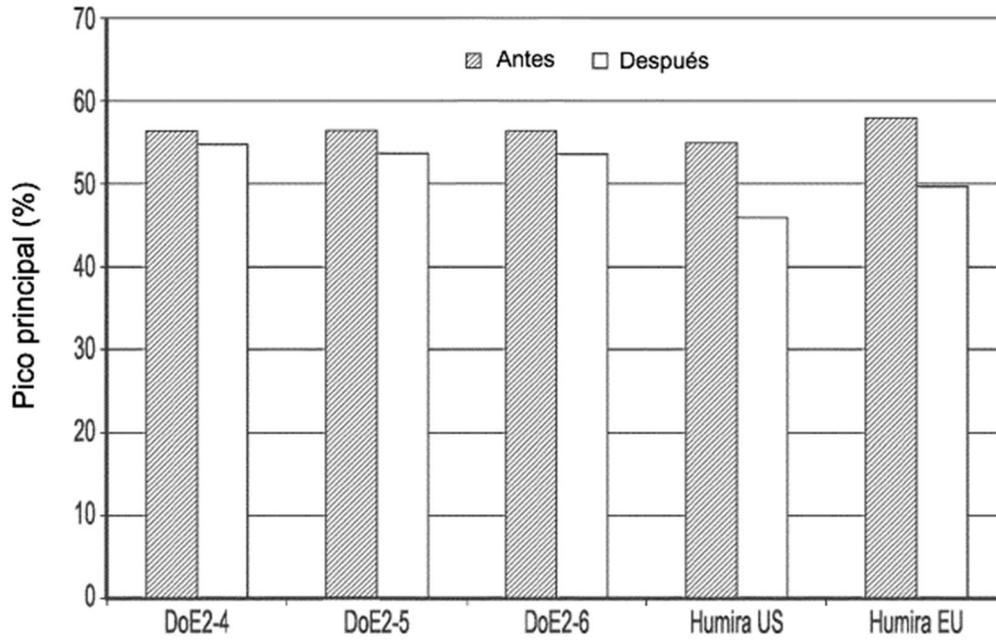


FIG. 15

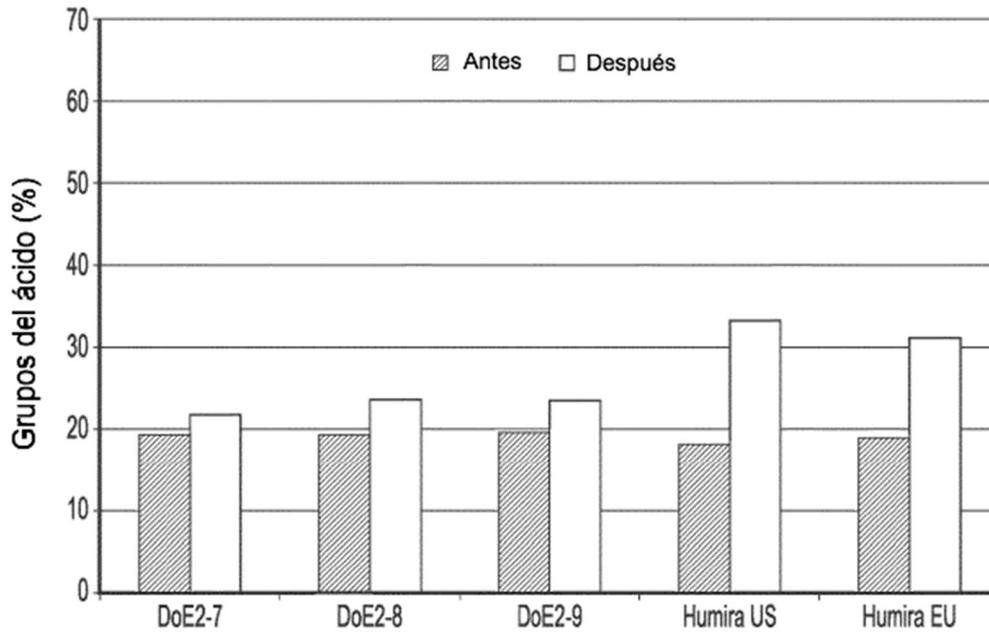


FIG. 16

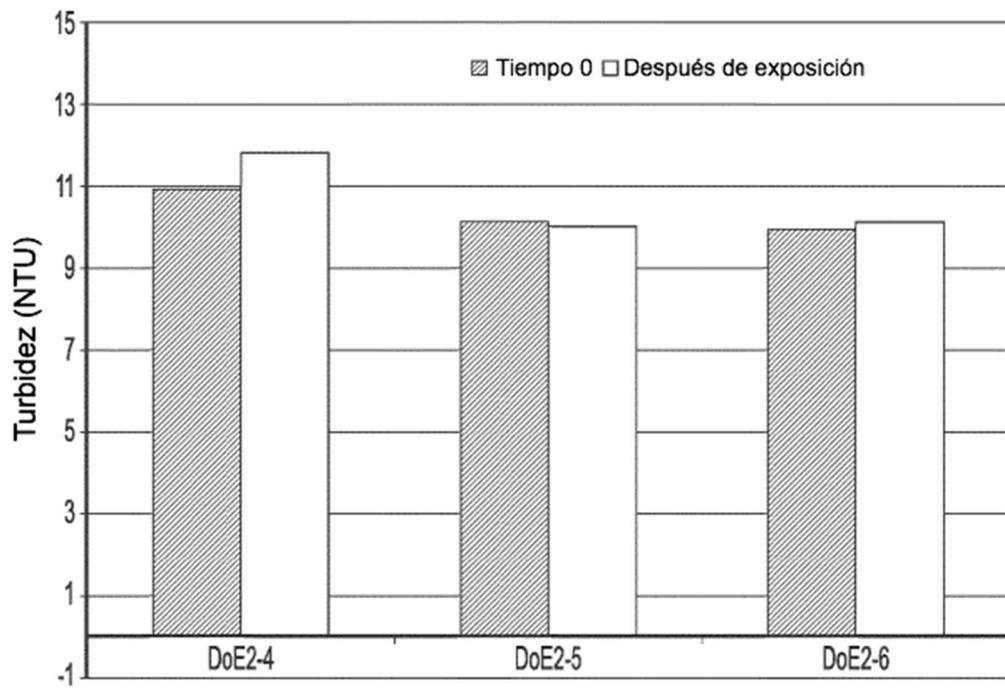


FIG. 17