

(19) DANMARK

(10) DK 2018 00071 U1



(12)

## BRUGSMODEL ANSØGNING

Almindeligt tilgængelig

Patent- og  
Varemærkestyrelsen

- 
- (51) Int.Cl.: **A61K 9/00 (2006.01)** **A61K 47/26 (2006.01)** **A61K 38/00 (2006.01)**
- (21) Ansøgningsnummer: **BA 2018 00071**
- (22) Indleveringsdato: **2018-09-07**
- (24) Løbedag: **2015-05-15**
- (41) Alm. tilgængelig: **2018-09-07**
- (43) Publiceringsdato: **2018-12-05**
- (67) Reg. er en forgrening fra europæisk pat. ans. nr.: **EP15724974.9**
- (30) Prioritet:  
**2014-05-23 EP 14169754**
- (71) Ansøger:  
**Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Else-Kröner-Strasse 1 61352 Bad Homburg, Tyskland**
- (72) Frembringer:  
**Gianluca Rinaldi, Via Silvestrini 9 00015 Monterotondo (RM), Italien**  
**Silvia Fratarcangeli, C.so Risorgimento 3 03024 Ceprano (FR), Italien**  
**Alessandra Del Rio, Via Ildebrando Vivanti 108 00144 Roma (RM), Italien**
- (74) Fuldmægtig:  
**AWA Denmark A/S, Strandgade 56, 1401 København K, Danmark**
- (54) Titel: **Væskeformig farmaceutisk sammensætning**
- (56) Relevante publikationer:  
**WO 2011104381 A2**  
**WO 2014039903 A2**  
**WO 2013186230 A1**
- (57) Sammendrag:  
**Frembringelsen angår nye væskeformige farmaceutiske sammensætninger af adalimumab, som omfatter adalimumab eller et biosimilært middel dertil, et histidinbuffermiddel såsom histidin (eller et histidinbuffersystem såsom histidin/imidazolium-histidin) og en sukkerstabilisator såsom trehalose. En sådan kombination af bestanddele giver formuleringer med en stabilitet (f.eks. ved lagring eller udsættelser for belastninger), som er sammenlignelig med eller forbedret i forhold til de, der kendes inden for fagområdet, og med færre bestanddele. Sådanne fremskridt vil befordre adalimumabbehandlingers tilgængelighed til lavere omkostninger og forlænge holdbarheden af fyldte dispenseringsanordninger (f.eks. fyldte sprøjter), således at unødvendigt spild af lægemidlet reduceres.**

Fortsættes...

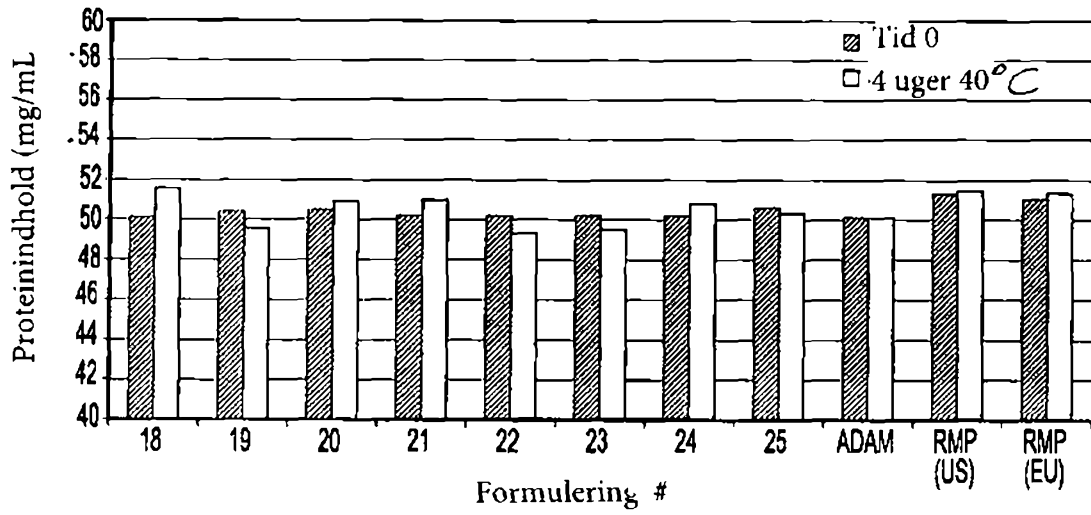


FIG. 1

Indledning

Frembringelsen angår en hidtil ukendt proteinformulering. I særdeleshed angår frembringelsen en væskeformig farmaceutisk sammensætning af adalimumab, et sæt indeholdende sammensætningen og en pakning indeholdende sammensætningen.

Baggrund

Behandling af tumornekrosefaktor-alfa(TNF- $\alpha$ )-forbundne autoimmunsygdom, såsom arthritis rheumatoides, psoriasis og andre autoimmunsygdomme er opnået ved anvendelse af FDA-godkendte lægemidler såsom Adalimumab (HUMIRA®, Abbott Corporation). Adalimumab er et humant monoklonalt antistof, som hæmmer human TNF- $\alpha$ -aktivitet, så aktivering af TNF-receptorer forhindres, hvorved inflammatoriske reaktioner forbundet med autoimmunsygdomme nedreguleres. Godkendte medicinske indikationer for Adalimumab indbefatter arthritis rheumatoides, psoriatisk arthritis, Bechterews sygdom, Crohns sygdom, ulcerøs colit, moderat til svær kronisk psoriasis og børneleddegigt.

Adalimumab indgives i almindelighed til en patient via subkutan injektion, og det gives således på flydende form, typisk i pakninger såsom hætteflasker, forfyldte sprøjter eller forfyldte "penneanordninger". I handlen tilgængelige penneanordninger (HUMIRA® Pen) indbefatter i almindelighed en forfyldt 1 ml-glassprøjte, forfyldt med 0,8 ml af en steril formulering af 40 mg Adalimumab (se nedfor) med en fast nål (enten grå naturgumme eller en latexfri udgave) og en nålebeskytter. Handelsformuleringer (HUMIRA®) af Adalimumab indeholder følgende bestanddele:

<b>Bestanddel</b>	<b>Mængde per beholder (mg); (fyldvolumen=0,8 ml)</b>	<b>Mængde (mg/ml)</b>
Adalimumab	40	50
Citronsyremonohydrat	1,04	1,3
Dibasisk natriumphosphatdihydrat	1,22	1,53
Mannitol	9,6	12
Monobasisk natriumphosphatdihydrat	0,69	0,86
Polysorbat 80	0,8	1
Natriumchlorid	4,93	6,16

Natriumcitrat	0,24	0,3
WFI og natriumhydroxid	q.b. til at indstille pH-værdien til 5,2	q.b til at indstille pH-værdien til 5,2

Adalimumab, og dets fremstillingsmåde, er beskrevet i WO997/29131 (BASF) som D2E7, og andetsteds i faglitteraturen.

Selv om den førnævnte handelsformulering af Adalimumab er stabil (i det mindste i nogen grad), kan det relevante antistof være ustabil over længere tidsrum eller under belastede forhold, hvilket udelukker længere tids lagring af formuleringerne. En sådan nedbrydning af formuleringen kan skyldes flere faktorer, herunder:

**Fysiske virkninger, såsom:**

- Utilstrækkelig aggregeringshæmning af de relevante proteinmolekyler (en funktion, der skulle varetages af Tween-80);
- Utilstrækkelig udfældningshæmning;
- Utilstrækkelig adsorptionshæmning af de relevante proteinmolekyler i grænsefladen mellem vand og luft eller ved kontaktoverfladen af et hvilket som helst emballagemateriale (en funktion, der skulle varetages af Tween-80);
- Utilstrækkelig regulering af osmotisk tryk (en funktion, der skulle varetages af mannitol);

**Kemiske virkninger, såsom:**

- Utilstrækkelig oxidationsregulering (en funktion, der skulle varetages af mannitol, og som potentielt undermineres af Tween-80, som kan fremme oxidering af dobbeltbindinger);
- Utilstrækkelig fotooxidationshæmning;
- Utilstrækkelig hæmning af hydrolyse af esterbindinger, der leder til dannelse af syre-, aldehyd- og peroxidprodukter og derved påvirker antistoffets stabilitet;
- Utilstrækkelig stabilisering og opretholdelse af pH-værdien;
- Utilstrækkelig hæmning af proteinfragmentering;
- Utilstrækkelig hæmning af proteinudfoldning.

En hvilken som helst, nogle eller alle ovennævnte faktorer kan lede til enten et uholdbart lægemiddelprodukt (som kan være usikkert til anvendelse i medicinske behandlinger) eller et lægemiddelprodukt, hvis levedygtighed er variabel og uforudsigelig, navnlig i lyset af forskellige belastninger (bevægelse, varme, lys), som forskellige partier af lægemiddelproduktet kan være udsat for under

fremstilling, transport og oplagring.

Med hensyn til den fysiske og kemiske stabilisering af Adalimumab, ser den komplekse række bestanddele i de førnævnte handelsformuleringer ud til at klare sig dårligere end forventet, navnlig i lyset af det store antal bestanddele.

5 Selv om denne særlige kombination af excipienser utvivlsomt repræsenterer en "delikat balance" (i betragtning af samspillet mellem forskellige tekniske faktorer) og var resultatet af omfattende forskning og udviklingsarbejde, er det i lyset af den tilsyneladende risiko for dårligere ydelse tvivlsomt, hvorvidt et sådant højt antal af forskellige excipienser er berettiget, specielt i betragtning af at dette  
10 uundgåeligt forøger fremstilling- og omkostningsbyrderne, toxicitetsrisici og risikoen for skadelige samvirkninger mellem bestanddele, som kan kompromittere formuleringen. Selv hvis den overordnede funktion af handelsformuleringerne ikke skulle kunne overgås, ville en alternativ formulering med sammenlignelig funktion men indeholdende færre bestanddele repræsentere en højst ønskelig  
15 erstatning for formuleringerne i handlen af i hvert fald de førnævnte grunde.

For at garantere reproducerbar klinisk funktion af et proteinbaseret farmaceutisk produkt må det forblive i en stabil og konsistent form over tid. Det er velkendt, at molekyllære forandringer kan indtræde under alle stadier af fremstillingsprocessen, herunder under produktionen af den endelige formulering og under lagring. Molekyllære forandringer kan ændre en kvalitetsegenskab ved et biofarmaceutisk produkt, hvilket resulterer i en uønsket ændring af produktets identitet, styrke eller renhed. Nogle sådanne problemer er skitseret ovenfor.

Det primære mål med formuleringsudviklingen er at tilvejebringe en farmaceutisk sammensætning, som vil understøtte stabiliteten af et biofarmaceutisk protein under alle stadier af des produktion, oplagring, transport og anvendelse.  
25 Formuleringens udvikling af et innovativt biofarmaceutisk protein eller et biosimilært monoklonalt antistof (mAb) er afgørende for dets sikkerhed, kliniske effektivitet og kommercielle succes.

Der er derfor et behov for at tilvejebringe alternative eller forbedrede flydende formuleringer af adalimumab. Fortrinsvist skal nye formuleringer løse  
30 mindst et af de førnævnte problemer og/eller mindst et problem, der er iboende i den kendte teknik, og kunne passende løse to eller flere af disse problemer. Det var ønskeligt, om problemet eller problemerne i den kendte teknik kunne løses, mens formuleringens kompleksitet mindskes.

35 Sammendrag af frembringelsen

Ifølge et første aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig

farmaceutisk sammensætning omfattende adalimumab (som passende indbefatter enhver biosimilær forbindelse dertil); et histidinpufrende middel (eller histidinbuffersystem); og en sukkerstabilisator; hvor sammensætningen eventuelt omfatter (eller udelukker) en eller flere yderligere bestanddele defineret heri i  
5 forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning (f.eks. indbefattende toniseringsmiddel, uden arginin, osv.), eventuelt i en hvilken som helst mængde, koncentration eller form fastsat heri; og hvor sammensætningen eventuelt udviser en eller flere parametre eller egenskaber, der nævnes heri i forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning (f.eks. pH-værdi, os-  
10 molalitet, ophobning/aggregering, fragmentering, proteinudfoldning, turbiditet osv.).

Ifølge et andet aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig farmaceutisk sammensætning omfattende adalimumab; et histidinpufrende middel (eller histidinbuffersystem); og en sukkerstabilisator; hvor sammensætningen  
15 har en pH-værdi over eller lig med 6,30.

Ifølge et tredje aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig farmaceutisk sammensætning omfattende adalimumab; et histidinpufrende middel (eller histidinbuffersystem); og en sukkerstabilisator; hvor sammensætningen enten er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin)  
20 eller omfatter arginin i en koncentration på højst 0,1 mM.

Ifølge et fjerde aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig farmaceutisk sammensætning omfattende adalimumab; et histidinpufrende middel (eller histidinbuffersystem); og en sukkerstabilisator; hvor sammensætningen er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin  
25 eller omfatter ene eller flere andre aminosyrer end histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM.

Ifølge et femte aspekt af frembringelsen tilvejebringes en pakning (f.eks. en forfyldt sprøjte, pen, intravenøs pose eller en pakke/holder indeholdende en hvilken som helst af de førnævnte) omfattende en væskeformig farmaceutisk  
30 sammensætning som defineret heri.

