

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 818 229**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**C07K 16/00** (2006.01)  
**C07K 16/18** (2006.01)  
**C07K 16/28** (2006.01)  
**C12P 21/00** (2006.01)  
**C12P 21/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.08.2016 PCT/US2016/047506**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.02.2017 WO17031288**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.08.2016 E 16837818 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020 EP 3337502**

54 Título: **Formulación anti-IFNAR1 estable**

30 Prioridad:

**19.08.2015 US 201562207164 P**

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

**09.04.2021**

73 Titular/es:

**ASTRAZENECA AB (100.0%)  
151 85 Södert, SE**

72 Inventor/es:

**DEPAZ, ROBERTO;  
DEJESUS, NATALIE y  
BEE, JARED**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 818 229 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Formulación anti-IFNAR1 estable

Esta solicitud incorpora por referencia una Lista de secuencias enviada con la solicitud a través de EFS-Web en forma de un archivo de texto titulado "IFNAR-350WO1\_SL.txt" creado el 18 de agosto de 2016 y que tiene un tamaño de 2,490.

### 5 ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

#### *Campo de la invención*

10 La presente invención se refiere a una formulación de anticuerpo estable de baja viscosidad, en la que la formulación comprende una alta concentración de un anticuerpo que se une específicamente al receptor 1 de interferón alfa (IFNAR1) o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En realizaciones, la formulación de anticuerpo comprende anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

15 En algunas realizaciones, la invención se refiere a una formulación de anticuerpo estable que comprende de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo o fragmento del mismo que se une específicamente a IFNAR1, aproximadamente 25 mM a aproximadamente 130 mM de lisina o una sal de lisina; un excipiente no cargado; un tensioactivo; y un tampón de formulación. En algunas realizaciones, la invención se refiere a un recipiente, una forma de dosificación y un kit. En algunas realizaciones, la invención se refiere a un método \*para preparar y usar la formulación de anticuerpo estable.

#### *Antecedentes*

20 Se han usado anticuerpos en el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones debido a su especificidad de reconocimiento de diana, generando así resultados altamente selectivos después de la administración sistémica. Para que los anticuerpos sigan siendo eficaces, deben mantener su actividad biológica durante su producción, purificación, transporte y almacenamiento. Se han desarrollado nuevas técnicas de producción y purificación para proporcionar grandes cantidades de anticuerpos monoclonales altamente purificados a producir. Sin embargo, todavía existen desafíos para estabilizar estos anticuerpos para su transporte y almacenamiento, y aún existen más desafíos para proporcionar los anticuerpos en una forma de dosificación adecuada para su administración.

25 La desnaturalización, agregación, contaminación y formación de partículas pueden ser obstáculos importantes en la formulación y almacenamiento de anticuerpos. Debido a la amplia variedad de anticuerpos, no existen formulaciones o condiciones universales adecuadas para el almacenamiento de todos los anticuerpos. Las formulaciones óptimas de un anticuerpo a menudo son específicas para ese anticuerpo. Además, es posible que las formulaciones de anticuerpos necesiten adaptarse más a un anticuerpo específico dependiendo de la concentración del anticuerpo, y/o una propiedad física deseada, por ejemplo, la viscosidad de la formulación de anticuerpo. Las formulaciones de almacenamiento de anticuerpos son a menudo una parte importante del proceso de investigación y desarrollo de un anticuerpo comercial.

30 Se han propuesto diversos métodos para superar los desafíos asociados con la estabilidad de los anticuerpos. Por ejemplo, en algunos casos, el anticuerpo a menudo se liofiliza y a continuación se reconstituye poco antes de la administración. Sin embargo, la reconstitución añade una etapa adicional al proceso de administración, y podría introducir contaminantes a la formulación. Además, los anticuerpos reconstituidos podrían experimentar agregación y formación de partículas. Por lo tanto, existe la necesidad de proporcionar formulaciones de anticuerpos estables que puedan superar los desafíos asociados con el transporte y el almacenamiento.

#### *SUMARIO DE LA INVENCION*

40 La presente invención se refiere a una formulación de anticuerpo estable de baja viscosidad, en la que la formulación comprende una alta concentración de anticuerpo anti-receptor 1 de interferón alfa o un fragmento de unión a antígeno del mismo. La invención se define por las reivindicaciones. La invención está dirigida a una formulación de anticuerpo que comprende: a. De 100 mg/ml a 200 mg/ml de anifrolumab; b. Lisina HCl de 40 mM a 60 mM; c. Trehalosa dihidrato de 100 mM a 160 mM; d. Polisorbato 80 del 0.02 % al 0.1 %; e. Histidina/histidina HCl de 15 mM a 35 mM, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.5 a aproximadamente 6.5. En

45 En realizaciones, la invención está dirigida a una formulación de anticuerpo que comprende de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo; lisina HCl de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM; trehalosa dihidrato de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 160 mM; de aproximadamente el 0.02 % a aproximadamente el 0.1 % de polisorbato 80; histidina/histidina HCl de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 35 mM, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.5 a 6.5.

50 En realizaciones adicionales, la invención está dirigida a una formulación de anticuerpo que comprende de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo; lisina HCl de aproximadamente 45 mM a aproximadamente 55 mM; trehalosa dihidrato de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 140 mM; de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.08 % de polisorbato 80; e

histidina/histidina HCl de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 30 mM, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.8 a aproximadamente 6.1.

5 En algunas realizaciones, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende: aproximadamente 150 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo; aproximadamente 50 mM de lisina HCl; aproximadamente 130 mM de trehalosa dihidrato; aproximadamente el 0.05 % de polisorbato 80; y aproximadamente 25 mM de histidina/histidina HCl, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.9.

En algunas realizaciones, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende: 150 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo; lisina HCl 50 mM; trehalosa dihidrato 130 mM; Polisorbato 80 al 0.05 %; Histidina/histidina HCl 25 mM, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.9.

10 En realizaciones adicionales, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende: 150 mg/ml de anifrolumab; lisina HCl 50 mM; trehalosa dihidrato 130 mM; Polisorbato 80 al 0.05 %; Histidina/histidina HCl 25 mM, en la que la formulación tiene un pH de 5.9.

15 En algunas realizaciones, la invención se dirige a una forma de dosificación unitaria farmacéutica adecuada para la administración parenteral a un ser humano que comprende cualquiera de las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento en un recipiente adecuado.

En algunas realizaciones, la invención está dirigida a un kit que comprende cualquier formulación de anticuerpo descrita en el presente documento, un recipiente como se describe en el presente documento, una forma de dosificación unitaria como se describe en el presente documento, o una jeringa precargada como se describe en el presente documento.

20 Se divulga un método para producir una formulación de anticuerpo estable, comprendiendo el método: purificar un anticuerpo de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo anti-IFNAR o un fragmento de unión al antígeno del mismo, colocar el anticuerpo aislado en una formulación estabilizadora para formar la formulación de anticuerpo estable, en la que la formulación de anticuerpo estable resultante comprende: de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml del anticuerpo; de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 130 mM de lisina o una sal de lisina; de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM de excipiente no cargado; de  
25 aproximadamente el 0.02 % a aproximadamente el 0.1 % de un tensioactivo; y un tampón de formulación.

En algunas realizaciones, la invención se dirige a un método para tratar una enfermedad o trastorno mediado por IFN de tipo I en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la formulación de anticuerpo de la invención.

### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

30 Con el propósito de ilustrar la invención, se representan en los dibujos ciertas realizaciones de la invención. Sin embargo, la invención no se limita a las disposiciones e instrumentalidades precisas de las realizaciones representadas en los dibujos.

La **figura 1** muestra la viscosidad en función del pH en un método basado en perlas de cribado de alto rendimiento.

35 La **figura 2** muestra la viscosidad en función de la concentración de lisina HCl usando un método basado en perlas de cribado de alto rendimiento.

La **figura 3** muestra la viscosidad en función de la concentración de anticuerpo (anifrolumab) para formulaciones que contienen histidina/histidina-HCl 25 mM, lisina 25 mM, trehalosa 130 mM a pH 6.0 (círculos); e histidina/histidina-HCl 25 mM, lisina 50 mM, trehalosa 130 mM a pH 6.0 (rombos).

40 La **figura 4** muestra la viscosidad en función de la concentración de anticuerpo (anifrolumab) para soluciones que contienen: lisina 0 mM (rombos); lisina 5 mM (cuadrados); lisina 12.5 mM (triángulos); lisina 25 mM (x); y lisina 50 mM (asteriscos).

La **figura 5** muestra la viscosidad en función de la concentración de lisina HCl para soluciones que contienen: 135 mg/ml de anifrolumab (rombos); 150 mg/ml de anifrolumab (cuadrados); y 180 mg/ml de anifrolumab (triángulos).

### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

#### 45 Definiciones

Antes de describir la presente invención en detalle, debe entenderse que esta invención no se limita a composiciones específicas o etapas de proceso, ya que pueden variar. Debe observarse que, como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales, a menos que el contexto indique claramente otra cosa. En el presente documento los términos "un" (o "uno"), así como los términos "uno o más" y "al menos uno" pueden usarse indistintamente.

Además, cuando en el presente documento se usa "y/o" se debe tomar como divulgación específica de cada una de las dos características o componentes especificados con o sin el otro. Por lo tanto, el término "y/o" como se usa en una expresión tal como "A y/o B" en el presente documento pretende incluir "A y B", "A o B", "A" (en solitario) y "B" (en solitario). Del mismo modo, el término "y/o" como se usa en una expresión como "A, B y/o C" pretende incluir cada uno de las siguientes realizaciones: A, B, y C; A, B, o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (en solitario); B (en solitario); y C (en solitario).

A lo largo de la presente divulgación, todas las expresiones de porcentaje, relación, y similares, son "en peso" a menos que se indique lo contrario. Como se usa en el presente documento, "en peso" es sinónimo del término "en masa" e indica que una relación o porcentaje definido en el presente documento se realiza de acuerdo con el peso en lugar del volumen, el espesor o alguna otra medida.

El término "aproximadamente" se usa en el presente documento para referirse a aproximadamente, en la región de, en torno a, o alrededor de. Cuando el término "aproximadamente" se usa junto con un intervalo numérico, modifica ese intervalo extendiendo los límites por encima y por debajo de los valores numéricos establecidos. En general, el término "aproximadamente" se usa en el presente documento para modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor indicado en una variación del 10 %.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica con la que se relaciona esta invención. Por ejemplo, el Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2ª ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3ª ed., 1999, Academic Press; y el Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revisado, 2000, Oxford University Press, proporcionan a un experto un diccionario general de muchos de los términos utilizados en esta invención.

Las unidades, prefijos y símbolos se indican en su forma aceptada por el Sistema Internacional de Unidades (SI). Los intervalos numéricos incluyen los números que definen el intervalo. A menos que se indique lo contrario, las secuencias de aminoácidos se escriben de izquierda a derecha en orientación de amino a carboxi. Los títulos proporcionados en el presente documento no son limitaciones de los diversos aspectos o realizaciones de la invención, que pueden obtenerse haciendo referencia a la memoria descriptiva en su conjunto. Por consiguiente, los términos definidos a continuación se definen más completamente por referencia a la memoria descriptiva en su totalidad.

Se entiende que siempre que en el presente documento se describan realizaciones con la expresión "que comprende", también se proporcionan realizaciones análogas descritas en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en".

Se hace referencia a los aminoácidos en el presente documento por sus símbolos de tres letras comúnmente conocidos o por los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB. Asimismo, los nucleótidos se denominan por sus códigos de una sola letra comúnmente aceptados.

Como se usa en el presente documento, el término "fuerza de inyección" es la cantidad de presión (en Newtons) requerida para hacer pasar la formulación de anticuerpo a través de una aguja.

Como se usa en el presente documento, el término "enfermedad autoinmune" se refiere a un trastorno, patología o afección asociada con la formación de autoanticuerpos reactivos con las propias células del paciente para formar complejos antígeno-anticuerpo. El término "enfermedad autoinmune" incluye afecciones tales como, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, así como aquellos trastornos que son desencadenados por un agente externo específico, por ejemplo, fiebre reumática aguda. Los ejemplos de trastornos autoinmunes incluyen, pero sin limitación, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad de Berger, síndrome de fatiga crónica, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, fibromialgia, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, púrpura trombocitopénica idiopática, liquen plano, esclerosis múltiple, miastenia grave, psoriasis, fiebre reumática, artritis reumatoide, esclerodermia, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso sistémico, diabetes tipo 1, colitis ulcerosa y vitíligo. En aspectos específicos, la enfermedad autoinmune es lupus eritematoso sistémico (LES), esclerodermia (SSE), miositis o nefritis lúpica.

Los términos "receptor 1 de interferón alfa", "IFNARI" e "IFNAR" se usan indistintamente e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especies de IFNAR1 humano, y análogos que tienen al menos un epítipo común con IFNARI. Véase, por ejemplo, de Weerd et al., J. Biol. Chem. 282:20053-20057 (2007). Por consiguiente, los anticuerpos humanos específicos para IFNARI humano, en ciertos casos, reaccionan de forma cruzada con IFNARI de especies distintas a la humana, u otras proteínas que están estructuralmente relacionadas con IFNAR1 humano (por ejemplo, homólogos de IFNAR1 humano). En otros casos, los anticuerpos pueden ser completamente específicos para IFNARI humano y no exhibir especies u otros tipos de reactividad cruzada. La secuencia de ADNc completa de IFNAR1 humano tiene el número de acceso de Genbank NM 000629.

Los términos "interferón de tipo I" o "IFN de tipo I" como se usan en el presente documento, se refieren a miembros de la familia de moléculas de interferón de tipo I que son ligandos para IFNAR1 (es decir, miembros de la familia de moléculas de interferón de tipo I que son capaces de unirse a IFNAR1). Ejemplos de ligandos de interferón de tipo I son interferón alfa 1, 2a, 2b, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, 21, interferón beta e interferón omega.

El término "enfermedad o trastorno mediado por IFN de tipo I" se refiere a cualquier enfermedad, trastorno o afección inducible por IFN de tipo I o IFN a que exhiba un perfil de expresión de marcador farmacodinámico ("PD") de IFN de tipo I o firma génica (GS de IFN de tipo I). Se entenderá que un perfil de expresión de marcador PD y una firma génica son equivalentes. Estas enfermedades, trastornos o afecciones incluyen aquellas con un componente autoinmune tal como lupus eritematoso sistémico (LES), esclerodermia, nefritis lúpica o miositis. Una enfermedad o trastorno mediado por IFN de tipo I puede tratarse mediante la administración de una molécula pequeña o un agente biológico, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Si el agente terapéutico es un agente biológico, puede ser un anticuerpo específico para cualquier subtipo o subtipos de IFN de tipo I o IFN $\alpha$ . Por ejemplo, el anticuerpo puede ser específico para cualquiera de IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 6, IFN $\alpha$ 7, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10, IFN $\alpha$ 14, IFN $\alpha$ 17, IFN $\alpha$ 21, IFN $\beta$  o IFN $\omega$ . Como alternativa, el anticuerpo puede ser específico para cualesquiera dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce subtipos de IFN de tipo I o IFN $\alpha$ . Si el anticuerpo es específico para más de un subtipo de IFN de tipo I, el anticuerpo puede ser específico para IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10 e IFN $\alpha$ 21; o puede ser específico para IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 8 e IFN $\alpha$ 10; o puede ser específico para IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 10 e IFN $\alpha$ 21. Un agente terapéutico que modula la actividad de IFN $\alpha$  puede neutralizar la actividad de IFN $\alpha$ . Una enfermedad o trastorno mediado por IFN de tipo I también se puede tratar con anticuerpos específicos para un receptor de IFN de tipo I, por ejemplo, IFNAR1. En algunos aspectos, los anticuerpos anti-IFNAR1 pueden reaccionar de forma cruzada con IFNAR1 de especies distintas a la humana. En otros aspectos, los anticuerpos anti-IFNAR1 pueden ser específicos para IFNAR1 solamente y no exhibir especies u otros tipos de reactividad cruzada. En algunos aspectos, los anticuerpos anti-IFNAR1 exhiben afinidades de unión reducidas por los ligandos FC y tienen una función efectora reducida o suprimida (ADCC y/o CDC), unión reducida o suprimida a ligandos Fc, o toxicidades reducidas o suprimidas en comparación con un anticuerpo no modificado.