Ifølge et sjette aspekt af frembringelsen tilvejebringes en lægemiddeldispenseringsanordning (f.eks. en forfyldt sprøjte eller pen eller intravenøs pose) omfattende en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri.

Ifølge et syvende aspekt af frembringelsen tilvejebringes et sæt af dele  
35 omfattende en lægemiddeldispenseringsanordning, en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri (eventuelt indeholdt i en emballage eller be-

holder), og eventuelt en vejledning med anvisninger for indgiften (f.eks. subkutan) af den væskeformige farmaceutiske sammensætning.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en fremgangsmåde til fremstilling af en væskeformig farmaceutisk sammensætning, hvilken  
5 fremgangsmåde omfatter sammenblanding af adalimumab; et histidinpufringsmiddel (eller histidinbuffersystem); en sukkerstabilisator; og eventuelt en eller flere yderligere bestanddele defineret heri i forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning, eventuelt i en hvilken som helst fastsat mængde, koncentration eller form; og eventuelt indstilling af en eller flere parametre, der  
10 gives her i forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning (f.eks. pH-værdi, osmolalitet).

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig farmaceutisk sammensætning, som er opnåelig, opnås eller opnås direkte ved en fremgangsmåde til fremstilling af en væskeformig farmaceutisk sammen-  
15 sætning som defineret heri.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en fremgangsmåde til fremstilling af en pakning eller en lægemiddeldispenseringsanordning, hvilken fremgangsmåde omfatter inkorporation af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri i en pakning eller lægemiddeldispenserings-  
20 anordning.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en pakning eller en lægemiddeldispenseringsanordning, som er opnåelig, opnås eller opnås direkte ved en fremgangsmåde til fremstilling af en pakning eller en lægemiddeldispenseringsanordning som defineret heri.

25 Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en fremgangsmåde til behandling af en sygdom eller medicinsk forstyrrelse hos en patient med behov for sådan behandling, hvilken fremgangsmåde omfatter at indgive til patienten en terapeutisk virksom mængde af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri.

30 Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri til brug i behandling.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes anvendelse af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri til fremstilling af et lægemiddel til behandling af en sygdom eller forstyrrelse.

35 Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en fremgangsmåde til behandling af en tumornekrosefaktor-alfa(TNF- $\alpha$ )-forbundet autoimmun-

sygdom hos en patient med behov for sådan behandling, hvilken fremgangsmåde omfatter at indgive til patienten en terapeutisk virksom mængde af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri til brug i behandling af en 5 tumornekrosefaktor-alfa (TNF- $\alpha$ )-forbundet autoimmunsygdom.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes anvendelse af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri til fremstilling af et lægemiddel til behandling af en tumornekrosefaktor-alfa(TNF- $\alpha$ )-forbundet 10 autoimmunsygdom.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en fremgangsmåde til behandling af arthritis rheumatoides, psoriatisk arthritis, Bechterews sygdom, Crohns sygdom, ulcerøs colit, moderat til svær kronisk psoriasis og/eller børneleddegigt hos en patient med behov for sådan behandling, hvor frem- 15 gangsmåden omfatter at indgive en terapeutisk virksom mængde af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri.

Ifølge et yderligere aspekt af frembringelsen tilvejebringes en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri til anvendelse i behandlingen af arthritis rheumatoides, psoriatisk arthritis, Bechterews sygdom, Crohns 20 sygdom, ulcerøs colit, moderat til svær kronisk psoriasis og/eller børneleddegigt.

I yderligere aspekter tilvejebringer frembringelsen en væskeformig farmaceutisk sammensætning, en pakning, en lægemiddeldispenseringsanordning, et sæt af dele, en fremgangsmåde til fremstilling af en væskeformig farmaceutisk sammensætning, en fremgangsmåde til fremstilling af en pakning eller en lægemiddeldispenseringsanordning, en fremgangsmåde til behandling, en væskeformig farmaceutisk sammensætning til anvendelse, og anvendelse af en væskeformig farmaceutisk sammensætning til fremstilling af et lægemiddel, i det væsentlige som defineret heri (herunder i et hvilket som helst af de førnævnte aspekter) bortset fra, at frembringelsen i stedet for at være specifik for "adali- 30 mumab" (og biosimilære midler dertil) kan anvendes på (og derved være defineret som angående) et hvilket som helst TNF- $\alpha$ -hæmmende antistof (anti-TNF- $\alpha$ -antistof) (eller enhver biosimilær forbindelse dertil), dog helst et antistof, som hæmmer human TNF- $\alpha$ -aktivitet, og allerhelst et humant monoklonalt antistof, som hæmmer human TNF- $\alpha$ -aktivitet. Anti-TNF- $\alpha$ -antistoffet er passende et terapeutisk virksomt lægemiddel (i det mindste når det indgives i passende mængder 35 til en patient med behov derfor) (eller et biosimilært middel dertil – se nedenfor

for definitioner af biosimilære midler i forbindelse med adalimumab, som ligeledes vedrører alle anti-TNF- $\alpha$ -antistoffer), fortrinsvis et, der har opnået FDA-godkendelse. Som sådan kan enhver henvisning heri til "adalimumab", undtagen hvis uforligneligt hermed, opfattes som en henvisning til et hvilket som helst anti-TNF- $\alpha$ -antistof for formålet af disse yderligere aspekter af frembringelsen (hvad enten dette vedrører absolutte eller relative mængder, koncentrationer, parametre eller egenskaber, eller hvorvidt det angår bestemte definitioner, såsom hvad, der udgør et biosimilært middel).

Et af disse yderligere aspekter af frembringelsen tilvejebringer en væskeformig farmaceutisk sammensætning omfattende et anti-TNF- $\alpha$ -antistof (som fortrinsvis indbefatter enhver biosimilær forbindelse dertil); et histidinpufrende middel (eller et histidinbuffersystem); og en sukkerstabilisator; hvor sammensætningen eventuelt omfatter (eller udelukker) en eller flere yderligere bestanddele defineret heri i forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning (f.eks. indbefattende toniseringsmiddel, uden arginin, osv.), eventuelt i en hvilken som helst mængde, koncentration eller form fastsat heri; og hvor sammensætningen eventuelt udviser en eller flere parametre eller egenskaber, der nævnes heri i forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning (f.eks. pH-værdi, osmolalitet, ophobning/aggregering, fragmentering, proteinudfoldning, turbiditet osv.).

I en særlig udførelsesform, er anti-TNF- $\alpha$ -antistoffet udvalgt fra gruppen omfattende adalimumab, infliximab, certolizumab pegol, golimumab.

Ethvert træk, herunder valgfrie, egnede og foretrukne træk, der beskrives i forbindelse med et givet aspekt af frembringelsen, kan også være træk, herunder valgfrie, egnede og foretrukne træk ved et hvilket om helst andet aspekt af frembringelsen.

#### Kort beskrivelse af tegningerne

For en bedre forståelse af frembringelsen, og for at vise, hvordan udførelsesformer af denne iværksættes, henvises nu som eksempel til følgende diagrammatiske tegninger, hvor:

Figur 1 er et søjlediagram, der viser proteinindholdet (mg/ml), som bestemt ved OD, af DoE1-formuleringer (fra Eksempel 1) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter 4 uger (røde søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

Figur 2 er et søjlediagram, der viser % ophobning, som bestemt ved SE-

HPLC, af DoE1-formuleringerne (fra Eksempel 1) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (grønne søjler) og 4 uger (orange søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

5           Figur 3 er et søjlediagram, der viser % fragmentering, som bestemt med en Bioanalyser, af DoE1-formuleringerne (fra Eksempel 1) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) ved et arbitrært startpunkt (mørkeblå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (lyserøde søjler) og 4 uger (lyseblå søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

10           Figur 4 er et søjlediagram, der viser udfoldningstemperaturen (°C), som bestemt ved DSF, for DoE1-formuleringerne (fra Eksempel 1) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer).

            Figur 5 er et søjlediagram, der viser % aggregering, som bestemt ved SE-HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) ved et arbitrært startpunkt (røde søjler, tid=0) og efter både 2 uger (grønne søjler) og 4 uger (lilla søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

            Figur 6 er et søjlediagram, der viser % fragmentering, som bestemt med en Bioanalyser, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

            Figur 7 er et søjlediagram, der viser hovedtopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

            Figur 8 er et søjlediagram, der viser surklyngetopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

            Figur 9 er et søjlediagram, der viser turbiditeten, som bestemt ved nefelometri, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

35           Figur 10 er et søjlediagram, der viser % ophobning, som bestemt ved SE-HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå

søjler, tid=0) og efter både 24 timer (røde søjler) og 48 timer (grønne søjler) for formuleringer, der bevæges mekanisk (omrystning).

Figur 11 er et søjlediagram, der viser % fragmentering, som bestemt med en Bioanalyzer, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 24 timer (røde søjler) og 48 timer (grønne søjler) for formuleringer, der bevæges mekanisk (omrystning).

Figur 12 er et søjlediagram, der viser % turbiditet, som bestemt ved nefelometri, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 24 timer (røde søjler) og 48 timer (grønne søjler) for formuleringer, der bevæges mekanisk (omrystning).

Figur 13 er et søjlediagram, der viser % ophobning, som bestemt ved SE-HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksponering ved  $765 \text{ W/m}^2$  (røde søjler).

Figur 14 er et søjlediagram, der viser % fragmentering, som bestemt med en Bioanalyzer, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksponering ved  $765 \text{ W/m}^2$  (røde søjler).

Figur 15 er et søjlediagram, der viser hovedtopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksponering ved  $765 \text{ W/m}^2$  (røde søjler).

Figur 16 er et søjlediagram, der viser surklyngetopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksponering ved  $765 \text{ W/m}^2$  (røde søjler).

Figur 17 er et søjlediagram, der viser turbiditeten, som bestemt ved nefelometri, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksponering ved  $765 \text{ W/m}^2$  (røde søjler).

Figur 18 er et søjlediagram, der viser hovedtopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem fryse-tø-cykler ( $-80 \text{ }^\circ\text{C} \rightarrow$  stuetemperatur).

Figur 19 er et søjlediagram, der viser surklyngetopisoprofilen, som

bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

Figur 20 er et søjlediagram, der viser % ophobning, som bestemt ved SE-  
5 HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferen-  
cer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før (blå søjler,  
tid=0) og efter (røde søjler) fem fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

Figur 21 er et søjlediagram, der viser antalskoncentrationen (#/mg) af ik-  
ke-synlige partikler med en partikelstørrelse under eller lig med 10 mikrometer,  
10 som bestemt ved tællingsanalyse af ikke-synlige partikler, af DoE2-  
formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem  
fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

Figur 22 er et søjlediagram, der viser antalskoncentrationen (#/mg) af ik-  
ke-synlige partikler med en partikelstørrelse under eller lig med 25 mikrometer,  
15 som bestemt ved tællingsanalyse af ikke-synlige partikler, af DoE2-  
formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem  
fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

#### Detaljeret beskrivelse af frembringelsen

#### 20 Definitioner

Med mindre andet er anført, har de følgende betegnelser anvendt i beskri-  
velsen og kravene følgende betydninger givet nedenfor.

Henvisninger heri til "adalimumab" indbefatter den oprindelige lægemid-  
delsubstans (som tilgængeligt i handelen) adalimumab som defineret i  
25 WO97/29131 (BASF) (navnlig D2E7 deri) og andetsteds inden for det tekniske  
område, og også biosimilære midler deraf. D2E7k i WO97/29131 "har et CDR3-  
letkædedomæne omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO:3 og et  
CDR3-tungkædedomæne omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO:4".  
Fortrinsvis, har D2E7-antostoffet et variabel letkædereion (LCVR) omfattende  
30 aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO:1 og en variabel tungkædereion (HCVR)  
omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO:2. WO97/29131 giver detaljer  
for hver at disse sekvensangivelser. Henvisninger heri til "adalimumab" kan ind-  
befatte biosimilære midler, som for eksempel kan have mindst 75 %, fortrinsvis  
mindst 80 %, fortrinsvis mindst 85 %, fortrinsvis mindst 90 %, fortrinsvis mindst  
35 95 %, fortrinsvis mindst 96 %, fortrinsvis mindst 97 %, fortrinsvis mindst 98 %  
eller mest foretrukket mindst 99 % proteinsekvenssimilaritet med en hvilket som

helst af proteinsekvenserne beskrevet i enten WO97/29131 (navnlig med hensyn til D2E7) eller andetsteds med hensyn til "adalimumab". Alternativt eller derudover kan henvisninger heri til "adalimumab" indbefatte biosimilære midler, som udviser mindst 75 %, fortrinsvis mindst 80 %, fortrinsvis mindst 85 %, fortrinsvis  
5 mindst 90 %, fortrinsvis mindst 95 %, fortrinsvis mindst 96 %, fortrinsvis mindst 97 %, fortrinsvis mindst 98 % eller mest foretrukket mindst 99 % proteinsekvenshomologi med en hvilket som helst af proteinsekvenserne beskrevet i enten WO97/29131 (navnlig med hensyn til D2E7) eller andetsteds med hensyn til "adalimumab". Alternativt eller derudover kan et biosimilært middel have en  
10 (lidt) anderledes glykosyleringsprofil, selv om proteinsekvensen i det væsentlige er den samme eller forskellig i det ovenfor angivne omfang.