El término "MEDI-546" se refiere a una versión modificada con Fc del anticuerpo anti-IFNAR1 9D4 descrito en la Patente de EE.UU. N.º 7,662,381. Los términos "MEDI-546" y "anifrolumab" se usan indistintamente en el presente documento. La secuencia de MEDI-546 se describe en el documento U.S. 2011-0059078. MEDI-546 comprende una combinación de tres mutaciones: L234F, L235E y P331S, en las que la numeración es según el índice EU como se expone en Kabat, introducido en la bisagra inferior y el dominio CH2 de la IgG 1 humana, que causa una disminución en su unión a Fc $\gamma$ R1 (CD64), Fc $\gamma$ R1IA (CD32A), Fc $\gamma$ R1III (CD16) y C1q humanos. Véase, por ejemplo, el documento U.S. 2011/0059078 y Oganessian et al. Acta Crystallographica D 64:700-704 (2008). Las secuencias VH y V $\kappa$  de MEDI-546 se muestran en la TABLA 1.

**TABLA 1**

MEDI-546 VH (SEQ ID NO:1)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYIFTNYWIAWVRQMPGKC LESMGIYPGDSDIRYSPFQGVTSADKSITAYLQWSSLKAS DTAMYCARHDIEGFDYWGRGTLTVSS
MEDI-546 V $\kappa$ (SEQ ID NO:2)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSFFAWYQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRLSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQ QYDSSAITFGQGRLEIK

El término "anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que modula la actividad de IFN de tipo I" se refiere a un anticuerpo (véase más adelante) en su sentido más amplio capaz de modular la actividad de IFN de tipo I en un paciente. El término "modulación", como se usa en el presente documento, incluye la inhibición o supresión de una actividad de IFN de tipo I, así como la inducción o potenciación de una actividad de IFN de tipo I. En aspectos específicos, la actividad de IFN tipo I es actividad. En algunos aspectos, la supresión de una GS de IFN de tipo I es una supresión de una actividad de IFN de tipo I. En algunos aspectos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es monoclonal. En aspectos específicos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que modula la actividad de IFN de tipo I se une específicamente a un receptor de IFN de tipo I tal como IFNAR1. En algunos aspectos específicos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a la subunidad 1 de IFNAR1.

El término "anticuerpo" se usa en el presente documento en su sentido más amplio e incluye, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multivalentes, anticuerpos multiespecíficos, anticuerpos quiméricos, y anticuerpos humanizados. El término "anticuerpo" incluye anticuerpos completos. El término "anticuerpo" también se refiere a una proteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) de inmunoglobulina y dos cadenas ligeras (L) de inmunoglobulina interconectadas por enlaces disulfuro, o una porción de unión a antígeno de las mismas. Cada cadena pesada está compuesta por una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada está compuesta por tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera está compuesta por un dominio,

CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL está compuesto por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inmunoglobulina a los tejidos huésped o factores, incluidas diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico.

El término "fragmento de unión a antígeno" se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, IFNAR). Se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los ejemplos de fragmentos de unión incluidos dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento F<sub>d</sub> que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento F<sub>v</sub> que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), que consiste en un dominio VH; y (vi) una región determinante de complementariedad (CDR) aislada. Además, aunque los dos dominios del fragmento F<sub>v</sub>, VL y VH, están codificados por genes separados, se pueden unir, utilizando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permite elaborarse como una cadena de proteína única en la que las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes conocidas como F<sub>v</sub> monocatenaria (scFv); véanse, por ejemplo, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). También se pretende que dichos anticuerpos monocatenarios estén incluidos dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpos se obtienen usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, y los fragmentos se criban para determinar su utilidad de la misma manera que los anticuerpos intactos.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, pretende referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a IFNAR está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos de IFNAR). Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a IFNAR puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de IFNAR de otras especies. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

El término "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única. Un anticuerpo monoclonal muestra una única especificidad de unión y afinidad por un epítipo particular.

El término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables en las que tanto las regiones marco como CDR se derivan de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Además, si el anticuerpo contiene una región constante, la región constante también se deriva de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la divulgación pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*). Sin embargo, el término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se hayan injertado en secuencias marco humanas.

El término "anticuerpo monoclonal humano" se refiere a anticuerpos que muestran una única especificidad de unión que tienen regiones variables en las que tanto las regiones marco como CDR se derivan de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. En una realización, los anticuerpos monoclonales humanos son producidos por un hibridoma que incluye un linfocito B obtenido de un animal transgénico no humano, por ejemplo, un ratón transgénico, que tiene un genoma que comprende un transgén de cadena pesada humana y un transgén de cadena ligera fusionado a una célula inmortalizada.

El término "anticuerpo humano recombinante", como se usa en el presente documento, incluye todos los anticuerpos humanos que se preparan, se expresan, se crean o se aíslan por medios recombinantes, tales como (a) anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico o transcromosómico para genes de inmunoglobulina humana o un hibridoma preparado a partir de los mismos (descrito más adelante), (b) anticuerpos aislados de una célula huésped transformada para expresar el anticuerpo humano, por ejemplo, de un transfectoma, (c) anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatorios y recombinantes, y (d) anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables en las que las regiones marco y CDR se derivan de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. En ciertas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes pueden someterse a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y, por tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones VH y VL de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, si bien se derivan de las secuencias VH y VL de la línea germinal humana y están relacionadas con ella, pueden no existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, también incluye anticuerpos "quiméricos" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o perteneciente a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la cadena o cadenas son idénticas u homólogas a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (Patente de EE.UU. N.º 4,816,567; y Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)).

Las estructuras de anticuerpos básicas en sistemas de vertebrados se conocen relativamente bien. Véase, por ejemplo, Harlow et al. (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (2ª ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press).

En el caso de que haya dos o más definiciones de un término que se use y/o se acepte en la técnica, la definición del término tal como se usa en el presente documento pretende incluir todos estos significados a menos que se indique explícitamente lo contrario. Un ejemplo específico es el uso del término "región determinante de complementariedad" ("CDR") para describir los sitios de combinación de antígenos no contiguos que se encuentran dentro de la región variable de polipéptidos tanto de cadena pesada como ligera. Esta región particular ha sido descrita por Kabat et al. (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" y por Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), donde las definiciones incluyen superposiciones o subconjuntos de residuos de aminoácidos cuando se comparan entre sí. No obstante, la aplicación de cualquiera de las definiciones para hacer referencia a una CDR de un anticuerpo o variantes del mismo se pretende que esté dentro del alcance del término tal como se define y usa en el presente documento. Los residuos de aminoácidos apropiados que abarcan las CDR como se define por cada una de las referencias citadas anteriormente se exponen a continuación en la TABLA 2 como una comparación. Los números exactos de residuos que abarcan una CDR particular variarán dependiendo de la secuencia y el tamaño de la CDR. Los expertos en la técnica pueden determinar de forma rutinaria qué residuos comprenden una CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de la región variable del anticuerpo.

**TABLA 2**

Definiciones de CDR <sup>1</sup>		
	Kabat	Chothia
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

<sup>1</sup>La numeración de todas las definiciones de CDR en la TABLA 2 es según las convenciones de numeración establecidas por Kabat et al. (véase a continuación).

Kabat et al. también definieron un sistema de numeración para secuencias de dominio variable que es aplicable a cualquier anticuerpo. Un experto en la técnica puede asignar sin ambigüedades este sistema de "numeración de Kabat" a cualquier secuencia de dominio variable, sin depender de ningún dato experimental más allá de la propia secuencia. Como se usa en el presente documento, "numeración de Kabat" se refiere al sistema de numeración establecido por Kabat et al. (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest". A menos que se especifique lo contrario, las referencias a la numeración de posiciones de residuos de aminoácidos específicos en un anticuerpo anti-IFNAR o un fragmento de unión a antígeno, variante o derivado del mismo de la presente divulgación, son según el sistema de numeración de Kabat.

Los términos "tratar" o "tratamiento", como se usan en el presente documento, se refieren tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas, en las que el objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado en un sujeto, tal como la progresión de una enfermedad o afección inflamatoria. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, el alivio de los síntomas, la disminución de la extensión de la enfermedad, el estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de la enfermedad, el retraso o la desaceleración del avance de la enfermedad, la mejora o la paliación de la patología, y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. El término "tratamiento" también significa prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Los que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padecen la afección o el trastorno, así como los que son propensos a tener la afección o trastorno o aquellos en los que se debe prevenir la afección o trastorno.

Términos tales como "tratar" o "tratamiento" o "para tratar" se refieren tanto a (1) medidas terapéuticas que curan, ralentizan, disminuyen los síntomas de, y/o detienen la progresión de una afección o trastorno patológico diagnosticado, como a (2) medidas profilácticas o preventivas que previenen y/o retrasan el desarrollo de una afección o trastorno

patológico específico. Por lo tanto, aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya tienen el trastorno; aquellos propensos a tener el trastorno; y aquellos en quienes se debe prevenir un trastorno.

Los términos "cantidad eficaz" o "cantidad eficaz para" o "cantidad terapéuticamente eficaz" incluyen la referencia a una dosificación de un agente terapéutico suficiente para producir un resultado deseado.

- 5 Por "sujeto" o "paciente" se entiende cualquier sujeto, particularmente un sujeto mamífero, para el que se desea un diagnóstico, pronóstico o terapia. Como se usa en el presente documento, los términos "sujeto" o "paciente" incluyen cualquier ser humano o animal no humano. El término "animal no humano" incluye todos los vertebrados, por ejemplo, mamíferos y no mamíferos, tales como primates no humanos, ovejas, perros, gatos, caballos, vacas, osos, pollos, anfibios, reptiles, etc. Como se usan en el presente documento, la expresión tal como "un paciente que tiene una enfermedad o
- 10 trastorno mediado por IFN de tipo I" incluye sujetos, tales como sujetos mamíferos, que se beneficiarían de la administración de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que modula la actividad del IFN de tipo I, por ejemplo, para detección, formación de imágenes u otro procedimiento de diagnóstico, y/o del tratamiento, es decir, paliación o prevención de una enfermedad, con dicho anticuerpo o unión a antígeno del mismo.

### **Formulaciones de anticuerpos**

- 15 En realizaciones, la presente divulgación proporciona una formulación de anticuerpo estable que comprende un anticuerpo anti-IFNAR1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En realizaciones, el anticuerpo anti-IFNAR1 es anifrolumab.

En algunas realizaciones, el anticuerpo en la formulación de anticuerpo se purifica antes de añadirlo a la formulación de anticuerpo. Los términos "aislar" y "purificar" se refieren a separar el anticuerpo de una impureza u otros contaminantes

20 en la composición en la que reside el anticuerpo, por ejemplo, una composición que comprende proteínas de la célula huésped. En algunas realizaciones, al menos el 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 %, 99.5 % o el 99.9 % (p/p) de una impureza se purifica del anticuerpo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la purificación de un anticuerpo, por ejemplo, anticuerpo anti-IFNAR1, comprendería separar el anticuerpo del 99 % (p/p) de las proteínas de la célula huésped presentes originalmente en la composición.

- 25 En algunas realizaciones, los términos "aislar" y "purificar" se refieren a la separación de un anticuerpo, por ejemplo, anticuerpo anti-IFNAR1, a partir de una impureza u otros contaminantes en la composición en un grado consistente con las directrices de una organización gubernamental, por ejemplo, la Organización Mundial de la Salud o la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos.

Los expertos en la técnica conocen métodos para purificar un anticuerpo. Las técnicas adecuadas para realizar la purificación incluyen diversos tipos de cromatografía, tales como cromatografía de afinidad, interacción hidrófoba, intercambio iónico (tal como cromatografía de intercambio catiónico o cromatografía de modo mixto), y filtración.

30

La cromatografía de afinidad se refiere a un método de separación mediante el cual un anticuerpo, en virtud de sus propiedades de unión específicas, se une a un ligando de afinidad para el anticuerpo. El ligando de afinidad funcional se puede inmovilizar sobre un soporte sólido o semisólido de modo que cuando una composición que comprende el anticuerpo se pasa sobre el ligando y el soporte sólido, el anticuerpo que tiene una afinidad de unión específica al ligando se adsorbe en el ligando, y una o más otras impurezas no se adsorben (o se unen con menor afinidad) y se separan del anticuerpo. Ejemplos de impurezas que típicamente no se unen (o no se unen bien) incluyen impurezas relacionadas con el proceso (por ejemplo, proteínas de la célula huésped, ADN, componentes del medio) y algunas impurezas relacionadas con el producto (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos). En algunas realizaciones, el soporte sólido que comprende el ligando se lava una o más veces con un tampón para eliminar impurezas adicionales antes de que el anticuerpo adsorbido se elimine del ligando y el soporte. Una vez que se han eliminado una o más impurezas, el anticuerpo adsorbido se puede eliminar (eluir) del ligando y el soporte, dando como resultado el aislamiento del anticuerpo de la composición original. Los métodos para eliminar el anticuerpo del ligando y el soporte dependen del ligando y son conocidos por los expertos en la técnica y pueden incluir, por ejemplo, cambios en el entorno, por ejemplo, pH, adición o agentes caotrópicos o desnaturizantes, o adición de tampones de elución disponibles comercialmente. En algunas realizaciones, se puede emplear más de un proceso de purificación por afinidad en una composición de anticuerpo. Se conocen en la técnica diversos ligandos de afinidad, incluyendo la proteína A y la proteína G (y combinaciones de las mismas). Los ligandos inmovilizados están disponibles comercialmente. Por ejemplo, los sistemas de afinidad de Proteína A incluyen MabSelect, MabSelect SuRe, MabSelect Xtra, MabSelect SuRe LX, Sepharose CL-4B, ProSep vA, ProSep vA Ultra, y Ceramic HyperD.

35

40

45

50

La cromatografía de intercambio iónico incluye la cromatografía de intercambio catiónico y la cromatografía mixta. La cromatografía de intercambio catiónico se refiere a cualquier método mediante el cual un anticuerpo y parte de las impurezas o todas las impurezas pueden separarse basándose en las diferencias de carga utilizando una matriz de intercambio catiónico. Una matriz de intercambio catiónico generalmente comprende grupos cargados negativamente unidos covalentemente. Pueden emplearse resinas de intercambio catiónico débiles o fuertes. Habitualmente, las resinas de intercambio catiónico fuertes comprenden grupos orgánicos soportados que comprenden ácido sulfónico o grupos sulfonato, dependiendo del pH. Las resinas intercambiadoras de cationes débiles comprenden comúnmente grupos orgánicos soportados que comprenden grupos de ácido carboxílico o carboxilato, dependiendo del pH. En ciertas

55

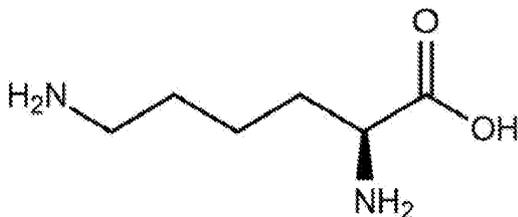
realizaciones, se pueden utilizar resinas de intercambio catiónico multimodales, que incorporan mecanismos de unión adicionales, así como las interacciones iónicas, por ejemplo, una o más interacciones de enlace de hidrógeno e interacciones hidrófobas. Los ejemplos de resinas de intercambio catiónico adecuadas se conocen bien en la técnica y pueden incluir, pero sin limitación, Fractogel, carboximetilo (CM), sulfoetilo (SE), sulfopropilo (SP), fosfato (P) y sulfonato (S), PROPAC WCX-10™ (Dionex), Capto S, S-Sepharose FF, Fractogel EMD SO<sub>3</sub>M, Toyopearl Megacap II SP 550C, Poros 50 HS, y matriz de SP-sepharose. En algunas realizaciones, se puede emplear más de un proceso de cromatografía de intercambio catiónico en la composición.

La cromatografía de modo mixto se refiere a un método que utiliza más de una forma de interacción entre la fase estacionaria y los analitos para lograr su separación de las impurezas (por ejemplo, impurezas relacionadas con el proceso, tales como proteínas de la célula huésped, ADN y/o virus endógenos o adventicios). Los ejemplos de matrices de intercambio aniónico adecuadas se conocen en la técnica y pueden incluir, pero sin limitación, Capto Adhere, Sartobind Q, Natrix Q, Chromasorb Q y Mustang Q.

En algunas realizaciones, se pueden usar etapas de filtración adicionales para eliminar impurezas. Por ejemplo, en algunas realizaciones se usa nanofiltración o ultrafiltración. La nanofiltración comprende hacer pasar la composición a través de una matriz que tiene un tamaño de poro de, por ejemplo, menos de 75 nm, menos de 50 nm e incluso menos de 15 nm, para separar impurezas, por ejemplo, virus, del anticuerpo. Los nanofiltros y ultrafiltros disponibles comercialmente que se pueden emplear son fabricados por diversos proveedores tales como Millipore Corporation (Billerica, Mass., por ejemplo, Viresolve Pro y Viresolve Pro+), Pall Corporation (East Hills, N.Y.), GE Healthcare Sciences (Piscataway, N.J.), y Sartorius Corporation (Goettingen, Alemania).

El anticuerpo utilizado en la formulación, por ejemplo, un anti-IFNAR, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende la secuencia VH definida por Kabat en la SEQ ID NO:1 y la Vk definida por Kabat de SEQ ID NO: 2, en las que el anticuerpo está en la formulación a una concentración de 10 mg/ml a 300 mg/ml, de 30 mg/ml a 250 mg/ml, de 50 mg/ml a 200 mg/ml, de 100 mg/ml a 200 mg/ml, de 125 mg/ml a 175 mg/ml, de 130 mg/ml a 170 mg/ml, de 135 mg/ml a 165 mg/ml, de 140 mg/ml a 160 mg/ml, de 145 mg/ml a 155 mg/ml, 130 mg/ml, 135 mg/ml, 140 mg/ml, 145 mg/ml, 146 mg/ml, 147 mg/ml, 148 mg/ml, 149 mg/ml, 150 mg/ml, 151 mg/ml, 152 mg/ml, 153 mg/ml, 154 mg/ml, 155 mg/ml, 156 mg/ml, 157 mg/ml, 158 mg/ml, 159 mg/ml o 160 mg/ml. En algunas realizaciones, el anticuerpo está en una concentración de aproximadamente 50 mg/ml, 55 mg/ml, 60 mg/ml, 65 mg/ml, 70 mg/ml, 75 mg/ml, 80 mg/ml, 85 mg/ml, 90 mg/ml, 95 mg/ml, 100 mg/ml, 125 mg/ml, 130 mg/ml, 140 mg/ml, 150 mg/ml, 160 mg/ml, 170 mg/ml, 180 mg/ml, 190 mg/ml, 200 mg/ml.

Las formulaciones de anticuerpos de la presente invención comprenden lisina. La lisina es un aminoácido esencial que tiene la siguiente estructura:



La lisina, como se usa en el presente documento, puede incluir la forma de base libre de lisina, así como todas y cada una de sus sales. En realizaciones, la forma de sal de lisina es acetato de lisina, monoclóruo de lisina, dicloruro de lisina, L-aspartato de lisina y L-glutamato de lisina. En algunas realizaciones, la lisina incluye una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. Por ejemplo, la lisina incluiría clorhidrato de lisina. Lisina, como se usa en el presente documento, también incluye todos los enantiómeros (por ejemplo, L-lisina y S-lisina), y cualquier combinación de enantiómeros (por ejemplo, 50 % de L-lisina y 50 % de S-lisina; 90 %-100 % de L-lisina y 10 %-0 % de S-lisina, etc.). En algunas realizaciones, el término "lisina" incluye más del 99 % de L-lisina y menos del 1 % de S-lisina. En algunas realizaciones, el término "lisina" incluye una L-lisina enantioquímicamente pura. En algunas realizaciones, la lisina es una lisina de calidad farmacéutica.

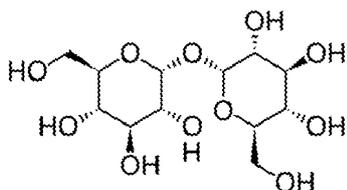
Las formulaciones de anticuerpos pueden comprender de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mM de lisina, de aproximadamente 20 a aproximadamente 90 mM de lisina, de aproximadamente 30 mM de lisina a aproximadamente 80 mM de lisina, de aproximadamente 40 a aproximadamente 70 mM de lisina, de aproximadamente 45 a aproximadamente 65 mM de lisina, de aproximadamente 45 a aproximadamente 60 mM de lisina, de aproximadamente 50 a aproximadamente 55 mM de lisina en la formulación de anticuerpo, por ejemplo, una formulación de anticuerpo que comprende de 100 a 200 mg/ml de anticuerpo, o aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo. En realizaciones, las formulaciones de la presente invención comprenden aproximadamente 50 mM de lisina HCl en una formulación de anticuerpo que comprende de 100 a 200 mg/ml de anticuerpo, o aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo, un excipiente no cargado, un tensioactivo, y un tampón de formulación.

Las formulaciones de anticuerpos pueden comprender un excipiente no cargado. El término excipiente se refiere a una sustancia farmacológicamente inactiva formulada con el anticuerpo como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el excipiente puede ayudar a prevenir la desnaturalización o ayudar de otro modo a estabilizar el

anticuerpo. Los excipientes adecuados que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas se conocen en la técnica. Se pueden tomar ejemplos, por ejemplo, del manual: Gennaro, Alfonso R.: "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990. En algunas realizaciones, el excipiente es un excipiente "no cargado", es decir, el excipiente no lleva una carga positiva "+" o negativa "-". En algunas realizaciones, el excipiente se selecciona del grupo que consiste en fructosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa, lactosa, maltosa, sacarosa, dextrano, pululano, dextrina, ciclodextrinas, almidón soluble, trehalosa, sorbitol, eritritol, isomalt, lactitol, maltitol, xilitol, glicerol, lactitol, hidroxietil almidón, glucanos solubles en agua.

El excipiente no cargado puede ser de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 1 M, de aproximadamente 2 mM a aproximadamente 500 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 400 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 300 mM o de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 250 mM en la formulación de anticuerpo. El excipiente no cargado puede ser de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 230 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 220 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 210 mM, de aproximadamente 60 mM a aproximadamente 210 mM, de aproximadamente 70 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 80 mM a aproximadamente 190 mM, de aproximadamente 90 mM a aproximadamente 180 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 170 mM, de aproximadamente 110 mM a aproximadamente 160 mM, de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 145 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 140 mM, aproximadamente 120 mM, aproximadamente 125 mM, aproximadamente 130 mM, aproximadamente 135 mM, aproximadamente 140 mM, aproximadamente 150 mM, aproximadamente 160 mM, o aproximadamente 170 mM en la formulación de anticuerpo, por ejemplo, una formulación que comprende de 100 a 200 mg/ml de anticuerpo. El excipiente no cargado puede ser de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 500 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 450 mM, de aproximadamente 110 mM a aproximadamente 350 mM, aproximadamente 120 mM, aproximadamente 125 mM, aproximadamente 130 mM, aproximadamente 140 mM, o aproximadamente 145 mM en la formulación de anticuerpo, por ejemplo, una formulación de anticuerpo que comprende de 100 a 200 mg/ml de anticuerpo o aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo.

En algunas realizaciones, el excipiente no cargado es trehalosa, representada por la fórmula:

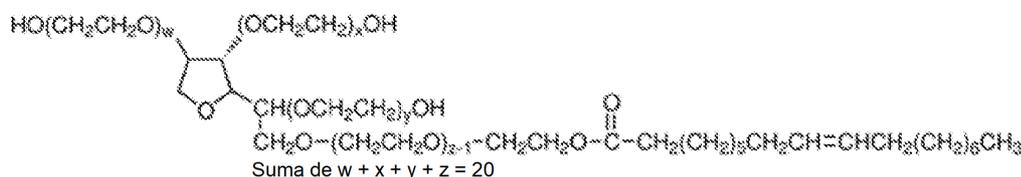


La trehalosa puede ser de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 1 M, de aproximadamente 2 mM a aproximadamente 500 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 400 mM, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 300 mM o de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 250 mM en la formulación de anticuerpo. En algunas realizaciones, la trehalosa es de aproximadamente 30 mM a aproximadamente 230 mM, de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 220 mM, de aproximadamente 50 mM a aproximadamente 210 mM, de aproximadamente 60 mM a aproximadamente 210 mM, de aproximadamente 70 mM a aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 80 mM a aproximadamente 190 mM, de aproximadamente 90 mM a aproximadamente 180 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 170 mM, de aproximadamente 110 mM a aproximadamente 160 mM, de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 150 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 145 mM, de aproximadamente 125 mM a aproximadamente 140 mM, aproximadamente 120 mM, aproximadamente 125 mM, aproximadamente 130 mM, aproximadamente 135 mM, aproximadamente 140 mM, aproximadamente 150 mM, aproximadamente 160 mM, o aproximadamente 170 mM en la formulación de anticuerpo, por ejemplo, una formulación que comprende de 100 a 200 mg/ml de anticuerpo. En una realización, la trehalosa es de aproximadamente 130 mM en la formulación de anticuerpo. La trehalosa puede ser de 50 mM a aproximadamente 500 mM, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 450 mM, de aproximadamente 110 mM a aproximadamente 350 mM, aproximadamente 120 mM, aproximadamente 125 mM, aproximadamente 130 mM, aproximadamente 140 mM, o aproximadamente 145 mM en la formulación de anticuerpo, por ejemplo, una formulación de anticuerpo que comprende de 100 a 200 mg/ml de anticuerpo o aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo. En una realización, la trehalosa es de aproximadamente 130 mM en la formulación de anticuerpo.

Se pueden incluir varios otros componentes en la formulación de anticuerpo. La formulación de anticuerpo puede comprender un tampón (por ejemplo, tampón de histidina, acetato, fosfato o citrato) y/o un agente estabilizador (por ejemplo, albúmina humana), etc. La formulación de anticuerpo puede comprender vehículos farmacéuticamente aceptables, incluyendo, por ejemplo, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tal como albúmina sérica humana, sustancias tampón tal como fosfatos, sacarosa, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tal como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliácridatos, polímeros de bloque de polietilén-polióxipropileno, y polietilenglicol.

La formulación de anticuerpo comprende además un tensioactivo. El tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en Triton X-100, Tween 80, polisorbato 20, polisorbato 80, nonoxinol-9, polioxámero, alcohol estearílico, dodecilsulfato de sodio y monoestearato de sorbitán.

5 En algunas realizaciones, el tensioactivo es polisorbato 80, es decir, monooleato de polioxietilén (20) sorbitán, como se representa por la fórmula:



10 El polisorbato 80 (PS-80) está disponible comercialmente a partir de varios proveedores comerciales, por ejemplo, Alkest® TW 80 (Univar®) y Tween® 80 (Sigma-Aldrich®). Los Solicitantes han descubierto que, en algunos casos, el control de la concentración de PS-80 en la formulación de anticuerpo añade estabilidad y reduce la cantidad de formación de partículas cuando se almacena durante periodos de tiempo prolongados.

15 PS-80 puede ser de aproximadamente el 0.01 % a aproximadamente el 0.1 %, de aproximadamente el 0.02 % a aproximadamente el 0.09 %, de aproximadamente el 0.02 % a aproximadamente el 0.08 %, de aproximadamente el 0.03 % a aproximadamente el 0.08 %, de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.07 %, de aproximadamente el 0.05 % a aproximadamente el 0.06 %, aproximadamente el 0.02 %, aproximadamente el 0.03 %, aproximadamente el 0.04 %, aproximadamente el 0.05 %, aproximadamente el 0.06 %, aproximadamente el 0.07 % de la formulación de anticuerpo, por ejemplo, una formulación de anticuerpo que comprende de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de anticuerpo, o aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo. En algunas realizaciones, PS-80 es aproximadamente el 0.05 % en la formulación de anticuerpo.

20 La formulación de anticuerpo puede comprender además tampón de histidina/histidina HCl. La formulación de anticuerpos puede comprender de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 100 mM, de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 80 mM de tampón de histidina/histidina HCl, de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 60 mM de tampón de histidina/histidina HCl, de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 50 mM de tampón de histidina/histidina HCl, de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 30 mM de tampón de histidina/histidina HCl, o aproximadamente 25 mM de tampón de histidina/histidina HCl en las formulaciones de anticuerpos de la presente invención, por ejemplo, una formulación de anticuerpo que comprende de 100 a 200 mg/ml de anticuerpo, o aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo. En una realización, el tampón de histidina/histidina HCl es de aproximadamente 25 mM en la formulación de anticuerpo.

25 En realizaciones adicionales, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende: 150 mg/ml de anifrolumab; lisina HCl 50 mM; trehalosa dihidrato 130 mM; Polisorbato 80 al 0.05 %; Histidina/histidina HCl 25 mM, en la que la formulación tiene un pH de 5.9.

30 La invención está dirigida a una formulación de anticuerpo estable que comprende: (a) de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, (b) de aproximadamente el 0.02 % a aproximadamente el 0.1 % de polisorbato-80, (c) de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 160 mM de trehalosa, (d) de aproximadamente 40 mM a aproximadamente 60 mM de L-lisina HCl, (e) y 15-35 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es de aproximadamente 5.5 a aproximadamente 6.5.