Betegnelsen "biosimilært middel" (også kendt som "follow-on biologics") er velkendt inden for fagområdet, og fagmanden vil umiddelbart vide, når en lægemiddelsubstans kan betragtes som et biosimilært middel til adalimumab. Desuden vil sådanne "biosimilære midler" skulle officielt godkendes som et biosimilært middel til markedsføring, før det biosimilære middel bringes i handlen. Betegnelsen "biosimilært middel" anvendes i almindelighed til at beskrive efterfølgende versioner (almindeligvis fra en anden kilde) af et biofarmaceutisk originalprodukt (bioteknologisk produkt, hvis lægemiddelsubstans dannes af en levende  
15 organisme eller er afledt fra en levende organisme eller gennem rekombinant DNA eller styrede genudtrykkelsesmetodologier), som tidligere er bevilget markedsføringstilladelse. Eftersom bioteknologiske produkter har en høj grad af molekylær kompleksitet og generelt er sårbare over for ændringer i fremstillingsprocesserne (f.eks. hvis forskellige cellelinjer benyttes ved deres fremstilling), og  
20 eftersom efterfølgende follow-on-producenter normalt ikke har adgang til originalproduktets molekylklon, cellebank, knowhow med hensyn til fermenterings- og oprensningsprocesser eller til selve den aktive lægemiddelsubstans (kun originalproducentens lægemiddelprodukt i handlen), er det usandsynligt, at et givent "biosimilært middel" er nøjagtigt det samme som originalpræparatet.

30 Til brug for diverse molberegninger (f.eks. molforhold mellem adalimumab og en anden bestanddel i den væskeformige farmaceutiske sammensætning ifølge frembringelsen) kan adalimumabs molekylvægt ansættes til 144190,3 g/mol (referencemolekylvægt) baseret på detaljer givet i CAS-databasen for CAS#331731-18-1, Adalimumab, hvor molekylformlen gives som  
35  $C_{6428}H_{9912}N_{1694}O_{1987}S_{46}$ . Som sådan kan en væskeformig farmaceutisk sammensætning indeholdende 50 mg/ml adalimumab betragtes som en 0,347 mM (eller

347 µM) opløsning af adalimumab. Dette er ikke tænkt på nogen måde begrænsende med hensyn til beskaffenheden af et givet biosimilært middel dækket af nærværende frembringelses beskyttelsesomfang eller med hensyn til glykosyleringsniveauet, som hver især kan påvirke molekylvægten. Hvor et biosimilært middel imidlertid har en anden molekylvægt, bør den ovennævnte referencemolekylvægt benyttes til vurdering af, hvorvidt et sådant biosimilært middel falder inden for omfanget af molære definitioner fastsat i denne beskrivelse. Så molantallet i en kendt vægtmængde af det biosimilære middel bør til denne frembringelses formål beregnes under anvendelse af ovenanførte referencemolekylvægt.

10           Betegnelsen "buffer" eller "bufferopløsning" henviser til en i almindelighed vandig opløsning omfattende en blanding af en syre (almindeligvis en svag syre, f.eks. eddikesyre, citronsyre, imidazoliumform af histidin) og dens korresponderende base (f.eks. et acetat- eller citratsalt, for eksempel natriumacetat, natriumcitrat eller histidin) eller alternativt en blanding af en base (normalt en svag base, f.eks. histidin) og dens korresponderende syre (f.eks. protoneret histidinsalt). pH-værdien af en bufferopløsning vil kun ændre sig ganske lidt ved tilsætning af en lille mængde stærk syre eller base på grund af pufringsvirkningen, der bibringes af buffermidlet.

20           Et "buffersystem" omfatter heri et eller flere buffermidler og/eller en korresponderende syre/base dertil, og omfatter passende kun ét buffermiddel og en korresponderende syre/base dertil. Med mindre andet fremgår, henviser koncentrationer, der heri fastsættes i forbindelse med et buffersystem (altså en bufferkoncentration) til den samlede koncentration af alle de relevante bufferelementer (dvs. elementerne i forbindelse med hinanden, f.eks. citrat/citronsyre). Som sådan angå en given koncentration af et histidinbuffersystem i almindelighed den samlede koncentration af histidin og imidazoliumformen af histidin. Med hensyn til histidin kan sådanne koncentrationer dog sædvanligvis beregnes uden videre med udgangspunkt i den tilførte mængde histidin eller et salt deraf. Den samlede pH-værdi for sammensætningen omfattende det relevante buffersystem er i almindelighed en afspejling af ligevægtskoncentrationen for hver af den relevante bufferelementer (dvs. balancen mellem buffermidler og korresponderende syrer og baser dertil).

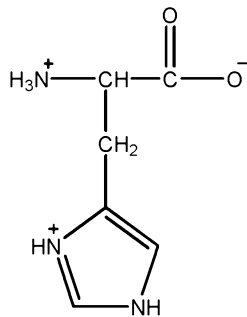
35           Betegnelsen "buffermiddel" henviser heri til en syre- eller basebestanddel (normalt en svag syre eller svag base) i en buffer eller bufferopløsning. Et buffermiddel hjælper til at opretholde pH-værdien for en given opløsning ved eller nær en forudbestemt værdi, og buffermidlerne vælges i almindelighed til at kom-

plementere den forudbestemte værdi. Et buffermiddel er passende en enkelt forbindelse, som giver ophav til en ønsket buffervirkning, navnlig når buffermidlet blandes med (og gerne er i stand til protonudveksling med) en passende mængde (afhængig af den ønskede forudbestemte pH-værdi) af dens korresponderende syre/base, eller hvis den påkrævede mængde af dens korresponderende syre/base dannes *in situ* – dette kan opnås ved at tilsætte stærk syre eller base, indtil den ønskede pH-værdi nås. Som eksempel:

- Et histidinbuffermiddel er den frie aminosyre, histidin. Eftersom aminosyrer såsom histidin er amfotere og således i stand til at optræde som både en syre og en base, er buffermidlet simpelthen den amfotere forbindelse selv (fortrinsvis på zwitterionform). Imidlertid kan et histidinbuffersystem eller -bufferopløsning eventuelt have tilsat ud over histidin en mængde syre (fortrinsvis en stærk syre såsom saltsyre) eller base (fortrinsvis en stærk base såsom natriumhydroxid), indtil den ønskede pH-værdi nås. Som sådan kan noget af den tilstedeværende histidin udvise en anden protoneringstilstand end den zwitterioniske aminosyre. I nærværende sammenhæng henviser alle koncentrationer givet i forbindelse med et histidinbuffersystem, med mindre andet fremgår, fortrinsvis til den kombinerede koncentration af buffermiddel (f.eks. histidin) og/eller korresponderende syrer/baser dertil (f.eks. imidazoliumformen af histidin). Fagmanden kan uden videre beregne sådanne koncentrationer, og kan gøre det ved simpel henvisning til de indgående mængder histidin eller dets korresponderende syre/base. (f.eks. histidinhydrochlorid). Sådanne koncentrationer kan udregnes ved reference til de kombinerede koncentrationer af buffermidler og korresponderende syre/base, hvor et buffersystem dannes ved simpelthen at sammenblende buffermidler og korresponderende syre/base. Alternativt, kan sådanne koncentrationer passende beregnes med henvisning til udgangsmængderne/-koncentrationerne af buffermidlerne eller de korresponderende syrer/baser, henholdsvis, hvor et buffersystem dannes ved at blande enten buffermidlerne eller de korresponderende syrer/baser med et pH-indstillingsmiddel (f.eks. stærk syre eller stærk base) til dannelse af en blanding af hver især. Hvor f.eks. et buffersystem dannes under anvendelse af en kendt mængde/koncentration af histidin, som blandes med et pH-indstillingsmiddel (f.eks. natriumhydroxid), indtil den ønskede pH-værdi nås, kan koncentrationen af buffersystemet beregnes med reference til den oprindelige mængde histidin. Lige-

ledes gælder det samme, hvor et buffersystem dannes under anvendelse af en kendt mængde/koncentration af histidinimidazoliumsalt (f.eks. histidinhydrochlorid) blandet med et pH-indstillingsmiddel (f.eks. natriumhydroxid), indtil den ønskede pH-værdi nås – i dette tilfælde kan koncentrationen af buffersystemet beregnes ved reference til den oprindelige mængde histidinimidazoliumsalt.

Heri henviser en "korresponderende syre/base" til den korresponderende syre eller korresponderende base (hvilken, der end er relevant ved en given pH-værdi – typisk den korresponderende syre i nærværende frembringelses kontekst) til et givet buffermiddel. Den korresponderende syre/base til et histidinbuffermiddel (f.eks. histidin) er fortrinsvis imidazoliumformen af histidin, fortrinsvis et imidazoliumsalt af histidin. Imidazoliumformen af histidin kan henvises til heri som "imidazolium-histidin" og har følgende struktur:



Et imidazoliumsalt af histidin kan henvises til som et histidinimidazoliumsalt og i det væsentlige samme struktur som vist ovenfor, bortset fra en tilhørende modion.

Betegnelsen "bufferelement" henviser til særlige element (eksklusiv eventuelle tilhørende modanioner eller modkationer – dvs. se bort fra chlorid eller hydroxymodioner for histidin/imidazolium-histidin-systemer) i et givet buffersystem, som er i dynamisk ligevægt med (og protonudveksler med) hinanden. For eksem kan histidin og imidazolium-histidin tilsammen udgøre histidinbufferelementet i et histidinbuffersystem.

Da det ofte kan være noget vanskeligt at definere mængder (hvad enten de er absolutte eller relative) af et buffersystem ved henvisning til vægten (da totalvægten vil afhænge af den ønskede pH-værdi, som vil påvirke mængden af tilstedeværende modioner), kan vægtbaserede mængder heri i stedet bestemmes ved henvisning til en teoretisk vægt af det relevante bufferelement. Mindst to elementer er normalt til stede i en given mængde bufferelementer (relative mængder, som kun kan bestemmes ved henvisning til

pH-værdien), hver med en forskellig molekylvægt (som sædvanligvis adskiller sig med kun 1). Derfor er vægten af et givet sæt af bufferelementer for denne beskrivelses formål givet som en teoretisk vægt baseret på kun en af bufferelementerne, nemlig det mest basiske af bufferelementerne (dvs. den mindst protonerede form ved en given pH-værdi) for at muliggøre holdbare vægtberegninger- og henvisninger. Så vægten af en given mængde bufferelementer gives som vægten af base-elementsækvivalenter. Som eksempel kan histidinbufferelementet i et histidinbuffersystem bestå af histidin og imidazolium-histidin-kationer. Vægten af bufferelementet beregnes derfor, som om histidin var det eneste tilstedeværende element i buffersystemet (selv om imidazolium-histidin er til stede sammen med histidin). Således refererer enhver henvisning til en vægt eller et vægtforhold omhandlende et histidinbufferelement fortrinsvis til den teoretiske vægt af histidinækvivalenter i buffersystemet. Som sådan kan den oprindelige vægt af histidin, hvor en sammensætning dannes ved at tilsætte et pH-indstillingsmiddel (f.eks. natriumhydroxid) til en fastsat mængde imidazoliumhistidin eller endog til en fastsat mængde histidin (som fortrinsvis danner en mængde imidazolium-histidin ved opløsning i fortyndingsmidlet), betragtes som værende vægten af bufferelementet uanset slut-pH-værdien. Hvis koncentrationen (dvs. molariteten) af et buffersystem kendes, kan denne alternativt konverteres til en vægt af bufferelement ved reference til molekylvægten af den mest basiske form af det relevante bufferelement (f.eks. histidin) og ved at ignorere den kendsgerning, at imidazolium-histidin-kationer også er til stede.

Med mindre andet oplyses, refererer henvisninger heri til en "aminosyre" eller "aminosyrer", enten specifikke (f.eks. arginin, histidin) eller generelle (f.eks. enhver aminosyre), i konteksten af deres tilstedeværelse eller i sammensætninger (navnlig farmaceutiske flydende sammensætninger ifølge frembringelsen) til de korresponderende frie aminosyrer (uanset deres protoneringstilstand og/eller saltform, men for ensartethedens skyld beregnes mængder fortrinsvis med henvisning til den frie aminosyre *per se*). Dette kan passende indbefatte naturlige og/eller kunstige aminosyrer. Med mindre andet er angivet, er sådanne henvisninger ikke tænkt at vedrøre aminosyrerester, der er kovalent inkorporeret som del af en større forbindelse (i modsætning til en sammensætning omfattende flere forbindelser), såsom et peptid eller protein (hvor sådanne aminosyrerester er forbundet *via* peptidbinding

ger). Ihvorvel adalimumab som et protein indeholder aminosyrerester anses det ikke som sådan for at omfatte nogle frie aminosyrer. Som eksempel indeholder en sammensætning defineret som værende "*fri for arginin*" ikke fri arginin, men den kan stadig indeholde et eller flere proteiner (f.eks. adalimumab), som selv omfatter argininrester.

Med mindre andet er anført, henviser referencer heri til en eller flere aminosyrer, enten specifikke eller generelle, fortrinsvis til L-stereoisomererne eller et racemat deraf, fortrinsvis L-aminosyrer.