35 En realizaciones adicionales, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo estable que comprende: (a) de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, (b) de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.08 de polisorbato-80, (c) aproximadamente 120-140 mM de trehalosa dihidrato, (d) aproximadamente 45-55 mM de L-lisina HCl, y (e) aproximadamente 20-30 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es de aproximadamente 5.8 a aproximadamente 6.1.

40 En realizaciones adicionales, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo estable que comprende: (a) aproximadamente 150 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, (b) aproximadamente el 0.05 % de polisorbato-80, (c) aproximadamente 130 mM de trehalosa dihidrato, (d) aproximadamente 50 mM de L-lisina HCl, y (e) aproximadamente 25 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es de aproximadamente 5.9.

45 En algunas realizaciones, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende: 150 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo; lisina HCl 50 mM; trehalosa dihidrato 130 mM; Polisorbato 80 al 0.05 %; Histidina/histidina HCl 25 mM, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.9.

En realizaciones adicionales, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende: 150 mg/ml de anifrolumab; lisina HCl 50 mM; trehalosa dihidrato 130 mM; Polisorbato 80 al 0.05 %; Histidina/histidina HCl 25 mM, en la que la formulación tiene un pH de 5.9.

5 Se pueden omitir diversos componentes de la formulación de anticuerpo, o pueden estar "sustancialmente libres" de ese componente. El término "sustancialmente libre", como se usa en el presente documento, se refiere a una formulación de anticuerpo, conteniendo dicha formulación menos del 0.01 %, menos del 0.001 %, menos del 0.0005 %, menos del 0.0003 %, o menos del 0.0001 % del componente designado.

10 Las formulaciones de anticuerpos pueden tener diferentes concentraciones de osmolaridad. Los expertos en la técnica conocen métodos para medir la osmolaridad de las formulaciones de anticuerpos y pueden incluir, por ejemplo, un osmómetro (por ejemplo, un osmómetro de depresión del punto de congelación Advanced Instrument Inc 2020). En algunas realizaciones, la formulación tiene una osmolaridad de entre 200 y 600 mosm/kg, entre 260 y 500 mosm/kg, o entre 300 y 450 mosm/kg.

15 La formulación de anticuerpo puede tener varios niveles de pH. En algunas realizaciones, el pH de la formulación del anticuerpo está entre 4 y 7, entre 4.5 y 6.5, o entre 5 y 6. En algunas realizaciones, el pH de la formulación del anticuerpo es 5.0. En algunas realizaciones, el pH de la formulación del anticuerpo es 6.0. En algunas realizaciones, el pH de la formulación del anticuerpo es  $\leq 7.0$ . Se pueden utilizar diversos medios para lograr el nivel de pH deseado, incluyendo, pero sin limitación, la adición del tampón apropiado.

20 Las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento tienen diversas viscosidades. Los expertos en la técnica conocen métodos para medir la viscosidad de las formulaciones de anticuerpos y pueden incluir, por ejemplo, un reómetro (por ejemplo, un reómetro Anton Paar MCR301 con un accesorio de placa de 50 mm, 40 mm o 20 mm). En algunas realizaciones de la presente invención, las viscosidades se informaron a un límite de alta cizalladura de 1000 por segundo de velocidad de cizalladura. La formulación de anticuerpo descrita en el presente documento puede tener una viscosidad de menos de 20 centipoises (cP), menos de 18 cP, menos de 15 cP, menos de 13 cP o menos de 11 cP. La formulación de anticuerpo descrita en el presente documento puede tener una viscosidad de menos de 13 cP. Un experto en la técnica apreciará que la viscosidad depende de la temperatura, por lo tanto, a menos que se especifique lo contrario, las viscosidades proporcionadas en el presente documento se miden a 25 °C, a menos que se especifique lo contrario.

25 La fuerza de inyección se correlaciona con la cantidad de resistencia proporcionada por la formulación de anticuerpo cuando se administra la formulación de anticuerpo a un sujeto. La fuerza de inyección dependerá del calibre de la aguja de administración, así como de la temperatura. En algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo tiene una fuerza de inyección de menos de 15 N, 12 N, 10 N u 8 N cuando se pasa a través de una aguja de pared delgada espinal (STW) de 27 Ga. En algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo tiene una fuerza de inyección de menos de 15 N, 12 N, 10 N u 8 N cuando se pasa a través de una aguja STW de 29 Ga.

30 En realizaciones adicionales, las formulaciones de anticuerpos de la presente invención son una solución acuosa. En algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo no se ha sometido a temperaturas de congelación y/o no se ha congelado, es decir, ha permanecido en estado líquido. En algunas realizaciones, el anticuerpo en la formulación de anticuerpo no se ha sometido a liofilización.

35 Como se usa en el presente documento, el término estabilidad generalmente se relaciona con el mantenimiento de la integridad o con la minimización de la degradación, desnaturalización, agregación o desplegamiento de un agente biológicamente activo tal como una proteína, péptido u otra macromolécula bioactiva. Como se usa en el presente documento, "estabilidad mejorada" generalmente significa que, en condiciones que se sabe que dan como resultado degradación, desnaturalización, agregación o desplegamiento, la proteína (por ejemplo, un anticuerpo tal como anifrolumab), péptido u otra macromolécula bioactiva de interés mantiene una mayor estabilidad en comparación con un proteína de control, péptido u otra macromolécula bioactiva.

40 En algunas realizaciones, la estabilidad se refiere a una formulación de anticuerpo que tiene niveles de formación de partículas de bajos a indetectables. La expresión "niveles de formación de partículas de bajos a indetectables", como se usa en el presente documento, se refiere a muestras que contienen menos de 1000 partículas/ml, menos de 700 partículas/ml, menos de 650 partículas/ml, menos de 500 partículas/ml, menos de 400 partículas/ml, menos de 200 partículas/ml, menos de 100 partículas/ml o menos de 1 partícula/ml según se determina mediante análisis HIAC o análisis visual, en el que las partículas detectadas tienen un tamaño superior a 10 micrómetros, después del almacenamiento a aproximadamente 40 °C durante aproximadamente 18 meses. En algunas realizaciones, no se detectan partículas en la formulación de anticuerpo, ya sea por análisis HIAC o análisis visual.

45 En algunas realizaciones, la estabilidad se refiere a la fragmentación reducida del anticuerpo. En realizaciones, la tasa de fragmentación del anticuerpo, por ejemplo, anifrolumab, en las formulaciones de la invención es de aproximadamente el 2.0 al 4.0 por ciento al mes durante 12 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000. En realizaciones, la tasa de fragmentación del anticuerpo, por ejemplo, anifrolumab, en las formulaciones de la invención es de aproximadamente el 2.0 al 4.0 por ciento al mes durante 6 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000. En realizaciones, la tasa de fragmentación del anticuerpo, por ejemplo, anifrolumab, en las formulaciones de la invención es

de aproximadamente el 2.0 al 4.0 por ciento al mes durante 2 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000. En realizaciones, la tasa de fragmentación del anticuerpo, por ejemplo, anifrolumab, en las formulaciones de la invención es de aproximadamente el 3.0 al 4.0 por ciento al mes durante 2 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000.

En realizaciones adicionales, la estabilidad se refiere a la agregación reducida del anticuerpo. En realizaciones, la tasa de agregación de las formulaciones de anticuerpo de la presente invención que contienen, por ejemplo, anifrolumab, es de aproximadamente el 0.5 al 2.5 % al mes durante 12 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000. En realizaciones, la tasa de agregación de las formulaciones de anticuerpo de la presente invención que contienen, por ejemplo, anifrolumab, es de aproximadamente el 0.5 al 2.5 % al mes durante 6 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000. En realizaciones adicionales, la tasa de agregación de las formulaciones de anticuerpo de la presente invención que contienen, por ejemplo, anifrolumab, es de aproximadamente el 1 al 2 % al mes durante 2 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000.

En realizaciones adicionales, la estabilidad se refiere a pérdidas de pureza reducidas. En realizaciones, la tasa de pérdida de pureza de las formulaciones de anticuerpos de la presente invención que contienen, por ejemplo, anifrolumab, es de aproximadamente el 3 al 5 % al mes durante 12 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000. En realizaciones, la tasa de pérdida de pureza de las formulaciones de anticuerpos de la presente invención que contienen, por ejemplo, anifrolumab, es de aproximadamente el 3 al 5 % al mes durante 6 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000. En realizaciones adicionales, la tasa de pérdida de pureza de las formulaciones de anticuerpos de la presente invención que contienen, por ejemplo, anifrolumab, es de aproximadamente el 3.5 al 4.5 % al mes durante 2 meses según se determina por análisis HP-SEC realizado en un sistema HPLC Agilent con una columna TSK-Gel G3000.

Un experto en la técnica apreciará que la estabilidad de una proteína depende de otras características además de la composición de la formulación. Por ejemplo, la estabilidad puede verse afectada por la temperatura, la presión, la humedad, el pH y las formas externas de radiación. Por lo tanto, a menos que se especifique lo contrario, se considera que la estabilidad a la que se hace referencia en el presente documento se mide a 40 °C, una atmósfera de presión, 50 % de humedad relativa, pH de 6.0 y niveles normales de radiación de fondo. La estabilidad del anticuerpo en la formulación de anticuerpo se puede determinar por diversos medios. En algunas realizaciones, la estabilidad del anticuerpo se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). La SEC separa analitos (por ejemplo, macromoléculas tales como proteínas y anticuerpos) sobre la base de una combinación de su tamaño hidrodinámico, coeficiente de difusión y propiedades superficiales. Por lo tanto, por ejemplo, la SEC puede separar los anticuerpos en su conformación tridimensional natural de los anticuerpos en diversos estados de desnaturalización, y/o anticuerpos que se han degradado. En la SEC, la fase estacionaria generalmente está compuesta por partículas inertes empaquetadas en una matriz tridimensional densa dentro de una columna de vidrio o acero. La fase móvil puede ser agua pura, un tampón acuoso, un disolvente orgánico, mezclas de estos, u otros disolventes. Las partículas de la fase estacionaria tienen poros y/o canales pequeños que solo permitirán la entrada de especies por debajo de cierto tamaño. Por lo tanto, las partículas grandes se excluyen de estos poros y canales, pero las partículas más pequeñas se eliminan de la fase móvil fluida. El tiempo que las partículas pasan inmobilizadas en los poros de la fase estacionaria depende, en parte, de qué tan lejos pueden penetrar en los poros. Su eliminación del flujo de fase móvil hace que tarden más en eluir de la columna y da como resultado una separación entre las partículas en función de las diferencias de tamaño.

En algunas realizaciones, la SEC se combina con una técnica de identificación para identificar o caracterizar proteínas, o fragmentos de las mismas. La identificación y caracterización de proteínas se puede lograr mediante diversas técnicas, incluyendo, pero sin limitación, técnicas cromatográficas, por ejemplo, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), inmunoensayos, electroforesis, espectroscopia ultravioleta/visible/infrarroja, espectroscopia raman, espectroscopia raman mejorada de superficie, espectroscopia de masas, cromatografía de gases, dispersión de luz estática (SLS), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), difracción circular (CD), técnicas de despliegue de proteínas inducidas por urea, fluorescencia intrínseca de triptófano, calorimetría diferencial de barrido y/o unión a proteínas ANS.

En algunas realizaciones, la identificación de proteínas se logra mediante cromatografía líquida de alto rendimiento. Los expertos en la técnica conocen diversos instrumentos y aparatos para realizar el análisis por HPLC. Generalmente, el análisis por HPLC implica cargar un disolvente líquido que contiene la proteína de interés en una columna de separación, en la que se produce la separación. La columna de separación por HPLC se llena con partículas sólidas (por ejemplo, sílice, polímeros o sorbentes), y la mezcla de muestra se separa en compuestos a medida que interactúa con las partículas de la columna. La separación por HPLC está influenciada por la condición del disolvente líquido (por ejemplo, presión, temperatura), interacciones químicas entre la mezcla de muestra y el disolvente líquido (por ejemplo, hidrofobicidad, protonación, etc.), e interacciones químicas entre la mezcla de muestra y las partículas sólidas empaquetadas dentro de la columna de separación (por ejemplo, afinidad de ligando, intercambio iónico, etc.).

En algunas realizaciones, la SEC y la identificación de proteínas se producen dentro del mismo aparato o simultáneamente. Por ejemplo, la SEC y la HPLC se pueden combinar, a menudo denominada HP-SEC.

5 En algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo comprende de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, en el que dicha formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 40 °C durante 1 a 24 meses. En algunas realizaciones, la formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 25 °C durante 1 a 18 meses. En algunas realizaciones, la formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 5 °C durante 1 a 6 meses. En algunas realizaciones, la formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 5 °C durante 1 a 3 meses. 10 En algunas realizaciones, la formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 5 °C durante 1 a 12 meses. En algunas realizaciones, la formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 5 °C durante al menos 18 meses. En algunas realizaciones, la formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 5 °C durante al menos 24 meses, o 36 meses.

15 El término "estable" puede ser relativo y no absoluto. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena entre 2 °C y 8 °C durante 6 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por SEC HPLC cuando el anticuerpo se almacena entre 2 °C y 8 °C durante 12 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo en la formulación de anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena entre 2 °C y 8 °C durante 18 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo en la formulación de anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por SEC HPLC cuando el anticuerpo se almacena entre 2 °C y 8 °C durante 24 meses.

25 En algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena entre 23 °C y 27 °C durante 3 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena entre 23 °C y 27 °C durante 6 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena entre 23 °C y 27 °C durante 12 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 % o menos del 2 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena entre 23 °C y 27 °C durante 24 meses. 30 35

En algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 6 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 % o menos del 1 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega al mes según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena a 40 °C. En algunas realizaciones, el anticuerpo es estable si menos del 6 %, menos del 4 %, menos del 3 %, menos del 2 % o menos del 1 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega al mes según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena a 5 °C. 40

En realizaciones, el anticuerpo es estable si el 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 % o el 6 % (o de aproximadamente el 1 % al 6 %) del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega al mes durante 1-3 meses, 1 a 6 meses, 1 a 12 meses, 1 a 18 meses, o 1 a 24 meses según se determina por HP-SEC cuando el anticuerpo se almacena a 5 °C.

45 En algunas realizaciones, las formulaciones de anticuerpos pueden considerarse estables si el anticuerpo exhibe muy poca o ninguna pérdida de la actividad de unión del anticuerpo (incluidos los fragmentos de anticuerpo del mismo) de la formulación en comparación con un anticuerpo de referencia según se mide mediante ensayos de unión de anticuerpos conocidos por los expertos en la técnica, tal como, por ejemplo, ELISA, etc., durante un periodo de 8 semanas, 4 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses o 24 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo almacenado a aproximadamente 40 °C durante al menos 1 mes conserva al menos el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 98 %, o al menos aproximadamente el 99 % de la capacidad de unión a un polipéptido del receptor INFAR1 en comparación con un anticuerpo de referencia que no se ha almacenado. En algunas realizaciones, el anticuerpo almacenado a aproximadamente 5 °C durante al menos 6 meses conserva al menos el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 98 %, o al menos aproximadamente el 99 % de la capacidad de unión a un polipéptido del receptor INFAR1 en comparación con un anticuerpo de referencia que no se ha almacenado. 50 55 En algunas realizaciones, el anticuerpo almacenado a aproximadamente 40 °C durante al menos 1 mes conserva al menos el 95 % de la capacidad de unión a un polipéptido del receptor INFAR1 en comparación con un anticuerpo de referencia que no se ha almacenado. En algunas realizaciones, el anticuerpo almacenado a aproximadamente 5 °C durante al menos 6 meses conserva al menos el 95 % de la capacidad de unión a un polipéptido del receptor INFAR1 en comparación con un anticuerpo de referencia que no se ha almacenado. 60

Los Solicitantes han encontrado que las formulaciones de anticuerpos proporcionadas en el presente documento dan como resultado una formación de partículas muy reducida según se determina mediante inspección visual, formación de imágenes de microflujo (MFI), o cromatografía de exclusión por tamaño (SEC).