Betegnelsen "*i det væsentlige fri for*", når den benyttes i forbindelse med en given bestanddel af en sammensætning (f.eks. en væskeformig farmaceutisk sammensætning i det væsentlige fri for arginin), henviser til en sammensætning, hvortil i det væsentlige intet af den nævnte bestanddel er blevet tilsat. Som forklaret ovenfor angår sådanne henvisninger ikke tilstedeværelsen af aminosyrerester i en proteinstruktur. Når en sammensætning er "*i det væsentlige fri*" for en given bestanddel, omfatter sammensætningen fortrinsvis ikke mere end 0,01 % efter vægt af bestanddelen, fortrinsvis ikke mere end 0,001 % efter vægt af bestanddelen, fortrinsvis ikke mere end 0,0001 % efter vægt af bestanddelen, fortrinsvis ikke mere end 0,00001 % efter vægt af bestanddelen, fortrinsvis ikke mere end 0,000001 % efter vægt af bestanddelen, mest foretrukket ikke mere end 0,0001 ppb (efter vægt).

Betegnelsen "*fuldstændig fri for*", når den anvendes i forbindelse med en given bestanddel af en sammensætning (f.eks. en væskeformig farmaceutisk sammensætning fuldstændig fri for arginin) henviser til en sammensætning der intet indeholder af nævnte bestanddel. Som forklaret ovenfor, angår sådanne henvisninger ikke tilstedeværelsen af aminosyrerester i en proteinstruktur.

I nærværende beskrivelses kontekst er en "*stærk syre*" fortrinsvis en med en  $pK_a$ -værdi på  $-1,0$  eller mindre, medens en "*svag syre*" fortrinsvis er en med en  $pK_a$ -værdi på  $2,0$  eller mere. I nærværende beskrivelses kontekst er en "*stærk base*" fortrinsvis en, hvis korresponderende syre har en  $pK_a$ -værdi på  $12$  eller derover (fortrinsvis  $14$  eller derover), medens en "*svag base*" fortrinsvis er en, hvis korresponderende syre har en  $pK_a$ -værdi på  $10$  eller derunder.

En "*stabilisator*" refererer til en bestanddel, som letter opretholdelse af

den strukturelle integritet af det biofarmaceutiske lægemiddel, særligt under frysning og/eller frysetørring og/eller lagring (navnlig under udsættelse for belastninger). Denne stabiliserende virkning kan opstå af allehånde grunde, dog kan sådanne stabilisatorer typisk optræde som osmolytter, som beskytter mod proteindenaturering. Typisk indbefatter stabilisatorer aminosyrer (dvs. frie aminosyrer, der ikke indgår i et peptid eller protein – f.eks. glycin, arginin, histidin, asparaginsyre, lysin) og sukkerstabilisatorer såsom en sukkerpolyalkohol (f.eks. mannitol, sorbitol) og/eller et disaccharid (f.eks. trehalose, sukrose, maltose, laktose), selv om de væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen indbefatter en stabilisator, hvoraf mindst én er en sukkerstabilisator (dvs. enten en sukkeralkohol eller et disaccharid). Fortrinsvis er den mindst ene sukker stabilisator et ikke-reducerende sukkerstof (de være sig en sukkeralkohol eller et disaccharid).

Et "ikke-reducerende sukkerstof" er her almindeligvis et sukkerstof uden aldehydgrupper eller uden evne til at danne en aldehydgruppe (f.eks. ved isomerisme).

En "tonicitetsmodifikator" eller et "toniseringsmiddel" refererer til et middel, hvis medtagelse i en sammensætning på passende vis bidrage til (eller forøger) sammensætningens overordnede osmolalitet og osmolaritet. Fortrinsvis indbefatter et toniseringsmiddel som anvendt heri et middel, som gør en opløsning lig fysiologiske væsker med hensyn til osmotiske karakteristika.

Henvisninger til specifikke mængder af en given bestanddel af en sammensætning, navnlig et buffermiddel, stabilisator, aminosyre, overfladeaktivt stof eller toniseringsmiddel refererer fortrinsvis til mængderne af den rene vandfrie form af den relevante bestanddel (eller forbindelser dannet under anvendelse af disse mængder af den rene vandfrie form), endskønt en sådan bestanddel kan anvendes i en ikke-vandfri form, når sammensætningen dannes. Mængder af tilsvarende ikke-vandfrie former (f.eks. monohydrater, dihydrater, osv.) kan beregnes uden videre ved simpelt hen at bruge den rette multiplikator. For eksempel refererer mængder fastsat med hensyn til trehalose, med mindre andet fremgår (som i Eksemplerne, hvor mængder vedrører trehalosedihydrat), til den vandfrie form af trehalose (eller sammensætninger dannet under anvendelse af de fastsatte mængder/koncentrationer af vandfri trehalose), som har en molekylvægt på 342,296 g/mol, så for at beregne den tilsvarende mængde trehalosedihydrat, der behøves for at dan-

ne den samme forbindelse (mindre vand behøver tilføres) er det nødvendigt at multiplicere den fastsatte mængde med 378,33/342,296, eftersom 378,33 er molekylvægten af trehalosedihydrat. Fagmanden vil uden videre forstå med skønsomhed at tilpasse mængden af fortyndingsmiddel/vand afhængig af formen af de anvendte bestanddele for at aflede målkoncentrationerne.

Udtrykket "farmaceutisk sammensætning" henviser her til en formulering af et farmaceutisk aktivstof, som gør den biologiske aktivitet af den aktive bestanddel terapeutisk virksom, men som ikke indbefatter andre bestanddele, som er åbenlyst toksiske for et individ, til hvilket formuleringen er tiltænkt at skulle indgives.

Betegnelsen "stabil" refererer heri generelt til den fysiske stabilitet og/eller kemiske stabilitet og/eller biologiske stabilitet af en bestanddel, typisk et aktivstof eller en sammensætning deraf under konservering/lagring.

Det skal forstås, at henvisninger til "at behandle" eller "behandling" indbefatter forebyggelse såvel som lindring af etablerede symptomer på en tilstand. At behandle eller behandling af en tilstand, forstyrrelse eller lidelse indbefatter derfor: (1) at forebygge eller forsinke tilsynkomsten af kliniske symptomer på tilstanden, forstyrrelsen eller lidelsen, som udvikler sig hos et menneske, som kan være plaget af eller prædisponeret for tilstanden, forstyrrelsen eller lidelsen, men endnu ikke erfarer eller udviser kliniske eller subkliniske symptomer på tilstanden, forstyrrelsen eller lidelsen, (2) at hæmme tilstanden, forstyrrelsen eller lidelsen, dvs. stoppe, reducere eller forsinke udviklingen af sygdommen eller et tilbagefald deraf (i tilfælde af vedligeholdelsesbehandling) eller i det mindste ét klinisk eller subklinisk symptom derpå, eller (3) at lette eller svække sygdommen, dvs. bevirke regression af tilstanden, forstyrrelsen eller lidelsen eller i det mindste et af dens kliniske eller subkliniske symptomer.

I forbindelse med nærværende frembringelse betyder "en terapeutisk virksom mængde" eller "effektiv mængde" af antistoffet en mængde som er virksom, når den indgives til et pattedyr til behandling af en sygdom eller forstyrrelse i profylaktisk og terapeutisk henseende, og antistoffet er virksomt til behandling af de omhandlede sygdomme.

Den terapeutisk virksomme mængde vil variere afhængigt af forbindelsen, sygdommen og dens sværhedsgrad samt alderen, vægten osv. af pattedyret, der skal behandles.

Betegnelsen "human TNF- $\alpha$ " henviser til det humane cytokin, som eksisterer i en udskilt 17 kD-form og en membranassocieret 26 kD-form, og i en biologisk aktiv form ses TNF- $\alpha$  som en trimer af et kovalent bundet 17 kD-molekyle. Dets specifikke struktur kan findes hos Pennica, D. et al. (1984) Nature 312: 724-729; Davis, J.M. et al. (1987) Biochemistry 26, 1322-1326; og Jones, E.Y et al. (1989) Nature 338: 225-228.

Betegnelsen "rekombinant humant antistof" skal indbefatte et humant antistof, der er frembragt, udtrykt, fremstillet eller isoleret under anvendelse af en rekombinant fremgangsmåde.

10 Mængder, der heri er fastsat for bestanddele og ingredienser, hvad enten de angives i "dele", ppm (parts per million) procentdele (% , f.eks. % efter vægt) eller forhold er ment efter vægt, med mindre andet er angivet.

Når mængden eller koncentrationen af en given bestanddel af en given sammensætning angives som en vægtprocentdel (% efter vægt eller % v/v),  
 15 henviser vægtprocentdelen til procentdelen af bestanddelen efter vægt i forhold til den samlede vægt af sammensætningen som et hele. Fagmanden vil forstå, at summen af vægtprocentdele af alle bestanddele af en sammensætning (specificeret eller ej) vil andrage i alt 100 % efter vægt. Hvor imidlertid ikke alle bestanddele er opregnet (f.eks. hvor sammensætninger siges at omfatte en eller flere særlige bestanddele), kan vægtprocentbalancen eventuelt  
 20 kompletteres til 100 % efter vægt af uspecificerede bestanddele (f.eks. et fortyndingsmiddel, såsom vand, eller andre ikke-essentielle men egnede til sætningsstoffer).

Her henviser betegnelsen "dele" (f.eks. dele efter vægt, pbw), når den  
 25 anvendes i forbindelse med flere ingredienser/bestanddele til relative andele mellem de flere ingredienser/bestanddele. At udtrykke mol- eller vægtforhold mellem to, tre eller flere bestanddele giver ophav til samme virkning (f.eks. er et molforhold på  $x$ ,  $y$  og  $z$   $x_1 : y_1 : z_1$ , henholdsvis, eller et interval  $x_1-x_2 : y_1-y_2 : z_1-z_2$ ). Selv om mængderne af individuelle bestanddele i en sammen  
 30 sætning i mange udførelsesformer kan gives som en vægtprocentværdi, kan nogle eller alle sådanne vægtprocentværdier i alternative udførelsesformer omsættes til dele efter vægt (eller relative forhold) for at definere en sammensætning af flere bestanddele. Det forholder sig således, fordi de relative forhold mellem bestanddelene ofte er vigtigere end de absolutte koncentrationer deraf i det væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frem-  
 35

bringelsen. Hvor en sammensætning omfattende flere bestanddele beskrives udelukkende ved dele efter vægt (dvs. til angivelse kun af relative forhold mellem bestanddele) er det ikke nødvendigt at fastsætte de absolutte mængder eller koncentrationer af bestanddelene (enten i alt eller individuelt), fordi frembringelsens fordel kan hidrøre fra de relative forhold mellem de respektive bestanddele snarere end fra deres absolutte mængder eller koncentrationer. I visse bestanddele består sådanne sammensætninger imidlertid i det væsentlige af eller består af de fastsatte bestanddele og et fortyndingsmiddel (f.eks. vand).

10           Hvor en sammensætning siges at omfatte flere fastsatte bestanddele (eventuelt i fastsatte mængder eller koncentrationer), kan sammensætningen eventuelt indbefatte yderligere bestanddele ud over de fastsatte. Imidlertid kan en sammensætning, der siges at omfatte flere fastsatte bestanddele, i visse udførelsesformer rent faktisk i det væsentlige bestå af eller bestå af alle 15 de foreskrevne bestanddele.

Hvor en sammensætning heri siges "i det væsentlige at bestå af" en given bestanddel, omfatter forbindelsen fortrinsvis mindst 70 % efter vægt af bestanddelen, fortrinsvis mindst 90 % deraf, fortrinsvis mindst 95 % deraf, mest foretrukket mindst 99 % deraf. Fortrinsvis består en sammensætning, 20 der siges i det væsentlige at bestå af en given bestanddel, af denne bestanddel bortset fra en eller flere sporurenheder.

Betegnelsen "partikelstørrelse" eller "porestørrelse" refererer heri henholdsvis til længden af den længste dimension af en given partikel eller pore. Begge størrelser kan måles under anvendelse af en laserpartikelstørrelsesanalyseanordning og/eller elektronmikroskoper (tunnelelektronmikroskop, 25 TEM, eller skanningelektronmikroskop, SEM). Partikelantallet (for enhver given størrelse) kan opnås under anvendelse af protokollerne og udstyret beskrevet i Eksemplerne, som vedrører tælling af ikke-synlige partikler.

### 30           Væskeformig farmaceutisk sammensætning

Nærværende frembringelse tilvejebringer en væskeformig farmaceutisk sammensætning, fortrinsvis som defineret heri. Sammensætningen omfatter fortrinsvis et humant monoklonalt antistof, fortrinsvis et, der hæmmer human TNF- $\alpha$ -aktivitet, fortrinsvis så aktivering af TNF-receptorer hindres. 35 Mest foretrukket omfatter de væskeformige farmaceutiske sammensætninger

adalimumab, som selv fortrinsvis indbefatter eventuelle biosimilære midler dertil. Sammensætninger omfatter fortrinsvis et histidinbuffermiddel (eller histidinbuffersystem). Sammensætningen omfatter fortrinsvis en sukkerstabilisator. Sammensætningen har fortrinsvis en pH-værdi over eller lig med  
5 6,30. Sammensætningen er fortrinsvis (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin eller omfatter arginin enten i en koncentration på højst 0,1 mM, i et molforhold mellem arginin og histidinbuffermiddel (eller histidinbuffersystem) på højst 1:150, eller i et vægtforhold mellem arginin og adalimumab på højst 1:3000 (dvs. mindre end eller svarende til en del histidin efter vægt  
10 for hver 3000 dele histidinbuffermiddel efter vægt.). Alternativt eller derudover kan sammensætningen passende indbefatte en hvilken som helst eller flere yderligere bestanddele defineret heri i forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning (dvs. inklusiv toniseringsmiddel, eksklusiv arginin, osv.), eventuelt i en hvilken som helst mængde, koncentration eller  
15 form fastsat heri; og hvor sammensætningen eventuelt udviser en hvilken som helst eller flere parametre eller egenskaber givet heri i forbindelse med en væskeformig farmaceutisk sammensætning (f.eks. pH-værdi, osmolalitet).