5 En algunas realizaciones, la formulación está sustancialmente libre de partículas tras el almacenamiento a aproximadamente 40 °C durante al menos 1 mes según se determina por inspección visual. En algunas realizaciones, la formulación está sustancialmente libre de partículas tras el almacenamiento a aproximadamente 5 °C durante al menos 6 meses, al menos 9 meses, al menos 12 meses, al menos 15 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, o al menos 36 meses según se determina por inspección visual.

10 En algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo de la presente invención se puede usar con fines farmacéuticos. Los anticuerpos usados en aplicaciones farmacéuticas generalmente deben tener un alto nivel de pureza, especialmente con respecto a los contaminantes del cultivo celular, incluidos los contaminantes de proteínas celulares, los contaminantes del ADN celular, los virus y otros agentes transmisibles. Véase "WHO Requirements for the use of animal cells as in vitro substrates for the production of biologicals: Requirements for Biological Substances No. 50". N.º 878. Anexo 1, 1998. En respuesta a las preocupaciones acerca de los contaminantes, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció límites en los niveles de diversos contaminantes. Por ejemplo, la OMS recomendó un límite de ADN de menos de 10 ng por dosis para productos proteicos. Asimismo, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) estableció un límite de ADN menor o igual a 0.5 pg/mg de proteína. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la presente invención está dirigida a formulaciones de anticuerpos que cumplen o superan los límites de contaminantes definidos por una o más organizaciones gubernamentales, por ejemplo, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos y/o la Organización Mundial de la Salud.

En algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo descrita en el presente documento es farmacéuticamente aceptable. "Farmacéuticamente aceptable" se refiere a una formulación de anticuerpo que es, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuada para el contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva u otras complicaciones proporcionales con una relación beneficio/riesgo razonable.

25 La pureza de las formulaciones de anticuerpos puede variar. En algunas realizaciones, el anticuerpo terapéutico de interés, por ejemplo, el anticuerpo anti-IFNAR1, es más del 90 % (p/p) de los polipéptidos totales presentes en la formulación de anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo terapéutico de interés, por ejemplo, anti-IFNAR1 es superior al 95 % (p/p), 98 % (p/p), 99 % (p/p), 99.5 % (p/p) o 99.9 % (p/p) del polipéptido total presente en la formulación de anticuerpo.

30 La invención proporciona además métodos para tratar una enfermedad o trastorno mediado por IFN de tipo I en un sujeto que lo necesita, mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de la formulación de anticuerpo descrita en el presente documento. En las realizaciones, la enfermedad o trastorno se selecciona del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico (LES), diabetes mellitus insulino dependiente, enfermedad inflamatoria del intestino, esclerosis múltiple, psoriasis, tiroiditis autoinmune, artritis reumatoide, glomerulonefritis, esclerodermia, miositis y nefritis lúpica. En realizaciones adicionales, la enfermedad o trastorno es una enfermedad inflamatoria del intestino, tal como enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y enfermedad celíaca. En realizaciones adicionales, la enfermedad o trastorno es una enfermedad o trastorno pulmonar, tal como lupus eritematoso sistémico.

35 La formulación de anticuerpo de la presente invención se puede administrar a un sujeto a través de diversos medios. En algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo es adecuada para administración parenteral, por ejemplo, mediante inhalación (por ejemplo, polvo o aerosol), administración transmucosa, intravenosa, subcutánea o intramuscular. En algunas realizaciones, la formulación es una formulación inyectable. En algunas realizaciones, la invención se dirige a un recipiente sellado que comprende cualquiera de las formulaciones de anticuerpos que se describen en el presente documento.

45 En algunos aspectos, la presente invención está dirigida a diversas formas de dosificación farmacéutica. Diversas formas de dosificación podrían ser aplicables a las formulaciones proporcionadas en el presente documento. Véase, por ejemplo, Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volumen 1, 2ª edición. En una realización, una dosis unitaria farmacéutica de la invención comprende la formulación de anticuerpo en un recipiente adecuado, por ejemplo, un vial o una jeringa. En una realización, una dosificación unitaria farmacéutica de la invención comprende una formulación de anticuerpo administrada por vía intravenosa, subcutánea o intramuscular. En otra realización, una dosificación unitaria farmacéutica de la invención comprende una formulación de anticuerpo administrada en aerosol. En una realización específica, una dosificación unitaria farmacéutica de la invención comprende una formulación de anticuerpo administrada por vía subcutánea. En otra realización, una dosificación unitaria farmacéutica de la invención comprende una formulación de anticuerpo administrada en aerosol. En una realización adicional, una dosificación unitaria farmacéutica de la invención comprende una formulación de anticuerpo administrada por vía intranasal.

55 Las formulaciones de anticuerpos de la presente invención se pueden preparar como formas de dosificación unitaria preparando un vial que contiene una alícuota de la formulación de anticuerpo acuosa para un uso único. Por ejemplo, una dosis unitaria por vial puede contener 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml o 20 ml de diferentes concentraciones de un anticuerpo que se une específicamente al receptor IFNAR1 en un intervalo de aproximadamente 0.1 mg/ml a aproximadamente 300 mg/ml. Si es necesario, estas preparaciones se pueden ajustar a la concentración deseada añadiendo un diluyente estéril a cada vial. En una realización específica, las formulaciones acuosas de

anticuerpos de la presente invención se formulan en viales de dosis única como un líquido estéril que contiene de aproximadamente 2 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en las que el anticuerpo es anifrolumab. En otra realización específica, las formulaciones acuosas de anticuerpos de la presente invención se formulan en viales de dosis única como un líquido estéril que contiene de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en las que el anticuerpo es anifrolumab, de aproximadamente 45 a 55 mM de lisina HCl, de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.08 % de polisorbato-80, de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 140 mM de trehalosa, y aproximadamente 20-30 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es aproximadamente 6. En una realización, el anticuerpo de la invención se suministra de 140 a 160 mg/ml en viales de color ámbar de borosilicato de tipo I USP de 3 cc (West Pharmaceutical Services-Pieza N.º 6800-0675). En otra realización, el anticuerpo de la invención se suministra a 150 mg/ml en viales de color ámbar de borosilicato de tipo I USP de 3 cc.

Las formulaciones de anticuerpos de la presente invención se pueden preparar como formas de dosificación unitarias preparando una jeringa precargada que contiene una alícuota de la formulación acuosa de anticuerpos para un uso único. Por ejemplo, una dosis unitaria por jeringa precargada puede contener 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml, 0.4 ml, 0.5 ml, 0.6 ml, 0.7 ml, 0.8 ml, 0.9 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml o 20 ml de diferentes concentraciones de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a un polipéptido IFNAR1 que varía de aproximadamente 140 mg/ml a aproximadamente 160 mg/ml. En una realización específica, las formulaciones acuosas de anticuerpos de la presente invención se formulan en jeringas precargadas de dosis única como un líquido estéril que contiene de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en las que el anticuerpo es anifrolumab, de aproximadamente 45 a 55 mM de lisina HCl, de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.08 % de polisorbato-80, de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 140 mM de trehalosa, y aproximadamente 20-30 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es aproximadamente 6. En una realización específica, las formulaciones acuosas de anticuerpos de la presente invención se formulan en jeringas precargadas de dosis única como un líquido estéril que contiene de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en las que el anticuerpo es anifrolumab, de aproximadamente 45 a 55 mM de lisina HCl, de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.08 % de polisorbato-80, de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 140 mM de trehalosa, y aproximadamente 20-30 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es aproximadamente 6.

Se pueden administrar diversas cantidades de dosificación en un solo uso. Por ejemplo, en algunas realizaciones se pueden administrar 0.1 mg, 0.2 mg, 0.3 mg, 0.4 mg, 0.5 mg, 0.6 mg, 0.7 mg, 0.8 mg, 0.9 mg, 1.0 mg, 1.1 mg, 1.2 mg, 1.3 mg, 1.4 mg, 1.5 mg, 1.6 mg, 1.7 mg, 1.8 mg, 1.9 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 12 mg, 14 mg, 16 mg, 18 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 70 mg, o 100 mg de anticuerpo en una sola dosis.

Se pueden usar diversos tipos de jeringas. La jeringa se puede cargar con la formulación de anticuerpo inmediatamente antes de la administración a un sujeto, por ejemplo, menos de 1 semana, 1 día, 6 horas, 3 horas, 2 horas, 1 hora, 30 minutos, 20 minutos o 10 minutos antes de administración a un sujeto. En algunas realizaciones, la jeringa se carga con la formulación de anticuerpo en el punto de venta, o en la instalación para la que se realiza el tratamiento del sujeto. En algunas realizaciones, la jeringa está precargada, por ejemplo, la jeringa se carga con la formulación de anticuerpo más de 1 día, 2 días, 4 días, 1 semana, 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses, 24 meses, 3 años o 4 años antes de la administración a un sujeto. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende una aguja, por ejemplo, una aguja de pared regular de 27G, una aguja de pared delgada de 27G, una aguja de pared regular de 29G, o una aguja de pared delgada de 29G. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende una aguja de pared delgada espinal de 27 G.

En algunas realizaciones, se puede usar cualquier jeringa adecuada para la administración al sujeto deseado. En algunas realizaciones, la jeringa es una jeringa de plástico o una jeringa de vidrio. En algunas realizaciones, la jeringa está hecha de materiales que están sustancialmente libres de tungsteno. En algunas realizaciones, la jeringa está recubierta con silicona. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende un émbolo que tiene un disco de resina de fluoropolímero. Los ejemplos de jeringas pueden incluir, pero sin limitación, BD Hypak™ SCF 1 MLL 27G1/2-5B BD260L WL, MDN de 0.4 mg de aceite de silicona con aguja STW de 27 G; Hypak™ para Biotech de 1 ml de largo (Becton Dickinson), con un tapón de émbolo de 1 ml de largo Becton Dickinson Hypak 4023 Flurotec Daikyo Si1000 (Catálogo N.º 47271919); C3Pin; Hypak™ para 0.8 mg de aceite de silicona Biotech (Becton Dickinson); y jeringas CZ (West, Catálogo N.º 19550807).

Las formulaciones acuosas de anticuerpos de la presente invención se pueden esterilizar mediante diversos métodos de esterilización, incluyendo filtración estéril, radiación, etc. En una realización específica, la formulación de anticuerpos difiltrada se esteriliza por filtración con un filtro preesterilizado de 0.2 micrómetros. Las formulaciones acuosas y esterilizadas de anticuerpos de la presente invención se pueden administrar a un sujeto para prevenir, tratar y/o manejar una respuesta inmunitaria, por ejemplo, una respuesta inflamatoria.

La invención proporciona además jeringas precargadas que comprenden las formulaciones de anticuerpos de la invención del título. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende (a) de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo anti-IFNAR1, de aproximadamente 25 mM a 130 mM de lisina o una sal de lisina, un excipiente no cargado, un tensioactivo, y un tampón de formulación.

5 La invención proporciona además jeringas precargadas que comprenden las formulaciones de anticuerpos de la invención del título. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende (a) de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de aproximadamente 40 a 60 mM de lisina HCl, de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 160 mM de trehalosa dihidrato, del 0.02 % a aproximadamente el 0.1 % de polisorbato 80, y de aproximadamente 15 mM a aproximadamente 35 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es de aproximadamente 5.5 a aproximadamente 6.5.

10 La invención proporciona además jeringas precargadas que comprenden las formulaciones de anticuerpos de la invención del título. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende (a) de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de aproximadamente 45 a 55 mM de lisina HCl, de 120 mM a aproximadamente 140 mM de trehalosa dihidrato, del 0.04 % a aproximadamente el 0.08 % de polisorbato 80, y de 20 mM a aproximadamente 30 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es de aproximadamente 5.8 a 6.1.

15 La invención proporciona además jeringas precargadas que comprenden las formulaciones de anticuerpos de la invención del título. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende (a) aproximadamente 150 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, aproximadamente 50 mM de lisina HCl, aproximadamente el 0.05 % de polisorbato-80, aproximadamente 130 mM de trehalosa dihidrato, y aproximadamente 25 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es aproximadamente 5.9.

20 La invención proporciona además jeringas precargadas que comprenden las formulaciones de anticuerpos de la invención del título. En algunas realizaciones, la jeringa precargada comprende (a) aproximadamente 150 mg/ml de anifrolumab, aproximadamente 50 mM de lisina HCl, aproximadamente el 0.05 % de polisorbato-80, aproximadamente 130 mM de trehalosa dihidrato, y aproximadamente 25 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es aproximadamente 5.9.

25 En una realización específica, las formulaciones de anticuerpos de la presente invención se formulan en jeringas precargadas de dosis única como un líquido estéril que contiene de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en las que el anticuerpo es anifrolumab, de aproximadamente 45 a 55 mM de lisina HCl, de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.08 % de polisorbato-80, de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 140 mM de trehalosa, y aproximadamente 20-30 mM de histidina/histidina HCl. En realizaciones, el pH de la formulación es aproximadamente 6.

30 En las realizaciones, la invención está dirigida a una jeringa precargada que comprende una formulación de anticuerpo de la presente invención, en la que la jeringa precargada tiene una fuerza de deslizamiento promedio de entre 1 y 20 N cuando está equipada con una aguja de pared delgada (STW) de calibre 27. En las realizaciones, la invención está dirigida a una jeringa precargada que comprende una formulación de anticuerpo de la presente invención, en la que la jeringa precargada tiene una fuerza de deslizamiento promedio de entre 5 y 15 N cuando está equipada con una aguja de pared delgada (STW) de calibre 27. En las realizaciones, la invención está dirigida a una jeringa precargada que comprende una formulación de anticuerpo de la presente invención, en la que la jeringa precargada tiene una fuerza de deslizamiento promedio de aproximadamente 8 N cuando está equipada con una aguja de pared delgada (STW) de calibre 27.

35 En algunas realizaciones, la divulgación está dirigida a un kit que comprende cualquiera de las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento, los recipientes descritos en el presente documento, las formas de dosificación unitaria descritas en el presente documento, o la jeringa precargada descrita en el presente documento.

40 En algunas realizaciones, la presente divulgación también puede dirigirse a un método para producir una formulación de anticuerpo estable que comprende un anticuerpo, comprendiendo el método: (a) purificar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, en el que el anticuerpo es anifrolumab; y (b) colocar el anticuerpo aislado en una formulación estabilizadora para formar la formulación de anticuerpo estable, en la que la formulación de anticuerpo estable resultante comprende: (i) de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, y (ii) de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 130 mM de lisina o una sal de lisina; (iii) de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM de trehalosa (iv) de aproximadamente el 0.02 % a aproximadamente el 0.1 % de polisorbato-80.

45 En algunas realizaciones, la presente divulgación también puede dirigirse a un método para producir una formulación de anticuerpo estable que comprende un anticuerpo, comprendiendo el método: (a) purificar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, en el que el anticuerpo es anifrolumab; y b) colocar el anticuerpo aislado en una formulación estabilizadora para formar la formulación de anticuerpo estable, en la que la formulación de anticuerpo estable resultante comprende: de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml del anticuerpo; de aproximadamente 45 mM a aproximadamente 55 mM de lisina HCl o una sal de lisina; de aproximadamente 100 mM a aproximadamente 150 mM de excipiente no cargado; de aproximadamente el 0.02 % a aproximadamente el 0.1 % de un tensioactivo; y un tampón de formulación.

50 En algunas realizaciones, la presente divulgación también puede dirigirse a un método para producir una formulación de anticuerpo estable que comprende un anticuerpo, comprendiendo el método: (a) purificar un anticuerpo o fragmento de

unión a antígeno del mismo de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml, en el que el anticuerpo es anifrolumab; y (b) colocar el anticuerpo aislado en una formulación estabilizadora para formar la formulación de anticuerpo estable, en la que la formulación de anticuerpo resultante comprende de aproximadamente 145 mg/ml a aproximadamente 155 mg/ml del anticuerpo, de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 130 mM de lisina o una sal de lisina; de aproximadamente 120 mM a aproximadamente 140 mM de trehalosa dihidrato; de aproximadamente el 0.04 % a aproximadamente el 0.08 % de polisorbato 80; de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 30 mM de histidina/histidina HCl, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.8 a 6.1.

En algunas realizaciones, la invención está dirigida a un método para preparar una formulación de anticuerpo estable, comprendiendo el método (a) purificar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo hasta aproximadamente 150 mg/ml, en el que el anticuerpo es anifrolumab; y (b) colocar el anticuerpo aislado en una formulación estabilizadora para formar la formulación de anticuerpo estable, en la que la formulación de anticuerpo estable resultante comprende: (i) aproximadamente 150 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, y (ii) aproximadamente 50 mM de lisina HCl; (iii) aproximadamente 130 mM de trehalosa, (iv) aproximadamente el 0.05 % de polisorbato-80.

Aunque muchos aspectos de la invención están dirigidos a formulaciones acuosas, debe tenerse en cuenta para los equivalentes que los anticuerpos o las formulaciones de anticuerpos de la invención pueden liofilizarse si se desea. Por lo tanto, la invención abarca formas liofilizadas de las formulaciones de la invención, o anticuerpos liofilizados que posteriormente se reconstituyen en una forma acuosa. En algunas realizaciones, la invención está dirigida a un método para producir un anticuerpo reconstituido o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende anifrolumab, comprendiendo el método: (a) purificar el anticuerpo de un cultivo celular; (b) liofilizar el anticuerpo aislado; (c) añadir el anticuerpo liofilizado a una solución acuosa para formar una formulación de anticuerpo reconstituida, en la que la formulación de anticuerpo reconstituida comprende: (i) de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo es anifrolumab, y (ii) de aproximadamente 45 a aproximadamente 55 mM de lisina HCl.

En algunas realizaciones, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo en el que el anticuerpo es anifrolumab, en el que la formulación del anticuerpo está esencialmente libre de partículas. En algunas realizaciones, el término "esencialmente libre de partículas" se refiere a la ausencia de partículas visibles cuando se ve en una caja de luz. En algunas realizaciones, el término "esencialmente libre de partículas" es sinónimo de la expresión "niveles de formación de partículas de bajos a indetectables" como se ha descrito previamente. En algunas realizaciones, esencialmente libre de partículas se refiere a muestras que contienen menos de 30 partículas/ml, menos de 20 partículas/ml, menos de 20 partículas/ml, menos de 15 partículas/ml, menos de 10 partículas/ml, menos de 5 partículas/ml, menos de 2 partículas/ml o menos de 1 partícula/ml, en las que las partículas son mayores de 25  $\mu\text{m}$  y el recuento de partículas se determina mediante análisis HIAC o análisis visual. En algunas realizaciones, esencialmente libre de partículas se refiere a muestras que contienen de 1 a 50 partículas/ml, de 2 a 40 partículas/ml, 3-30 partículas/ml, de 4 a 25 partículas/ml, o de 5 a 20 partículas/ml en las que las partículas son superiores a 25  $\mu\text{m}$  y el recuento de partículas se determina mediante análisis HIAC o análisis visual. En algunas realizaciones, el término "partículas visibles" se refiere a partículas mayores de 25  $\mu\text{m}$ .

En algunas realizaciones, esencialmente libre de partículas se refiere a muestras que contienen de 1 a 200 partículas/ml, de 10 a 150 partículas/ml, de aproximadamente 30 partículas/ml a aproximadamente 100 partículas/ml, o de 40 a 80 partículas/ml en las que las partículas son superiores a 5  $\mu\text{m}$  y el recuento de partículas se determina mediante análisis HIAC o análisis visual. En algunas realizaciones, el término "partículas visibles" se refiere a partículas mayores de 5  $\mu\text{m}$ . En algunas realizaciones, no se detectan partículas en la formulación de anticuerpo, ya sea por análisis HIAC o análisis visual.

Se describe una formulación de anticuerpo que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo en la que el anticuerpo es anifrolumab, en la que la formulación de anticuerpo está esencialmente libre de partículas durante al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 8 meses, al menos 10 meses, al menos 12 meses, o al menos 18 meses cuando se almacena de 38 °C a 42 °C. En algunas realizaciones, la invención se dirige a una formulación de anticuerpo que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en la que el anticuerpo es anifrolumab, en la que la formulación de anticuerpo está esencialmente libre de partículas durante al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 8 meses, al menos 10 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 36 meses o al menos 48 meses cuando se almacena a 2-6 °C.

En algunas realizaciones, la invención está dirigida a un método para purificar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo en el que el anticuerpo es anifrolumab, comprendiendo el método (i) obtener un cultivo celular que comprende el anticuerpo, (ii) realizar una cromatografía de afinidad en el anticuerpo, (iv) realizar un intercambio catiónico en el anticuerpo, (v) realizar una cromatografía de modo mixto en el anticuerpo.

En el presente documento se divulga un método para purificar un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo en el que el anticuerpo es anifrolumab, comprendiendo el método (i) obtener un cultivo celular que comprende el anticuerpo, (ii) unir el anticuerpo a una columna de proteína A, (iii) eluir el anticuerpo de la columna de proteína A, (iv)

realizar un intercambio catiónico en el anticuerpo, (v) realizar una cromatografía de modo mixto en el anticuerpo. En algunas realizaciones, el método de purificación de un anticuerpo comprende además un proceso de inactivación viral. En algunas realizaciones, la etapa de inactivación viral se realiza bajando el pH a menos de 4.0. En algunas realizaciones, el método comprende además un proceso de diafiltración. En algunas realizaciones, el método comprende además un proceso de filtración. En algunas realizaciones, el proceso de filtración es suficiente para eliminar las partículas virales activas.

También se divulga un método para tratar a un paciente. En algunas realizaciones, el método comprende administrar las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento, los recipientes descritos en el presente documento, las formas de dosificación unitaria descritas en el presente documento, o la jeringa precargada descrita en el presente documento a un sujeto que lo necesite.

Se describe un método para tratar a un paciente con una enfermedad o trastorno eosinófilo mediante la administración de la formulación de anticuerpos descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, la invención se dirige a un método para tratar una enfermedad o trastorno pulmonar en un sujeto, comprendiendo el método administrar las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la invención está dirigida a un método para tratar una enfermedad o trastorno eosinófilo en un sujeto, comprendiendo el método administrar las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento. Se divulga un tratamiento de enfermedades o trastornos pulmonares, por ejemplo, asma, EPOC, asma eosinófila, asma eosinófila y neutrófila combinada, asma sensible a la aspirina, aspergilosis broncopulmonar alérgica, bronquitis eosinófila aguda y crónica, neumonía eosinófila aguda y crónica, síndrome de Churg-Strauss, síndrome hipereosinófilo, eosinofilia pulmonar inducida por fármacos, irritantes y radiación, eosinofilia pulmonar inducida por infección (hongos, tuberculosis, parásitos), eosinofilia pulmonar relacionada con el sistema autoinmune, esofagitis eosinófila, o enfermedad de Crohn o una combinación de las mismas en un sujeto, comprendiendo el método administrar las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la divulgación está dirigida al tratamiento del asma en un sujeto, comprendiendo el método administrar las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la invención está dirigida al tratamiento de EPOC en un sujeto, comprendiendo el método administrar las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento.

En algunas realizaciones, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de las formulaciones de anticuerpos descritas en el presente documento para tratar una afección. Como se usa en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de una terapia (por ejemplo, un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente a un polipéptido del receptor IFNAR1), que es suficiente para reducir la gravedad de una enfermedad o trastorno (por ejemplo, una enfermedad o trastorno caracterizado por expresión y/o actividad aberrante de un polipéptido de IFNAR1, una enfermedad o trastorno caracterizado por expresión y/o actividad aberrante de un receptor IFNAR1 o una o más subunidades del mismo, una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad proliferativa, o una infección o uno o más síntomas de las mismas), reducir la duración de una afección, mejorar uno o más síntomas de tal enfermedad o trastorno, prevenir el avance de tal enfermedad o trastorno, causar la regresión de tal enfermedad o trastorno, o potenciar o mejorar el efecto o efectos terapéuticos de otra terapia. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz no se puede especificar de antemano y puede ser determinada por un cuidador, por ejemplo, por un médico u otro proveedor de atención médica, usando diversos medios, por ejemplo, valoración de la dosis. Las cantidades terapéuticamente eficaces apropiadas también se pueden determinar mediante experimentación de rutina usando, por ejemplo, modelos animales.

Los términos "terapias" y "terapia" pueden referirse a cualquier protocolo, método y/o agente que pueda usarse en la prevención, tratamiento, manejo o mejora de una enfermedad o trastorno (por ejemplo, una enfermedad o trastorno caracterizado por expresión y/o actividad aberrante de un polipéptido de IFNAR1, una enfermedad o trastorno caracterizado por expresión y/o actividad aberrante de un receptor IFNAR1 o una o más subunidades del mismo, una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad proliferativa, o una infección (preferiblemente, una infección respiratoria) o uno o más síntomas de las mismas). En ciertas realizaciones, el término "terapia" se refiere a terapia biológica, terapia de apoyo, y/u otras terapias útiles en el tratamiento, manejo, prevención o mejora de tal enfermedad o trastorno o uno o más síntomas conocidos por el personal médico experto.

Como se usa en el presente documento, el término "protocolo terapéutico" se refiere a un régimen para dosificar y programar la administración de una o más terapias (por ejemplo, agentes terapéuticos) que tienen un efecto terapéutico.

La vía de administración de la formulación de anticuerpo de la presente invención puede ser, por ejemplo, a través de modos de administración orales, parenterales, por inhalación o tópicos. El término parenteral, como se usa en el presente documento, incluye, por ejemplo, administración intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, rectal o vaginal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo anti-IFNAR1 y la vía de administración es una inyección intramuscular. Si bien todas estas formas de administración se contemplan claramente dentro del alcance de la invención, en algunas realizaciones, la formulación de anticuerpo es adecuada para la administración mediante inyección, en particular para inyección o goteo intravenoso o intraarterial.

En algunas realizaciones, las composiciones y los métodos permiten a un fabricante producir una formulación de anticuerpo adecuada para su administración a un ser humano de una manera más eficiente, ya sea reduciendo costes,

reduciendo las etapas del método, reduciendo las oportunidades de error, reduciendo las oportunidades de introducción de aditivos inseguros o inadecuados, reduciendo el desperdicio, aumentando el tiempo de almacenamiento, etc.

## EJEMPLOS

5 La invención se describe ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son solo ilustrativos y la invención no debe interpretarse de ninguna manera como limitada a estos ejemplos.

### Ejemplo 1

#### Materiales y métodos

##### Materiales

10 Todos los materiales utilizados fueron de calidad USP o Multicompendial. Todas las soluciones y tampones se prepararon usando agua USP o HPLC y se filtraron antes de su uso posterior. Las muestras para los estudios de estabilidad se prepararon en condiciones asépticas en una cabina de bioseguridad (BSC (*Biosafety Cabinet Hood*)). El material a granel se almacenó a 2-8 °C. Los estudios de estabilidad se realizaron utilizando los suministros enumerados en la TABLA 3.

**TABLA 3**

Componente	Proceso de purificación
MEDI-546	De la línea celular del clon cNS0 19B4
Viales	Viales Fiolax de 3 cc (Schott, p/n: 1230392)
Tapones	Tapón de goma de color gris West 13 mm HBR Teflon2 442/50 (artículo n.º: 10124671)
Sellos	TruEdge® Flip-Off® de aluminio de 13 mm

#### Determinación de la concentración de proteínas

15 Las concentraciones de proteína se determinaron midiendo la absorbancia a 280 nm con un espectrofotómetro Agilent UV-Vis usando un procedimiento adaptado de SOP DV-6233. Se utilizó un coeficiente de extinción medido de 1,39 (mg/ml)~cm ~. Para las muestras, se aplicaron factores de corrección de densidad según TD-0025 para formulaciones que contenían azúcar o que no contenían azúcar.

#### Mediciones de viscosidad de cono y placa

20 Las viscosidades se midieron usando un reómetro Anton Paar MCR301 con accesorio de cono y placa. Para minimizar el volumen requerido, se utilizó un cono de 20 mm con mediciones de réplica única para fines de cribado. Los resultados se informaron en el límite de alta cizalladura de 1000 por segundo de velocidad de corte.

#### Determinación de la pureza por cromatografía de exclusión por tamaño (HPSEC)

25 El análisis SEC se realizó en un sistema HPLC Agilent con un TSK-Gel G3000 según las directrices actuales de Formulation Sciences.

#### Apariencia visual

La inspección visual de las muestras se realizó examinando las muestras en sus respectivos recipientes en busca de partículas, color y claridad utilizando patrones de partículas y una directriz adaptada del procedimiento operativo estándar: Evaluación de la apariencia visual de la sustancia farmacológica proteica y el producto farmacológico.

#### 30 Estudios para evaluar el impacto de los niveles de excipientes en la estabilidad y la viscosidad

Con el fin de estudiar el impacto de la concentración, el nivel de trehalosa y el nivel de lisina HCl (factores) sobre la estabilidad y la viscosidad (respuestas), se utilizó un enfoque de diseño de experimentos. Se preparó un diseño de Box Behnken utilizando el software JMP9.1 (SAS, Inc., Cary, NC). El diseño incluía factores: concentración (de 100 a 200 mg/ml); nivel de trehalosa (de 0 a 211 mM); y nivel de lisina HCl (de 25 a 130 mM). El pH se fijó en 6.0 basándose en los datos de estabilidad de la formulación anteriores para las formulaciones del ciclo 1. El nivel de polisorbato se fijó en el 0.02 %. El nivel bajo de lisina se definió en 25 mM basándose en estudios preliminares de selección de viscosidad de alto rendimiento en los que se observó una gran caída de la viscosidad en el intervalo de 0 a 25 mM de lisina HCl a altas concentraciones (véase el Ejemplo 2). La estabilidad se evaluó realizando un estudio de estabilidad acelerada a 40 °C con evaluación de la apariencia visual y la pureza por HP-SEC (pérdida monomérica, agregación, fragmentación) como lecturas. También se midieron los recuentos de partículas invisibles a 5 °C después de 1.8 meses, pero no se analizaron más porque no se observó una diferenciación significativa entre las muestras.