Frembringelsen tilvejebringer med fordel alternative og forbedrede væskeformige farmaceutiske sammensætninger, som i almindelighed udviser  
20 bedre stabilitet og levedygtighed end den kendte tekniks. Som vist heri (se Eksempler) har de væskeformige farmaceutiske formuleringer ifølge frembringelsen sammenlignelige eller forbedrede egenskaber i sammenligning med konventionelle formuleringer af adalimumab, for eksempel den i handlen tilgængelige formulering Humira®, når de underkastes diverse belastende  
25 betingelser (termiske, mekaniske og lys). Deres ydelse er også generelt sammenlignelig med eller bedre end mange andre sammenligningsformuleringer, som underkastedes samme stresstest. Da disse belastende betingelser er særdeles repræsentative for den type belastninger, som sådanne formuleringer udsættes for under fremstilling, transport og lagring, giver de en  
30 glimrende indikation af frembringelsens fordele. At en sådan god stabilitet kan opnås med mindre komplekse formuleringer med færre excipienser, betragtedes som overraskende i betragtning af den almene lære i den kendte teknik.

Adalimumab, som er tilgængeligt i handelen i HUMIRA®-formuleringer, og dets fremstillingsmetode, er beskrevet i WO97/29131 (BASF) som D2E7 og andetsteds i den kendte teknik. Det beskrives som havende "et letkæde-CDR3-domæne omfattende aminosyresekvensen ifølge  
5 SEQ ID NO:3 og et tungkæde-CDR3-domæne omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO:4" (WO97/29131). Desuden beskrives D2E7-antistoffet som havende en variabel letkædereion (LCVR) omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO:1 og en variabel tungkædereion (HCVR) omfattende aminosyresekvensen ifølge SEQ ID NO:2 (WO97/29131).

10 Adalimumabs medicinske indikationer og funktion er der redegjort for i det foregående.

I konteksten af frembringelsen indbefatter "adalimumab" biosimilære midler som defineret i det foregående, og fagmanden vil uden videre forstå indebyrden af betegnelsen "adalimumab" i frembringelsens kontekst.

15 I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning adalimumab i en koncentration på fra cirka 5 til cirka 150 mg/ml, fortrinsvis fra cirka 25 til cirka 75 mg/ml. For eksempel kan adalimumab være til stede i formuleringen i en koncentration på cirka 25, cirka 30, cirka 35, cirka 40, cirka 45, cirka 50, cirka 55, cirka 60, cirka 65, cirka 70  
20 eller cirka 75 mg/ml. I en udførelsesform er adalimumab til stede i en koncentration fra cirka 45 til cirka 55 mg/ml. I en udførelsesform er adalimumab til stede i en koncentration på cirka 50 mg/ml.

#### Buffer, buffermiddel og pH-værdi

25 Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er fortrinsvis en pufret opløsning, hvis pH-værdi stabiliseres af et buffermiddel (eller buffersystem), fortrinsvis i kombination med en korresponderende syre/base til buffermidlet. Som sådan omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning fortrinsvis et buffermiddel som defineret heri. Fortrinsvis omfatter  
30 den væskeformige farmaceutiske sammensætning yderligere en korresponderende syre/base, hvor den korresponderende syre/base svarer til den korresponderende syre eller korresponderende base til buffermidlet, afhængig af, hvorvidt buffermidlet selv er en base eller en syre, henholdsvis. Tilsammen kan buffermidlet og dets korresponderende syre/base betragtes som et  
35 "buffersystem". Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter

således fortrinsvis et buffersystem (fortrinsvis omfattende et eller flere buffermidler og en eller flere dertil korresponderende syrer/baser), og enhver koncentration fastsat i forbindelse med buffersystemet angår i almindelighed de kombinerede koncentrationer af buffermidler og dertil korresponderende syrer/baser. Ethvert buffersystem omfatter fortrinsvis en svag syre og en svag base (se ovenstående definitioner).

Buffermidlet er fortrinsvis et histidinbuffermiddel. Fortrinsvis er histidinbuffermidlet histidin (eller et salt deraf), mest foretrukket fri histidin (f.eks. zwitterionisk histidin).

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis en korresponderende syre/base til buffermidlet. Dette er mindre ligetil for histidinbuffermidler end for mange andre almindelige carboxylsyre/carboxylat-buffersystemer, da imidazolgruppen i histidin bevirker, at histidin generelt eksisterer i vandig opløsning, da en ligevægtsblanding af protoneret (imidazolium) og deprotoneret (fri imidazol) danner en pH-værdi mellem 6 og 7. Den protonerede (imidazolium) form af histidin kan være forbundet med en eller flere farmaceutisk acceptable anioner – herunder anioner såsom hydroxid eller chlorid – selv om imidazoliumformen yderligere eller alternativt eksisterer i et fortyndingsmiddel (f.eks. vand) som en solvatkation. Som sådan kan den protonerede (imidazolium) form af histidin betragtes som histidins korresponderende syre/base, eftersom den repræsenterer histidins korresponderende syre. Denne korresponderende syre til histidin har fortrinsvis både amino- og imidazolgruppen protoneret, men carboxylatgruppen deprotoneret – dette giver en positiv nettoladning på +1. Kombinationen af buffermidlet og dets korresponderende syre/base udgør et buffersystem. Fortrinsvis omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning buffermidlet og dets korresponderende syre/base, fortrinsvis således, at buffermidlet og dets korresponderende syre/base tilsammen er til stede i et niveau (dvs. absolut mængde eller koncentration) og i en relativ mængde (eller koncentration), der er tilstrækkelig til at give den ønskede pH-værdi for sammensætningen. Buffersystemet kan dannes ved simpelthen at blande buffermidlet (f.eks. histidin) med dets korresponderende syre/base (f.eks. imidazoliumsaltform af histidin, f.eks. histidinmonohydrochlorid), fortrinsvis i passende mængder til at tilvejebringe en sammensætning med den ønskede pH-værdi. Alternativt kan buffersystemet dannes ved at blande en syre eller

base med enten buffermidlet eller dets korresponderende syre/base for *in situ* at danne den ønskede blanding af buffermiddel og korresponderende syre/base. For eksempel kan buffersystemet dannes ved at tilsætte en base (f.eks. natriumhydroxid) til buffermidlet (f.eks. histidin, som kan indstille sig selv i ligevægt øjeblikkeligt, når det opløses i vand, resulterende i både histidin og dets korresponderende syre), fortrinsvis i en mængde, der er passende til tilvejebringelse af den ønskede pH-værdi og blanding af buffermidlet (f.eks. histidin) og den korresponderende syre/base (dvs. imidazoliumsaltformen af histidin). Alternativt kan enhver af fremgangsmåderne til dannelse af buffersystemet benyttes, og pH-værdien kan indstilles efter skønsom vurdering ved enten at tilføje yderligere syre (fortrinsvis stærk syre, såsom HCl) eller yderligere base (fortrinsvis stærk base, såsom natriumhydroxid), indtil den påkrævede pH-værdi nås.

Som beskrevet ovenfor kan et "pH-indstillingsmiddel" anvendes i forbindelse med histidin (eller et imidazoliumhistidinsalt, f.eks. histidinhydrochlorid) til opnåelse af en ønsket pH-værdi. pH-indstillingsmidlet kan være en stærk syre eller en stærk base, selv om det fortrinsvis er en stærk base, såsom natriumhydroxid.

Mest foretrukket er buffersystemet et histidinbuffersystem, fortrinsvis omfattende histidin i ligevægt med dets imidazoliumform.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis højst ét buffermiddel. Fortrinsvis omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning højst ét buffersystem.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning har en pH-værdi større end eller lig med 5,0. Fortrinsvis har den væskeformige farmaceutiske sammensætning en pH-værdi større end eller lig med 6,3. Fortrinsvis har den væskeformige farmaceutiske sammensætning en pH-værdi mindre end eller lig med 6,7.

I en særlig udførelsesform, specielt hvor buffermidlet er et histidinbuffermiddel, har den væskeformige farmaceutiske sammensætning en pH-værdi mellem 6,0 og 6,6. I en særlig udførelsesform har den væskeformige farmaceutiske sammensætning en pH-værdi mellem 6,3 og 6,5. I en særlig udførelsesform har den væskeformige farmaceutiske sammensætning en pH-værdi omkring 6,4.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis

et buffersystem (fortrinsvis et histidinbuffersystem omfattende et histidinbuffermiddel) i en koncentration på fra cirka 2 til cirka 50 mM. I en udførelsesform forefindes buffersystemet /buffermidlerne i en koncentration på 10 mM. I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning histidin (og/eller et salt deraf) i en koncentration på 10 mM. Dette indbefatter passende hvor buffermidlet (f.eks. histidin) dannes ved tilsætning af en stærk base (f.eks. natriumhydroxyd) til den korresponderende syre til buffermidlet (f.eks. imidazoliumformen af histidin).

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis bufferelementet (fortrinsvis histidinbufferelementet – f.eks. histidin selv) i en koncentration på fra cirka 0,31 g/ml til cirka 7,8 mg/ml. I en udførelsesform er bufferelementet til stede i en koncentration på mellem 0,77 mg/ml og 2,2 mg/ml, fortrinsvis omkring 1,55 mg/ml. I en udførelsesform er buffersystemet/buffermidlet til stede i en koncentration på 1,55 mg/ml. Dette indbefatter hvor buffermidlet (f.eks. histidin) dannes ved tilsætning af en stærk base (f.eks. natriumhydroxyd) til den korresponderende syre til buffermidlet (f.eks. imidazoliumformen af histidin).

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis buffersystemet (fortrinsvis histidinbuffersystemet) i et molforhold mellem buffersystem og adalimumab på fra cirka 5:1 til cirka 145:1. I en udførelsesform er buffersystemet til stede i et molforhold mellem buffersystem og adalimumab på fra cirka 14:1 til cirka 40:1, mest foretrukket omkring 29:1 I en udførelsesform, er buffersystemet/buffermidlerne til stede i en koncentration på 29:1. Dette indbefatter hvor buffermidlerne (f.eks. histidin) dannes ved tilsætning af en stærk base (f.eks. natriumhydroxyd) til den korresponderende syre til buffermidlet (f.eks. imidazoliumformen af histidin – f.eks. histidinmonohydrochlorid).

Som illustreret i eksempelafsnittet, klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen indbefattende et histidinbuffermiddel/buffersystem sig særligt godt i belastningsprøver, navnlig med hensyn til fragmentering og proteinudfoldning, som kan være vigtige indikatorer på stabilitet og lægemiddelprodukt holdbarhed. Desuden klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger, hvis histidinbuffersystem opretholder en stabil pH-værdi på 6,4, sig særligt godt.

### Sukkerstabilisator

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis en stabilisator, mest foretrukket en sukkerstabilisator. En sådan bestanddel  
5 letter fortrinsvis opretholdelse af den strukturelle integritet af det biofarmaceutiske lægemiddel, navnlig under frysning og/eller frysetørring og/eller lagring (i særdeles under stresseksposering).

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning kan omfatte en eller flere sukkerstabilisatorer, endskønt kun en enkelt sukkerstabilisator er til  
10 stede i foretrukne udførelsesformer.

Fortrinsvis er sukkerstabilisatoren en sukkerpolyalkohol (herunder sukkeralkoholer) og/eller et disaccharid.

Sukkerstabilisatoren er fortrinsvis udvalgt fra gruppen indbefattende trehalose, mannitol, sukrose, sorbitol, maltose, laktose, xylitol, arabitol, eryt-  
15 hritol, laktitol, maltitol, inositol.

I en særlig udførelsesform er sukkerstabilisatoren udvalgt fra gruppen indbefattende trehalose, mannitol, sukrose, maltose, laktose, xylitol, arabitol, erythritol, laktitol, maltitol, inositol.

I en særlig udførelsesform er sukkerstabilisatoren et ikke-reducerende  
20 sukkerstof, eventuelt et ikke-reducerende sukkerstof anført hvor som helst heri.

I en særlig udførelsesform er sukkerstabilisatoren trehalose. Trehalose er en særlig fordelagtig sukkerstabilisator til anvendelse sammen med et histidinbuffermiddel/buffersystem i væskeformige adalimumabformuleringer.

Den væskeformige farmaceutiske formulering omfatter fortrinsvist  
25 højst én sukkerstabilisator, fortrinsvist højst én sukkerpolyol og/eller disaccharid. Fortrinsvis omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning trehalose som eneste sukkerstabilisator.