#### Robustez e impacto del nivel de lisina HCl en el perfil de viscosidad

5 Para preparar una serie de diluciones formulada con polisorbato 80 al 0,02 % se preparó y se usó una solución madre de MEDI-546 a ~200 mg/ml en histidina/histidina HCl 25 mM, lisina HCl 25 mM (nota: este es el tramo de bajo lisina HCl), trehalosa dihidrato 130 mM, pH 6,0. Se midieron y se representaron la concentración y las viscosidades. También se preparó y se midió la condición de formulación nominal (lisina HCl 50 mM). Se preparó una solución madre de lisina HCl 0.5 M como se usó para enriquecer la solución madre MEDI-546 hasta el nivel nominal de lisina 50 mM. Se realizó la misma dilución y formulación y se midieron las viscosidades y concentraciones.

### ***Evaluación de la funcionalidad de la formulación principal en jeringas precargadas STW de 27Ga***

10 Jeringas precargadas ("PFS") (BD Hypak SCF 1MLL 27G1/2-SB); 0.4 mg de aceite de silicona MDN con aguja de pared delgada 27 G STW se llenaron con MEDI-546 a 150 mg/ml en histidina/histidina HCl 25 mM, lisina HCl 50 mM, trehalosa dihidrato 130 mM, polisorbato 80 al 0.05 %, pH 5.9. La viscosidad de este lote se midió como 9.4 mPas y la concentración como 150.7 mg/ml. Los tapones BD Hypak SCF 1MLL 4023 FLUR Daikyo SI1000 se aplicaron con tapado al vacío. Se usó un Instron 5542 (Norwood, MA 02062) para medir el rendimiento de deslizamiento a 260 mm/min. Además, tres analistas evaluaron el tiempo para la inyección con y sin guantes de simulación de artritis (guantes de artritis del Georgia Tech Research Institute y entrenador de inyección de Limbsnthings, Reino Unido).

### **Ejemplo 2**

#### **Resúmenes de los resultados del cribado de viscosidad de alto rendimiento**

20 Se realizó un cribado de viscosidad de alto rendimiento con nanopartículas. En resumen, se midieron nanopartículas de tamaño conocido en agua (viscosidad conocida) y las muestras (viscosidad desconocida) y la relación utilizada para determinar la viscosidad desconocida de las muestras. Estos datos se recopilaban con fines de cribado y tendencias y no para la determinación de la viscosidad absoluta.

25 Los resultados del cribado HTS para viscosidad frente a pH se muestran en la figura 1. Los resultados sugirieron que la viscosidad aumentaba con el pH. Basándose en este impacto potencial del pH sobre la viscosidad y los posibles efectos de tipo Dorman durante la TFF, se decidió que el pH de la formulación debería seleccionarse a 5.9. Para el desarrollo de PFS, será necesario lograr una robustez adicional en torno al impacto del pH. Los resultados de cribado HTS para viscosidad frente a lisina HCl (figura 2) mostraron una gran caída en la viscosidad de cero a 25 mM de lisina HCl. Las observaciones prácticas de laboratorio de la preparación de muestras también indicaron que sin lisina las muestras eran más viscosas y más difíciles de manipular a concentraciones más altas. Por esta razón, los experimentos comenzaron con lisina HCl 25 mM como nivel bajo.

### **Ejemplo 3**

#### **30 Evaluación general de los resultados de estabilidad y viscosidad de las formulaciones**

35 La TABLA 4 proporciona un resumen de los resultados de viscosidad y estabilidad acelerada para las formulaciones de anticuerpos. La TABLA 5 proporciona un resumen de los resultados de partículas subvisibles (por HIAC) para las Formulaciones después de 1.8 meses a 5 °C. Una evaluación general de los resultados muestra que las tasas de pérdida de pureza a 40 °C fueron todas aceptables, variando del 3.8 al 4.8 por ciento al mes. La tasa de fragmentación varió del 2.8 al 3.4 por ciento al mes, y la tasa de agregación varió del 0.7 al 2.0 por ciento al mes. Las inspecciones visuales después de 1 mes a 40 °C indican un rendimiento similar para todas las formulaciones (todas fueron estándar 1 para partículas, <III o II para claridad e Y6 para color). Los datos de partículas subvisibles (HIAC) mostraron que todas las muestras tenían menos de 670 partículas por ml de más de 10 micrómetros de tamaño. La viscosidad varió de 2.8 a 39.7 mPas para todas las formulaciones. Varias de las formulaciones a 150 mg/ml tenían valores de viscosidad aceptables.

40 El análisis adicional de los datos en los Ejemplos a continuación muestra cómo se usaron e interpretaron los datos para seleccionar una formulación apropiada y robusta que maximiza la estabilidad proporcionando al mismo tiempo una viscosidad aceptable.

ID DOE	Lisina HCl (mM)	Trehalosa (mM)	Conc. objetivo (mg/ml)	Viscosidad (mPa · s)	Tasa de agregación a 40 °C. (%/mes)	Tasa de fragmentación a 40 °C. (%/mes)	Tasa de pérdida de pureza a 40 °C. (%/mes)	Apariencia visual después de 1 mes a 40 °C (partículas, color, claridad)
1	130	211	150	13.8	1.1	2.8	3.8	1, Y6, <III
2	77.5	105.5	150	11.5	1.4	2.9	4.4	1, Y6, <III
5	130	105.5	200	25.9	1.5	2.9	4.4	1, Y6, <III
6	77.5	0	100	2.8	1.3	3.1	4.5	1, Y6, <III
7	25	105.5	200	29.6	1.9	2.8	4.7	1, Y6, <III
8	130	0	150	9.8	1.5	3.0	4.5	1, Y6, <III
9	77.5	105.5	150	12.6	1.4	2.9	4.3	1, Y6, <III
10	77.5	105.5	150	12.8	1.5	2.9	4.4	1, Y6, II
11	130	105.5	100	4.0	1.1	3.0	4.1	1, Y6, <III
12	77.5	0	200	39.7	2.0	2.8	4.8	1, Y6, <III
13	25	0	150	12.1	1.7	2.8	4.6	1, Y6, <III
14	25	211	150	16.7	1.3	2.9	4.2	1, Y6, II
15	77.5	211	200	33.9	1.3	2.9	4.2	1, Y6, <III
16	25	105.5	100	4.1	0.9	3.4	4.3	1, Y6, <III
17	77.5	211	100	5.1	0.7	3.3	4.0	1, Y6, <III

TABLA 4

Resumen de los resultados de la viscosidad y la estabilidad acelerada para las formulaciones

ID DOE	Lisina HCl (mM)	Trehalosa (mM)	Conc. objetivo (mg/ml)	SVP $\geq 2 \mu\text{m}$ (HIAC) por ml	SVP $\geq 10 \mu\text{m}$ (HIAC) por ml	SVP $\geq 25 \mu\text{m}$ (HIAC) por ml
1	130	211	150	880	20	0
2	77.5	105.5	150	2640	80	20
5	130	105.5	200	3493	0	0
6	77.5	0	100	4120	80	0
7	25	105.5	200	3627	53	0
8	130	0	150	4540	60	20
9	77.5	105.5	150	5940	220	40
10	77.5	105.5	150	5640	20	0
11	130	105.5	100	1387	67	0
12	77.5	0	200	1680	53	0
13	25	0	150	1691	40	0
14	25	211	150	3980	20	0
15	77.5	211	200	44853	667	53
16	25	105.5	100	5800	93	13
17	77.5	211	100	5440	120	13

TABLA 5

Resumen de los resultados de partículas subvisibles para las formulaciones después de 1,8 meses a 5 °C.

**Ejemplo 4**

**Análisis de resultados**

5 La TABLA 6 resume la interpretación y las conclusiones extraídas de los datos:

TABLA 6

Resultado para la importancia de los factores en las respuestas medidas

	<b>Concentración</b>	<b>Nivel de lisina HCl</b>	<b>Nivel de trehalosa</b>
<b>Resultados de la viscosidad</b>	Impacto significativo: Viscosidad aumenta con la concentración.	No significativo (para el intervalo probado por encima de 25 mM)	No significativo. Tendencia menor para el aumento de la viscosidad con mayor trehalosa.
<b>Conclusiones de viscosidad</b>	Los datos sugieren que 150 mg/ml es factible (<20 mPas) pero que 200 mg/ml tendrán una viscosidad demasiado alta (>30 mPas). Se demostró que la lisina disminuye la viscosidad en trabajos anteriores. Un tramo con 25 mM como nivel final bajo y 50 mM como nivel nominal proporcionaría la robustez adecuada.		
<b>Tasa de agregación</b>	Significativa: La agregación aumenta con la concentración	No significativo	Significativo: La trehalosa disminuyó la agregación en una pequeña cantidad.
<b>Conclusiones sobre la tasa de agregación</b>	La estrategia para maximizar la trehalosa con restricción isotónica (se observó un pequeño beneficio incremental de una trehalosa mucho más alta para justificar la hipertonicidad) minimizará la agregación.		
<b>Tasa de fragmentación</b>	Significativa: La fragmentación disminuyó ligeramente con la concentración. La tasa varió del 2.8 al 3.4 por ciento a mes a 40 °C.	No significativo	No significativo
<b>Conclusiones sobre la tasa de fragmentación</b>	Es poco probable que la fragmentación sea un problema en todo el espacio de conocimiento a 5 °C. Las diferencias en la tasa fueron muy pequeñas y podrían ser artefactos de la variabilidad del método debido al "pop" del borde SEC en la estabilidad.		
<b>Conclusiones generales.</b>	En general, una formulación principal a 150 mg/ml con lisina HCl 50 mM para minimizar la viscosidad y trehalosa 130 mM para minimizar la agregación logrará una condición isotónica cuando esté presente tampón de histidina 25 mM. El nivel de polisorbato requerirá una optimización adicional.		

10 Basándose en los resultados del análisis, se evaluó adicionalmente una formulación que tenía MEDI-546 a 150 mg/ml en histidina/histidina HCl 25 mM, lisina HCl 50 mM, trehalosa deshidratada 130 mM, polisorbato 80 al 0.05 % y un pH de 5.9.

**Ejemplo 6**

**Confirmación de la viscosidad y la funcionalidad de la jeringa para la formulación de anticuerpo**

15

Idealmente, la fuerza de deslizamiento de una jeringa precargada debería ser lo más baja posible para garantizar la funcionalidad. En este trabajo se apunta a una viscosidad de menos de 20 mPas y una fuerza de deslizamiento de menos de 15 N. La experiencia previa ha sido que las formulaciones con viscosidades nominales inferiores a 15 mPas tengan un rendimiento de deslizamiento aceptable cuando están equipadas con agujas de pared delgada de calibre 27. Pueden ser factibles hasta 20 mPas en PFS STW de 27 Ga. La formulación y la PFS deben incluir robustez para tener en cuenta la variabilidad en las jeringas y la formulación.

20

En esta sección se documentan datos adicionales que demuestran la robustez de una curva de viscosidad frente a concentración de la formulación en comparación con una formulación de lisina HCl de tramo inferior (25 mM). En esta

sección también se evalúan el rendimiento de deslizamiento y los resultados de viabilidad del tiempo de inyección con la formulación nominal en PFS STW de 27 Ga.

#### **Robustez e impacto del nivel de lisina HCl en el perfil de viscosidad**

5 Se preparó una serie de diluciones de MEDI-546 por encima de 100 a 200 mg/ml en dos formulaciones. Contienen MEDI-546 en histidina/histidina-HCl 25 mM, trehalosa deshidratada 130 mM con polisorbato 80 al 0.02 % a pH 6.0 con lisina HCl 25 mM o 50 mM. Las curvas de viscosidad se muestran en la figura 3. Los resultados muestran que la viscosidad de las formulaciones con niveles de lisina bajos (25 mM) y nominales (50 mM) es aceptable a 150 mg/ml (<15 mPas) y que ambas están por debajo de aproximadamente 20 mPas a 165 mg/ml. Por lo tanto, se confirmaron los resultados de que el nivel nominal de lisina HCl 50 mM está adecuadamente encuadrado por el nivel inferior 25 mM en términos de rendimiento de viscosidad. Basándose en el impacto del pH sobre la viscosidad y los posibles efectos de tipo Dorman durante la TFF, el pH de la formulación de anticuerpo se seleccionó en 5.9.

#### **Evaluación de la funcionalidad de la formulación de anticuerpo en jeringas precargadas**

15 La Tabla 7 proporciona los resultados de la evaluación de la funcionalidad de una formulación que tiene MEDI-546 a 150 mg/ml en histidina/histidina HCl 25 mM, lisina HCl 50 mM, trehalosa deshidratada 130 mM, polisorbato 80 al 0.05 % y un pH de 5.9.

20 Las fuerzas necesarias para inyectar el producto farmacológico MEDI-546 estaban dentro de los intervalos aceptables. La Tabla 8 proporciona los resultados de la evaluación de la inyección del usuario (analistas de laboratorio). Los usuarios informaron que la "fuerza de inyección fue fácil"; "los guantes para artritis dificultaban el manejo de la APFS"; "el dispositivo SSI funcionó". Se observó cierta variabilidad en la velocidad de inyección debido a que los usuarios eran nuevos en el uso del entrenador de inyección y los guantes (nota: la fuerza de inyección no se consideró un problema). Estos resultados indican que esta formulación es adecuada para su uso en una PFS con una aguja STW de 27 Ga. Estos estudios no identificaron ningún problema con la viscosidad de las formulaciones de anticuerpos.

TABLA 7

30 Evaluación de la funcionalidad de la formulación de anticuerpo

Réplica	Fuerza axial (N)	Fuerza de deslizamiento promedio (N)	Fuerza de deslizamiento máx. (N)	Fuerza Abs. Máx. (N)
1	8,0	7,3	8,0	8,5
2	7,0	8,7	9,1	9,1
3	7,8	7,7	8,2	8,5

TABLA 8

Evaluación del tiempo de inyección del usuario

Analista	Tiempo de inyección (s): usando guantes para artritis y APFS (lengüeta, dispositivo SSI)	Tiempo de inyección (s) - PFS desnuda
1	9,8	15,6
2	17	10,4
3	8,1	5,9

#### **Ejemplo 7**

##### **Efectos de la lisina y las proteínas sobre la viscosidad**

40 Se midió la viscosidad de soluciones de lisina a diferentes concentraciones en función de la concentración de proteína (anifrolumab), como se muestra en la Tabla 9 y la figura 4.

**Tabla 9**

<b>lisina 0 mM</b>	
<b>conc. (mg/ml)</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
130.5	8.3
145.8	12.3
180.5	38.4
<b>lisina 5 mM</b>	

<b>conc. (mg/ml)</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
133.5	8.6
147.8	13.5
174.4	33.0
<b>lisina 12.5 mM</b>	

<b>conc. (mg/ml)</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
134.6	6.6
147.5	11.9
176.4	20.1
<b>lisina 25 mM</b>	

<b>conc. (mg/ml)</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
135.9	6.1
148.2	8.6
181.6	17.5
<b>lisina 50 mM</b>	

<b>conc. (mg/ml)</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
135.8	5.6
148.3	6.8
178.8	11.1

5

Se midió la viscosidad de las soluciones de anticuerpo (anifrolumab) a diferentes concentraciones en función de la concentración de proteína, como se muestra en la Tabla 10 y la figura 5.

Tabla 10

<b>Objetivo 135 mg/ml</b>	
<b>lisina mM</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
0	8.3
5	8.6
12.5	6.6
25	6.1
50	5.6

<b>Objetivo 150 mg/ml</b>	
<b>lisina mM</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
0	12.3
5	13.5
12.5	11.9
25	8.6
50	6.8

<b>Objetivo 180 mg/ml</b>	
<b>lisina mM</b>	<b>viscosidad (cP)</b>
0	38.4
5	33.0
12.5	20.1
25	17.5
50	11.1

5 Los ejemplos mostrados anteriormente ilustran diversos aspectos de la invención y la práctica de los métodos de la invención. Estos ejemplos no pretenden proporcionar una descripción exhaustiva de las muchas realizaciones diferentes de la invención.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> DEPAZ, ROBERTO  
 DEJESUS, NATALIE  
 5 BEE, JARED  
 <120> FORMULACIÓN ANTI-IFNAR1 ESTABLE  
 <130> IFNAR-350WO1  
 <140> 62/207.164  
 <141> 08/19/2015  
 10 <160> 2  
 <170> PatentIn versión 3.5  
 <210> 1  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético  
 <400> 1  
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
  
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30  
  
 Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Cys Leu Glu Ser Met  
 35 40 45  
  
 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Ile Arg Tyr Ser Pro Ser Phe  
 50 55 60  
  
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
  
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
  
 Ala Arg His Asp Ile Glu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu  
 100 105 110  
  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115  
 20 <210> 2  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: Polipéptido sintético  
 <400> 2

ES 2 818 229 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30

Phe Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

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

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

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

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

**REIVINDICACIONES**

1. Una formulación de anticuerpo que comprende:
- a. De 100 mg/ml a 200 mg/ml de anifrolumab;
  - 5 b. Lisina HCl 40 mM a 60 mM;
  - c. Trehalosa dihidrato 100 mM a 160 mM;
  - d. Polisorbato 80 del 0.02 % al 0.1 %;
  - e. Histidina/histidina HCl 15 mM a 35 mM,
- en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.5 a aproximadamente 6.5.
- 10 2. Una formulación de anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende:
- a. De 145 mg/ml a 155 mg/ml de anifrolumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo;
  - b. Lisina HCl 45 mM a 55 mM;
  - c. Trehalosa dihidrato 120 mM a 140 mM;
  - d. Polisorbato 80 del 0.04 % al 0.08 %;
  - 15 e. Histidina/histidina HCl 20 mM a 30 mM,
- en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 5.8 a 6.1.
3. Una formulación de anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 2 que comprende:
- a. 150 mg/ml de anifrolumab;
  - b. Lisina HCl 50 mM;
  - 20 c. Trehalosa dihidrato 130 mM;
  - d. Polisorbato 80 al 0.05 %;
  - e. Histidina/histidina HCl 25 mM,
- en la que la formulación tiene un pH de 5.9.
- 25 4. La formulación de anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la formulación tiene una viscosidad igual o inferior a 20 mPas a 25 °C.
5. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 40 °C durante 1 a 24 meses.
6. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha formulación es estable tras el almacenamiento a aproximadamente 40 °C durante 1 a 18 meses.
- 30 7. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la formulación tiene menos de 700 partículas por ml de tamaño mayor o igual a 10 µm después del almacenamiento a aproximadamente 40 °C durante 18 meses.
8. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la tasa de pérdida de pureza de la formulación a 40 °C es del 3 al 5 % al mes durante 12 meses según se determina por HP-SEC.
- 35 9. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la tasa de fragmentación de la formulación es del 2.0 al 4.0 por ciento al mes durante 12 meses según se determina por HP-SEC.
10. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la tasa de agregación de la formulación es del 0.5 al 2.5 % al mes durante 12 meses según se determina por HP-SEC.
- 40 11. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que del 1 % al 6 % del anticuerpo se degrada, se desnaturaliza, se agrega o se despliega al mes tras el almacenamiento a aproximadamente 5 °C durante 1 a 24 meses.

12. La formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que el anticuerpo almacenado a aproximadamente 5 °C durante al menos 6 meses conserva al menos el 80 % de la capacidad de unión a un polipéptido IFNAR en comparación con un anticuerpo de referencia que no ha sido almacenado.

5 13. La formulación de anticuerpo de la reivindicación 12, en la que la formulación es adecuada para administración intravenosa, subcutánea o intramuscular.

14. Un recipiente sellado que contiene la formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

15. Una forma de dosificación unitaria farmacéutica adecuada para administración parenteral a un ser humano que comprende la formulación de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en un recipiente adecuado.

FIG. 1

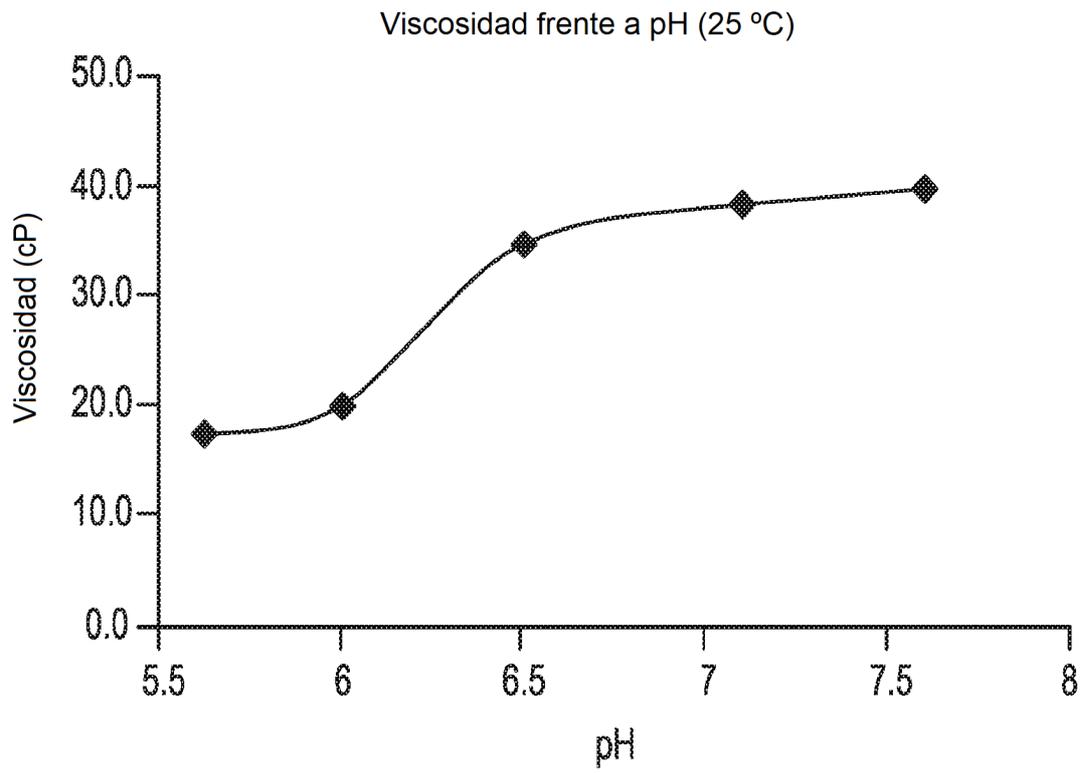
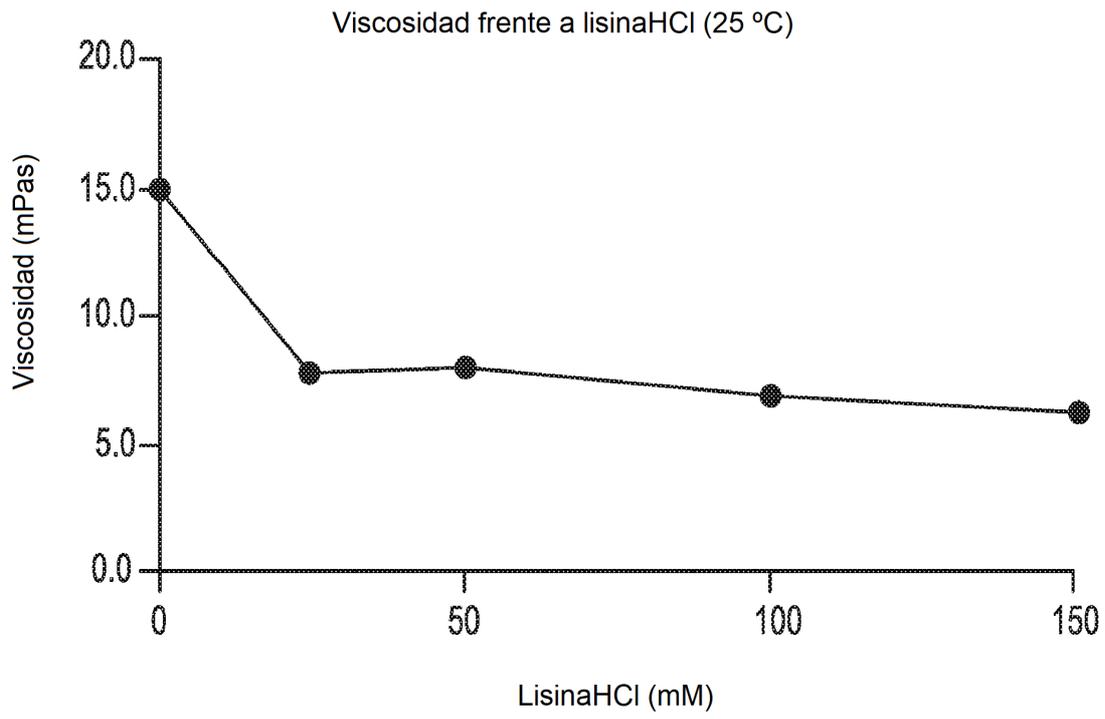
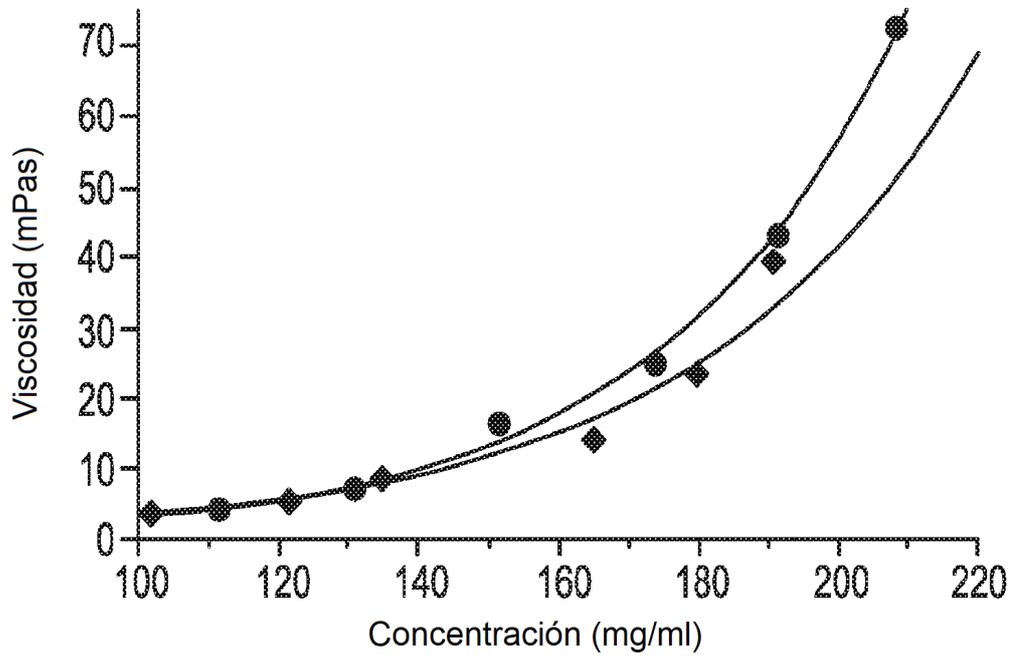


FIG. 2



# FIG. 3

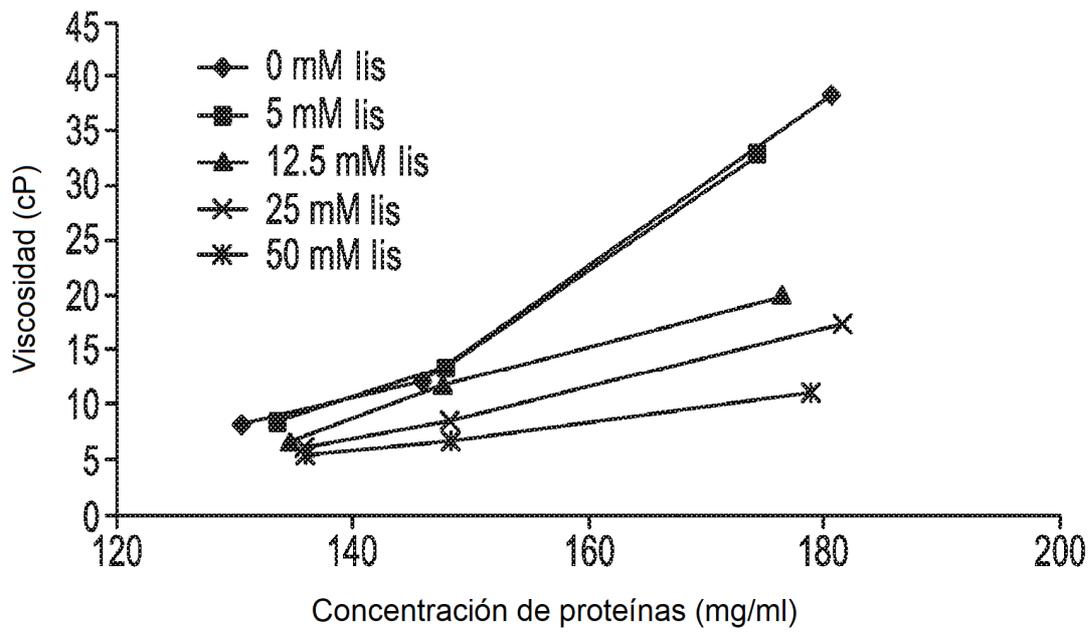
Cribado de viscosidad MEDI-546



- 25 mM his, 25 mM lis, 130 mM treh, pH 6.0
- ◆ 25 mM his, 50 mM lis, 130 mM treh, pH 6.0

# FIG. 4

Viscosidad frente a Conc. de proteínas



# FIG. 5

Viscosidad frente a Conc. de lisina