Fortrinsvis er trehalosen, der benyttes til dannelse af den væskeformige  
30 ge farmaceutiske sammensætning, trehalosedihydrat, selv om alle mængder, der er fastsat i forbindelse med trehalose, fortrinsvis (med mindre andet er anført – som i Eksemplerne) angår ren, vandfri trehalose. Sådanne mængder kan konverteres til en mængde trehalosedihydrat ved anvendelse af en passende multiplikator. Desuden kan en mængde trehalosedihydrat til vurdering  
35 af, hvorvidt en given formulering falder inden for nogle af trehalosemængde-

definitionerne givet heri, uden videre omsættes til en tilsvarende mængde ren, vandfri trehalose (med et tilsvarende molantal) ved at anvende multiplikatoren omvendt. Dette princip kan benyttes for enhver sukkerstabilisatorbestanddel. Koncentrationer, når de gives som en molær koncentration, vil  
5 selvfølgelig være de samme uafhængig af sukkerstabilisatorens hydratiseringsstilstand.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis sukkerstabilisatoren (mest foretrukket trehalose) i en koncentration på fra 50 til cirka 400 mM, mere foretrukket fra cirka 100 til cirka 300 mM, mere foretrukket fra cirka 150 til cirka 250 mM. I en udførelsesform er sukkerstabilisatoren til stede i en koncentration på mellem 190 og 210 mM, mest foretrukket cirka 200 mM. I en udførelsesform er trehalose til stede i en koncentration på 200 mM.  
10

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis sukkerstabilisatoren (mest foretrukket trehalose) i en koncentration på fra cirka 15 mg/ml til cirka 140 mg/ml, mere foretrukket fra cirka 5 mg/ml til cirka 100 mg/ml, mere foretrukket fra cirka 45 mg/l til 80 mg/l. I en udførelsesform er sukkerstabilisatoren til stede i en koncentration på mellem 65 mg/l og 72 mg/l, mest foretrukket cirka 68 mg/ml. I en særlig udførelsesform er trehalose til stede i en koncentration på cirka 68 mg/ml (hvilket svarer til cirka 75,7 mg/ml trehalosedihydrat).  
15  
20

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis sukkerstabilisatoren (mest foretrukket trehalose) i en molforhold mellem sukkerstabilisator og adalimumab på fra cirka 145:1 til cirka 1150:1, mere foretrukket fra cirka 290:1 til cirka 860:1, mere foretrukket fra cirka 430:1 til cirka 720:1. I en udførelsesform, er sukkerstabilisatoren til stede i et molforhold mellem sukkerstabilisator og adalimumab på fra cirka 550:1 til cirka 605:1, mest foretrukket omkring 576:1. I en udførelsesform er trehalose til stede i et molforhold mellem trehalose og adalimumab på cirka 576:1.  
25

Som vist i eksempelafsnittet klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen indbefattende en sukkerstabilisator som defineret heri sig særligt godt i belastningsprøvninger, navnlig med hensyn til ophobning, fragmentering og proteinudfoldning, som kan være vigtige indikationer på stabilitet og lægemiddelprodukt holdbarhed. Desuden klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger omfattende trehalose som sukker-  
30  
35

stabilisator sig særligt godt.

#### Fortyndingsmiddel

De væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen kan indbefatte et hvilket som helst eller flere farmaceutisk acceptable  
5 fortyndingsmidler eller en blanding deraf. Mest foretrukket er den væskeformige farmaceutiske sammensætning en vandig farmaceutisk sammensætning. Mest foretrukket er fortyndingsmidlet vand og fortrinsvis vand alene. Vandet er fortrinsvis vand til injektion (WFI).

Fortyndingsmidlet kan udgøre resten af bestanddelene i en givet væskeformig farmaceutisk sammensætning, for eksempel således, at vægtprocentdelene i alt andrager 100 %. Fortrinsvis repræsenterer enhver koncentration givet heri i forbindelse med enhver bestanddel af den væskeformige farmaceutiske sammensætning koncentrationen af bestanddelen i (og fortrinsvis opløst i) fortyndingsmidlet i blanding med en hvilken som helst anden  
15 bestanddel.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning ifølge frembringelsen er fortrinsvis en opløsning og er fortrinsvis (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for partikler eller udfældninger.

#### 20 Fraværende eller sparsomt tilstedeværende bestanddele

Ringe/ingen arginin.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) og omfatter arginin i en koncentration på højst 0,1 mM, mere foretrukket højst 0,01 mM,  
25 mest foretrukket højst 0,001 mM.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter arginin i et molforhold mellem arginin og buffermiddel (eller buffersystem) på højst 1:150 (dvs. mindre end eller svarende til et mol arginin for hver 150  
30 mol buffermiddel eller buffersystem), mere foretrukket højst 1:1500, mest foretrukket 1:15.000.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter arginin i et vægtforhold mellem arginin og adalimumab på højst 1:3000 (dvs.  
35 mindre end eller svarende til en del arginin efter vægt for hver 3000 dele

adalimumab efter vægt), mere foretrukket højst 1:30.000, mest foretrukket højst 1:300.000.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter  
5 arginin i et molforhold mellem arginin og adalimumab på højst 1: 3,75 (dvs. mindre end eller svarende til et mol arginin for hver 3,75 mol adalimumab), mere foretrukket højst 1:37,5, mest foretrukket højst 1:375.

Som forklaret heri, angår sådanne henvisninger til "arginin" i konteksten af deres tilstedeværelse eller ej i væskeformige farmaceutiske sammensætninger de tilsvarende frie aminosyrer og ikke aminosyrerester kovalent  
10 inkorporeret som del af en større forbindelse, såsom et peptid eller protein.

Som vist i eksempelafsnittet, klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen, som (i det væsentlige eller fuldstændigt) udelukker arginin, sig særlig godt i stresstest, navnlig med hensyn  
15 til ophobning, fragmentering og proteinudfoldning.

Få/ingen aminosyrer.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin (som fortrinsvis er buffermidlet) eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end  
20 histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM, mere foretrukket højst 0,01 mM, mest foretrukket 0,001 mM.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter  
25 en eller flere aminosyrer, der ikke er histidin, i et (samlet) molforhold mellem aminosyrer og buffermiddel (eller buffersystem) på højst 1:150 (dvs. mindre end eller svarende til et mol aminosyrer, der ikke er histidin, for hver 150 mol buffermiddel eller buffersystem), mere foretrukket højst 1:1500, mest foretrukket 1:15.000.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter  
30 en eller flere aminosyrer, der ikke er histidin, i et (samlet) vægtforhold mellem aminosyrer og adalimumab på højst 1:3000 (dvs. mindre end eller svarende til en del aminosyrer, der ikke er histidin, efter vægt for hver 3000 dele  
35 adalimumab efter vægt), mere foretrukket højst 1:30.000, mest foretrukket

højst 1:300.000.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere aminosyrer, der ikke er histidin, i et (samlet) molforhold mellem  
5 aminosyrer og adalimumab på højst 1: 3,75 (dvs. mindre end eller svarende til et mol aminosyrer, der ikke er histidin, for hver 3,75 mol adalimumab), mere foretrukket højst 1:37,5, mest foretrukket højst 1:375.

Som forklaret heri, angår sådanne henvisninger til "aminosyrer" i konteksten af deres tilstedeværelse eller ej i væskeformige farmaceutiske sammensætninger de tilsvarende frie aminosyrer og ikke aminosyrerester kovalent inkorporeret som del af en større forbindelse, såsom et peptid eller protein.  
10

Aminosyrerne, der henvises til i dette afsnit (og vurderet enten at være fraværende eller tilstedeværende i små mængder) kan passende være naturlige og/eller kunstige aminosyrer, selv om de fortrinsvis er naturlige aminosyrer. I særdeleshed er de væskeformige farmaceutiske sammensætninger enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for enhver aminosyre udvalgt fra gruppen indbefattende: arginin, lysin og asparaginsyre; eller omfatter en eller flere af de førnævnte aminosyrer i en mængde, koncentration, molforhold eller vægtforhold som i det foregående defineret med hensyn til aminosyrer, der ikke er histidin.  
15  
20

Som vist i eksempelafsnittet klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen, som (i det væsentlige eller fuldstændigt) udelukker aminosyrer, der ikke er histidin, sig særlig godt i stresstest, navnlig med hensyn til ophobning, fragmentering og proteinudfoldning.  
25

Sparsomme/ingen overfladeaktive stoffer.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer (det være sig kationiske, anioniske, amfotere eller non-ioniske) med den mulige undtagelse af polysorbat 80 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat) eller omfatter en eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer (eventuelt uden polysorbat 80) i en (samlet) koncentration på højst 1 mM, mere foretrukket højst 0,1 mM, mere foretrukket højst 0,01 mM, mere foretrukket højst 0,001 mM, mest foretrukket højst 0,00001 mM. Den væskeformige farmaceutiske sammensætning  
30  
35

kan under sådanne omstændigheder eventuelt omfatte polysorbitat 80 som defineret heri. I foretrukne udførelsesformer er den væskeformige farmaceutiske sammensætning (i det væsentlige eller fuldstændigt) imidlertid fri for polysorbitat 80 eller omfatter kun polysorbitat 80 i de begrænsede mængder/koncentrationer nævnt ovenfor, fortrinsvis fælles med hvilke som helst andre overfladeaktive stoffer.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer (det være sig kationiske, anioniske, amfotere eller non-ioniske) med den mulige undtagelse af polysorbitat 80 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat) eller omfatter en eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer (eventuelt uden polysorbitat 80) i et (samlet) molforhold mellem overfladeaktivt middel og buffermiddel (eller buffersystem) på højst 1:10, mere foretrukket højst 1:100, mere foretrukket højst 1:1000, mere foretrukket højst 1:10.000, mest foretrukket højst 1:100.000. Den væskeformige farmaceutiske sammensætning kan under sådanne omstændigheder eventuelt omfatte polysorbitat 80 som defineret heri. I foretrukne udførelsesformer er den væskeformige farmaceutiske sammensætning imidlertid (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for polysorbitat 80 eller omfatter kun polysorbitat 80 i de begrænsede mængder/koncentrationer nævnt ovenfor, fortrinsvis fælles med hvilke som helst andre overfladeaktive stoffer.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer (det være sig kationiske, anioniske, amfotere eller non-ioniske) med den mulige undtagelse af polysorbitat 80 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat) eller omfatter en eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer (eventuelt uden polysorbitat 80) i et (samlet) vægtforhold mellem overfladeaktivt stof og adalimumab på højst 1:50 (dvs. mindre end eller svarende til en del efter vægt af overfladeaktive stoffer for hver 50 dele efter vægt af adalimumab), mere foretrukket højst 1:500, mere foretrukket højst 1:5000, mere foretrukket højst 1:50.000, mest foretrukket højst 1:500.000. Den væskeformige farmaceutiske sammensætning kan under sådanne omstændigheder eventuelt omfatte polysorbitat 80 som defineret heri. I foretrukne udførelsesformer er den væskeformige farmaceutiske sammensætning imidlertid (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for polysorbitat 80 eller omfatter kun polysorbitat 80 i de begrænsede mæng-

der/koncentrationer nævnt ovenfor, fortrinsvis fælles med hvilke som helst andre overfladeaktive stoffer.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer (det være sig kationiske, anioniske, amfotere eller non-ioniske) med den mulige undtagelse af polysorbat 80 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat) eller omfatter en eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer (eventuelt uden polysorbat 80) i et (samlet) molforhold mellem overfladeaktive stoffer og adalimumab på højst 3:1, mere foretrukket højst 0,3:1, mere foretrukket højst 0,003:1, mere foretrukket højst 0,0003:1, mest foretrukket højst 0,00003:1. Den væskeformige farmaceutiske sammensætning kan under sådanne omstændigheder eventuelt omfatte polysorbat 80 som defineret heri. I foretrukne udførelsesformer er den væskeformige farmaceutiske sammensætning imidlertid (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for polysorbat 80 eller omfatter kun polysorbat 80 i de begrænsede mængder/koncentrationer nævnt ovenfor, fortrinsvis fælles med hvilke som helst andre overfladeaktive stoffer.

De overfladeaktive stoffer, der henvises til i dette afsnit (og vurderet enten at være fraværende eller tilstedeværende i små mængder) kan fortrinsvis være kationiske, anioniske, amfotere eller non-ioniske overfladeaktive stoffer. Fortrinsvis indbefatter de overfladeaktive stoffer, der henvises til i dette afsnit (og som vurderes enten at være fraværende eller tilstedeværende i små mængder) kationiske, anioniske og amfotere overfladeaktive stoffer, men non-ioniske overfladeaktive stoffer kan eventuelt være udelukkede (f.eks. polysorbater og spans) eller kan i det mindste eventuelt være uden polysorbat 80. Som sådan er den væskeformige farmaceutiske sammensætning enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for kationiske, anioniske eller amfotere overfladeaktive stoffer eller omfatter en eller flere af de overfladeaktive stoffer i en mængde, koncentration, molforhold eller vægtforhold på højst det, der er fastsat i et hvilket som helst foregående afsnit af dette underkapitel med hensyn til overfladeaktive stoffer mere generelt.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for non-ioniske overfladeaktive stoffer med eventuel undtagelse af polysorbat 80 eller omfatter et eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer i en mængde, koncentration, molforhold, eller vægtforhold på højst det, der er fastsat i et hvilken som helst af de foregående

afsnit i dette underkapitel med hensyn til overfladeaktive stoffer mere generelt.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer i form af polysorbat med eventuel undtagelse af polysorbat 80 eller omfatter et eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer i en mængde, koncentration, molforhold, eller vægtforhold på højst det, der er fastsat i et hvilken som helst af de foregående afsnit i dette underkapitel med hensyn til overfladeaktive stoffer mere generelt. Den flydende farmaceutiske sammensætning kan under sådanne omstændigheder eventuelt omfatte polysorbat 80 som defineret heri. I foretrukne udførelsesformer er den væskeformige farmaceutiske sammensætning imidlertid (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for polysorbat 80 eller omfatter polysorbat 80 i kun de begrænsede mængder/koncentrationer nævnt ovenfor, fortrinsvis fælles med eventuelle andre overfladeaktive stoffer.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer i form af polysorbat 20 (også kendt som Tween 20 -polyoxyethylen(20)sorbitanmonolaurat) eller omfatter et eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer i en mængde, koncentration, molforhold, eller vægtforhold på højst det, der er fastsat i et hvilken som helst af de foregående afsnit i dette underkapitel med hensyn til overfladeaktive stoffer mere generelt.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er fortrinsvis enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer i form af polysorbat 80 eller omfatter de nævnte overfladeaktive stoffer i en mængde, koncentration, molforhold, eller vægtforhold som defineret ovenfor med hensyn til overfladeaktive stoffer. Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer i form af polysorbat 80 eller omfatter et eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer i en mængde, koncentration, molforhold, eller vægtforhold på højst det, der er fastsat i et hvilken som helst af de foregående afsnit i dette underkapitel med hensyn til overfladeaktive stoffer mere generelt.

Som vist i eksempeldelen klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen, som (i det væsentlige eller fuldstændigt) udelukker overfladeaktive stoffer eller visse overfladeaktive stoffer som defineret ovenfor, sig særlig godt i stresstest, navnlig med hensyn til ophob-

ning, fragmentering og proteinudfoldning.

Sparsom/ingen fosfat.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er fortrinsvis enten  
5 (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler (f.eks. natrium-dihydrogenphosphat, dinatriumhydrogenphosphat) eller omfatter et fosfatbuffersystem i en koncentration på højst 0,1 mM, mere foretrukket højst 0,01 mM, mest foretrukket højst 0,001 mM.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er fortrinsvis enten  
10 (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler (f.eks. natrium-dihydrogenphosphat, dinatriumhydrogenphosphat) eller omfatter et fosfatbuffersystem i et molforhold mellem fosfatbuffersystem og ethvert tilstedeværende ikke-phosphatbuffersystem på højst 1:150 (dvs. mindre end eller svarende til en mol fosfatbuffersystem for hver 150 mol til-  
15 stede-værende ikke-phosphatbuffersystem), mere foretrukket højst 1:1500, mest foretrukket højst 1:15.000.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning er fortrinsvis enten  
(i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler eller omfat-  
ter et fosfatbuffersystem i et molforhold mellem fosfatbuffersystem og  
20 adalimumab på højst 1:3,75 (dvs. mindre end eller svarende til en mol fosfatbuffersystem for hver 3,75 mol adalimumab), mere foretrukket højst 1:37.5, mest foretrukket højst 1:375.

Henvisninger til "fosfatbuffermidler" i konteksten af deres tilstede-  
værelse eller ej i væskeformige farmaceutiske sammensætninger angår et  
25 hvilket som helst phosphatsalt i en hvilken som helst protoneringstilstand, herunder fosfat, monohydrogenphosphat og dihydrogenphosphat. Dog er fortrinsvis udelukket enhver fosfatgruppe eller -rest, som er kovalent in-  
korporeret som del af en større forbindelse, såsom et phosphoryleret eller glykosyleret peptid eller protein.

30 Som vist i eksempeldelen klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen, som (i det væsentlige eller fuldstændigt) udelukker fosfatbuffermidler, sig særlig godt i stresstest, navnlig med hensyn til ophobning, fragmentering og proteinudfoldning.

35 Eventuelle yderligere bestanddele

Toniseringsmiddel.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning ifølge frembringelsen omfatter fortrinsvis en "tonicitetsmodifikator" (eller "toniseringsmiddel") eller et eller flere toniseringsmidler, fortrinsvis som defineret heri.

5 Medtagningen af et toniseringsmiddel bidrager til (eller forøger) på passende vis sammensætningens samlede osmolalitet og osmolaritet. Et toniseringsmiddel er fortrinsvis til stede i sammensætningen i en mængde eller koncentration, der er tilstrækkelig til at sammensætningen er (i det væsentlige) isotonisk med kropsvæsker. Et toniseringsmiddel er fortrinsvis til stede i  
10 sammensætningen i en mængde eller koncentration, der er tilstrækkelig til at sammensætningen har en osmolaritet eller osmolalitet i et interval defineret heri.

Et hvilket som helst egnet toniseringsmiddel kan anvendes. Toniseringsmidlet er dog fortrinsvis udvalgt fra gruppen indbefattende vandopløselige  
15 ge metalsalte (f.eks. natriumchlorid, kaliumchlorid, magnesiumchlorid, calciumchlorid), vandopløselige toniserende sukkerstoffer/sukkeralkoholer (f.eks. glukose, sukrose, mannitol) og/eller andre vandopløselige polyalkoholer. Toniseringsmidlet er fortrinsvis ikke-pufrende (dvs. giver anledning til ringe eller ingen buffervirkning). Som sådan er alle metalsalttoniseringsmidler egnede  
20 de ikke-pufrende midler.

De væskeformige farmaceutiske sammensætning kan omfatte en eller flere toniseringsmidler, hvorvel fortrinsvis kun et enkelt toniseringsmiddel er til stede (uagtet eventuelle toniseringsvirkninger, der bibringes sammensætningen af bestanddele tiltænkt en anden funktion som defineret heri).

25 Mest foretrukket er eller omfatter toniseringsmidlet et metalsalt (fortrinsvis et ikke-pufrende vandopløseligt metalsalt). Fortrinsvis er eller omfatter metalsaltet et metalhalid, fortrinsvis et alkali- eller alkalijordmetalhalid, fortrinsvis et alkalimetallchlorid.

I en særlig udførelsesform er eller omfatter toniseringsmidlet natriumchlorid. I en særlig udførelsesform er toniseringsmidlet natriumchlorid. Natriumchlorid er en særlig fordelagtig stabilisator til brug sammen med et histidinbuffermiddel/buffersystem i væskeformige adalimumabformuleringer.

Fortrinsvis omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning toniseringsmidlerne (mest foretrukket natriumchlorid) i en koncentration på  
35 fra cirka 10 til cirka 200 mM, mere foretrukket fra cirka 20 til cirka 100 mM,

mere foretrukket fra cirka 25 til cirka 75 mM. I en udførelsesform er toniseringsmidlerne til stede i en koncentration på mellem 40 og 60 mM, mest foretrukket cirka 50 mM. I en udførelsesform er natriumchlorid til stede i en koncentration på 50 mM.

5 Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis toniseringsmidlerne (mest foretrukket natriumchlorid) i en koncentration på fra cirka 0,5 mg/l til cirka 12 mg/ml, mere foretrukket fra cirka 1,5 mg/ml til cirka 4,4 mg/ml. I en udførelsesform er toniseringsmidlerne til stede i en koncentration på mellem 2,7 mg/ml og 3,1 mg/ml, mest foretrukket cirka 2,9  
10 mg/ml. I en særlig udførelsesform, er natriumchlorid til stede i en koncentration på cirka 2,9 mg/ml.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis toniseringsmidlerne (mest foretrukket natriumchlorid) i et molforhold mellem toniseringsmiddel og adalimumab på fra cirka 30:1 til cirka 580:1, fortrinsvis  
15 fra cirka 60:1 til cirka 290:1, mere foretrukket fra cirka 70:1 til cirka 220:1. I en udførelsesform er toniseringsmidlerne til stede i et molforhold mellem toniseringsmiddel og adalimumab på fra cirka 115:1 til cirka 175:1, fortrinsvis cirka 145:1. I en udførelsesform er natriumchlorid til stede i et molforhold mellem natriumchlorid og adalimumab på cirka 145:1.

20 Som vist i eksempeldelen klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen, som (i det væsentlige eller fuldstændigt) udelukker fosfatbuffermidler, sig særlig godt i stresstest, navnlig med hensyn til ophobning, fragmentering og proteinudfoldning.

Som vist i eksempeldelen klarer væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen indbefattende et toniseringsmiddel som  
25 defineret heri sig særlig godt i stresstest, navnlig med hensyn til ophobning, fragmentering og proteinudfoldning, som kan være vigtige indikatorer for stabilitet og lægemiddelprodukt holdbarhed. Ydermere klarer farmaceutiske sammensætninger indeholdende natriumchlorid, særligt i et mængdeinterval  
30 som angivet, sig særligt godt.

Overfladeaktivt middel.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning ifølge frembringelsen kan omfatte et overfladeaktivt middel eller en eller flere overfladeaktive  
35 midler, fortrinsvis som defineret heri.

Ethvert egnet overfladeaktivt middel kan anvendes. Det overfladeaktive middel er imidlertid fortrinsvis et non-ionisk overfladeaktivt middel, mest foretrukket et overfladeaktivt middel i form af polysorbat (polyoxyethylenglykolsorbitanalkylestre) eller span (sorbitanalkylestre).

- 5           Selv om et eller flere overfladeaktive midler kan være indbefattet i den væskeformige farmaceutiske sammensætning ifølge frembringelsen, er der fortrinsvis kun et enkelt overfladeaktivt middel til stede, mest foretrukket et enkelt non-ionisk overfladeaktivt middel (fortrinsvis som defineret heri).

De overfladeaktive stoffer er fortrinsvis udvalgt blandt Polysorbat 20  
10 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonolaurat), Polysorbat 40 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonopalmitat), Polysorbat 60 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonostearat), Polysorbat 80 (polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat), sorbitanmonolaurat, sorbitanmonopalmitat, sorbitanmonostearat, sorbitantristearat og/eller sorbitanmonooleat.

- 15           I en særlig udførelsesform er de overfladeaktive stoffer udvalgt blandt Polysorbat 20, Polysorbat 40, Polysorbat 60 og/eller Polysorbat 80. I en særlig udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning et enkelt overfladeaktivt middel udvalgt blandt Polysorbat 20, Polysorbat 40, Polysorbat 60 og Polysorbat 80.

- 20           I en særlig udførelsesform er det overfladeaktive middel polysorbat 80 eller polysorbat 20. I en særlig udførelsesform er det overfladeaktive middel polysorbat 80.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis de overfladeaktive midler (mest foretrukket polysorbat 80) i en koncentration  
25 på fra cirka 0,0001 til cirka 5 mM (dvs. 0,1 µM-5 mM), mere foretrukket fra cirka 0,001 til cirka 2 mM, mere foretrukket fra cirka 0,01 til cirka 1,0 mM. I en udførelsesform er det overfladeaktive middel til stede i en koncentration på mellem 0,72 og 0,80 mM, mest foretrukket cirka 0,76 mM. I en udførelsesform er polysorbat 80 til stede i en koncentration på 0,76 mM.

- 30           Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis de overfladeaktive midler (mest foretrukket polysorbat 80) i en koncentration på fra cirka 0,001 mg/ml til cirka 5 mg/ml, mere foretrukket fra cirka 0,01 mg/l til cirka 2 mg/ml, mere foretrukket fra cirka 0,05 mg/ml til cirka 1,5 mg/ml. I en udførelsesform er det overfladeaktive middel til stede i en kon-  
35 centration på mellem 0,9 mg/ml og 1,1 mg/ml, mest foretrukket cirka 1,0

mg/ml. I en udførelsesform er polysorbat 80 til stede i en koncentration på cirka 1,0 mg/ml.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætning omfatter fortrinsvis de overfladeaktive midler (mest foretrukket polysorbat 80) i et molforhold  
5 mellem overfladeaktive stoffer og adalimumab på fra cirka 1:3500 til cirka 15:1, mere foretrukket fra cirka 1:350 til cirka 6:1, mere foretrukket fra cirka 1:35 til cirka 3:1. I en udførelsesform er det overfladeaktive middel til stede i et molforhold mellem overfladeaktive midler og adalimumab på fra cirka 2,1:1 til cirka 2,3:1, mest foretrukket cirka 2,2:1. I en udførelsesform er po-  
10 lysorbat 80 til stede i molforhold mellem polysorbat 80 og adalimumab på cirka 2,2:1.

I foretrukne udførelsesformer er den væskeformige farmaceutiske sammensætning imidlertid (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for polysorbat 80 og fortrinsvis (i det væsentlig eller fuldstændigt) fri for nogle over-  
15 fladeaktive stoffer overhovedet.

#### Andre parametre vedrørende frembringelsen

Osmolalitet.

Den væskeformige farmaceutiske sammensætnings osmolalitet er for-  
20 trinsvis mellem 200 og 400 mOsm/kg, mere foretrukket mellem 220 og 390 mOsm/kg, mere foretrukket mellem 230 og 350 mOsm/kg, mere foretrukket mellem 240 og 340 mOsm/kg, mere foretrukket mellem 260 og 320 mOsm/kg, mest foretrukket mellem 280 og 310 mOsm/kg. De relative mængder og koncentrationer af de forskellige bestanddele af sammensæt-  
25 ningen kan justeres efter skønsom vurdering for at opnå den ønskede osmolalitet, og de særlige nye kombinationer af bestanddele tillader at opnå dette i vidt omfang uden at kompromittere andre vigtige parametre. De relative mængder og koncentrationer af de forskellige bestanddele af sammen-  
30 sætning kan dog fortrinsvis vælges til optimering af andre parametre – nærværende beskrivelse, inklusiv eksemplerne og protokollerne gengivet deri, tillader fagmanden at opfylde dette formål og at virkeliggøre en, nogle eller alle gunstige virkninger ved nærværende frembringelse.

Proteinudfoldningstemperatur.

Proteinudfoldningstemperaturen (passende målt vis DSF-protokollerne  
35 defineret heri) for adalimumab i den væskeformige farmaceutiske sammen-

sætning af frembringelsen er større end eller lig med 65 °C, fortrinsvis større end eller lig med 70 °C. Den nye kombination af bestanddele, som er til stede i sammensætningen ifølge frembringelsen tillader fagmanden at opnå høje udfoldningstemperaturer, hvilket kan betragtes som ønskeligt fra et varme-  
5 stabilitetsperspektiv.

Parametre under udsættelse for varmestress.

Mængden (eller koncentrationen) af aggregater (fortrinsvis afledt fra adalimumab og fortrinsvis som bestemt ved SE-HPLC-protokollerne defineret heri) til stede i den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger for-  
10 trinsvis med højst en faktor 4 (dvs. 4 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen varmebelastes til 40 °C (dvs. sammensætningen holdes ved en temperatur på 40 °C) over en periode på 28 dage, fortrinsvis med en faktor på højst 3, fortrinsvis højst 2,5, fortrinsvis højst 2,2.

15 Mængden (eller koncentrationen) af fragmenter (fortrinsvis afledt fra adalimumab og fortrinsvis målt ved bioanalytisk protokol defineret heri) til stede i den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 4 (dvs. 4 gange mængden i forhold til et arbitrært be-  
gyndelsestidspunkt), når sammensætningen varmebelastes til 40 °C (dvs. sammensætningen holdes ved en temperatur på 40 °C) over en periode på  
20 28 dage, fortrinsvis med en faktor på højst 3, fortrinsvis højst 2,5, fortrinsvis højst 2,2.

Turbiditeten (fortrinsvis målt ved nefelometri i overensstemmelse med protokollerne gengivet heri) af den væskeformige farmaceutiske sammen-  
25 sætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 2 (dvs. 2 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen varme-  
belastes ved 40 ° (dvs. sammensætningen holdes ved en temperatur på 40 °C) over en periode på 28 dage, fortrinsvis med en faktor på højst 1,5, for-  
trinsvis med en faktor på højst 1,3, og fortrinsvis stiger turbiditeten slet ikke.

30 pH-værdien for den væskeformige farmaceutiske sammensætning ændrer sig (enten ved stigning eller fald, dog normalt ved et fald i pH-værdien) fortrinsvis med højst 0,5 pH-enheder, når sammensætningen varmebelastes ved 40 °C (dvs. sammensætningen holdes ved en temperatur på 40 °C) over en periode på 28 dage, fortrinsvis med højst 0,2 pH-enheder, fortrinsvis med  
35 højst 0,1 pH-enheder, mest foretrukket ændrer pH-værdien sig slet ikke

(med en decimals nøjagtighed).

Parametre under udsættelse for mekanisk belastning.

Mængden (eller koncentrationen) af aggregater (fortrinsvis afledt fra  
5 adalimumab og fortrinsvis som bestemt ved SE-HPLC-protokollerne defineret  
heri) til stede i den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger for-  
trinsvis med højst en faktor 2 (dvs. 2 gange mængden i forhold til et arbit-  
rært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen belastes mekanisk (dvs.  
rystes ifølge protokollerne givet heri) over en periode på 48 time, fortrinsvis  
10 med højst en faktor 1,5, fortrinsvis højst en faktor 1,2, fortrinsvis højst en  
faktor 1,1.

Mængden (eller koncentrationen) af fragmenter (fortrinsvis afledt fra  
adalimumab og fortrinsvis målt ved bioanalytatorprotokollerne defineret heri)  
til stede i den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger fortrinsvis  
15 med højst en faktor 2 (dvs. 2 gange mængden i forhold til et arbitrært be-  
gyndelsestidspunkt), når sammensætningen belastes mekanisk (dvs. rystes  
ifølge protokollerne givet heri) over en periode på 48 time, fortrinsvis med  
højst en faktor 1,5, fortrinsvis højst en faktor 1,2, fortrinsvis højst en faktor  
1,1.

20 Turbiditeten (fortrinsvis målt ved nefelometri i overensstemmelse med  
protokollerne gengivet heri) af den væskeformige farmaceutiske sammen-  
sætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 2 (dvs. 2 gange mængden i  
forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen bela-  
stes mekanisk (dvs. rystes ifølge protokollerne givet heri) over en periode på  
25 48 timer, fortrinsvis med højst en faktor 1,5, fortrinsvis højst en faktor 1,2,  
fortrinsvis højst en faktor 1,1, og fortrinsvis stiger turbiditeten slet ikke.

pH-værdien for den væskeformige farmaceutiske sammensætning æn-  
drer sig (enten ved stigning eller fald, dog normalt ved et fald i pH-værdien)  
fortrinsvis med højst 0,5 pH-enheder, når sammensætningen belastes meka-  
30 nisk (dvs. rystes ifølge protokollerne givet heri) over en periode på 48 timer,  
fortrinsvis med højst 0,2 pH-enheder, fortrinsvis med højst 0,1 pH-enheder,  
mest foretrukket ændrer pH-værdien sig slet ikke (med en decimals nøjag-  
tighed).

Parametre under udsættelse for lysbelastning.

35 Mængden (eller koncentrationen) af aggregater (fortrinsvis afledt fra

adalimumab og fortrinsvis som bestemt ved SE-HPLC-protokollerne defineret heri) til stede i den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 50 (dvs. 50 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen lysbelastes (dvs. sammensætningen udsættes for lys i overensstemmelse med protokollerne beskrevet heri, dvs. 7 timer ved  $765 \text{ W/m}^2$ ), fortrinsvis med højst en faktor 45, fortrinsvis med højst en faktor 35, fortrinsvis med højst en faktor 30.

Mængden (eller koncentrationen) af fragmenter (fortrinsvis afledt fra adalimumab og fortrinsvis målt ved bioanalytisk protokol defineret heri) til stede i den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 4 (dvs. 4 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen lysbelastes (dvs. sammensætningen udsættes for lys i overensstemmelse med protokollerne beskrevet heri, dvs. 7 timer ved  $765 \text{ W/m}^2$ ), fortrinsvis med højst en faktor 3, fortrinsvist med højst en faktor 2,5, fortrinsvist med højst en faktor 2.

Turbiditeten (fortrinsvis målt ved nefelometri i overensstemmelse med protokollerne gengivet heri) af den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 2 (dvs. 2 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen lysbelastes (dvs. sammensætningen udsættes for lys i overensstemmelse med protokollerne beskrevet heri, dvs. 7 timer ved  $765 \text{ W/m}^2$ ), fortrinsvis med højst en faktor 1,5, fortrinsvis med højst en faktor 1,2 og fortrinsvis stiger turbiditeten slet ikke.

pH-værdien for den væskeformige farmaceutiske sammensætning ændrer sig (enten ved stigning eller fald, dog normalt ved et fald i pH-værdien) fortrinsvis med højst 0,5 pH-enheder, når sammensætningen lysbelastes (dvs. sammensætningen udsættes for lys i overensstemmelse med protokollerne beskrevet heri, dvs. 7 timer ved  $765 \text{ W/m}^2$ ), fortrinsvis med højst 0,2 pH-enheder, fortrinsvis med højst 0,1 pH-enheder, mest foretrukket ændrer pH-værdien sig slet ikke (med en decimal nøjagtighed).

Parametre under udsættelse for fryse/tø-cykler.

Mængden (eller koncentrationen) af aggregater (fortrinsvis afledt fra adalimumab og fortrinsvis som bestemt ved SE-HPLC-protokollerne defineret heri) til stede i den væskeformige farmaceutiske sammensætning stiger for-

trinsvis med højst en faktor 1,5 (dvs. 1,5 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen udsættes for fem fryse/tø-cykler (dvs. sammensætningen fryses og tøs fem gange i overensstemmelse med protokoller fremlagt heri, dvs. -80 °C til 20 °C fem gange),  
5 fortrinsvis med højst en faktor 1,2, fortrinsvis med højst en faktor 1,1, fortrinsvis er der (i det væsentlige) ingen stigning overhovedet i mængden (eller koncentrationen) af aggregater.

Mængden (eller koncentrationen) af ikke-synlige partikler eller udfældninger med en partikelstørrelse under eller lig med 25 mikrometer til stede i  
10 den væskeformige sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 4 (dvs. 4 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen underkastes fem fryse/tø-cykler (dvs. sammensætningen fryses og tøs fem gange i overensstemmelse med protokoller beskrevet heri, dvs. -80 °C til 20 °C fem gange), fortrinsvis med højst en faktor 3, fortrinsvist med højst en faktor 2,5, fortrinsvist med højst en faktor 2,2.

Mængden (eller koncentrationen) af ikke-synlige partikler eller udfældninger med en partikelstørrelse under eller lig med 10 mikrometer til stede i  
20 den væskeformige sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 4 (dvs. 4 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen underkastes fem fryse/tø-cykler (dvs. sammensætningen fryses og tøs fem gange i overensstemmelse med protokoller beskrevet heri, dvs. -80 °C til 20 °C fem gange), fortrinsvis med højst en faktor 3, fortrinsvist med højst en faktor 2,5, fortrinsvist med højst en faktor 2,2.

Mængden (eller koncentrationen) af ikke-synlige partikler eller udfældninger med en partikelstørrelse under eller lig med 25 mikrometer til stede i  
25 den væskeformige sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 4 (dvs. 4 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når sammensætningen underkastes 5 fryse/tø-cykler, fortrinsvis med højst en faktor 3, fortrinsvist med højst en faktor 2,5, fortrinsvist med højst en faktor  
30 2,2.

Mængden (eller koncentrationen) af ikke-synlige partikler eller udfældninger med en partikelstørrelse under eller lig med 10 mikrometer til stede i  
den væskeformige sammensætning stiger fortrinsvis med højst en faktor 4 (dvs. 4 gange mængden i forhold til et arbitrært begyndelsestidspunkt), når  
35 sammensætningen underkastes 5 fryse/tø-cykler, fortrinsvis med højst en

faktor 3, fortrinsvist med højst en faktor 2,5, fortrinsvist med højst en faktor 2,2.

*Fremgangsmåder til stabilisering af antistof.*

5 I lyset af de førnævnte punkter i dette underafsnit og data gengivet i eksemplerne tilvejebringer frembringelsen også en fremgangsmåde til stabilisering af væskeformige adalimumabsammensætninger (kemisk og/eller fysisk, eventuelt med hensyn til en eller flere af førnævnte parametre/egenskaber), omfattende at blande adalimumab med en hvilket som helst  
10 relevant bestanddel, der er fornøden til dannelse af en væskeformig sammensætning som defineret heri. Forskellige udførelsesformer vil fortrinvis kræve blanding af forskellige kombinationer af bestanddele, potentielt i forskellige mængder, og fagmanden kan uden videre udlede sådanne kombinationer og mængder ved at henholde sig til den foregående beskrivelse vedrørende den væskeformige farmaceutiske sammensætning. Sådanne forskellige  
15 kombinationer af bestanddele kan stabilisere væskeformige adalimumabsammensætninger i forskellige henseender. For eksempel kan blanding af adalimumab med de førnævnte bestanddele til dannelse af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri stabilisere adalimumab ved:

- 20 i) at øge adalimumabs proteinudfoldningstemperatur;  
ii) at hæmme dannelsen af aggregater;  
iii) at hæmme dannelsen af fragmenter  
iv) at hæmme dannelsen af ikke-synlige partikler (enten  $\leq 25$  mikrometer eller  $\leq 10$  mikrometer);  
25 v) at hæmme turbidificering;  
vi) at hæmme pH-ændringer;  
vii) at hæmme fotooxidation, og/eller  
viii) at mindske ustabilitet efter fryse/tø-cykler.

Frembringelsen tilvejebringer som sådan en fremgangsmåde til at opnå en, nogle eller alle følgende gunstige fordele:

- 30 i) forøgede proteinudfoldningstemperaturer for adalimumab;  
ii) hæmning af aggregatdannelse;  
iii) hæmning af fragmentdannelse;  
iv) hæmning af dannelse af ikke-synlige partikler (enten  $\leq 25$  mikrometer eller  $\leq 10$  mikrometer);  
35

- v) hæmning af turbidificering;
- vi) hæmning af pH-ændringer;
- vii) hæmning af fotooxidation; og/eller
- viii) mindsket ustabilitet efter fryse/tø-cykler;

5 hvor fremgangsmåden omfatter at fremstille en væskeformig farmaceutisk sammensætning af adalimumab som defineret heri.

De væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen har fortrinsvis en lagerholdbarhed på mindst 6 måneder, fortrinsvis mindst 12 måneder, fortrinsvis mindst 18 måneder, mere foretrukket mindst  
10 24 måneder. De væskeformige farmaceutiske sammensætninger ifølge frembringelsen har fortrinsvis en lagerholdbarhed på mindst 6 måneder, fortrinsvis mindst 12 måneder, fortrinsvis mindst 18 måneder, mere foretrukket mindst 24 måneder, ved en temperatur på 2-8 °C.

15 *At sætte fagmanden i stand til at optimere væsentlige stabilitetsegenskaber.*

Den nye kombination af bestanddele, der fremlægges til anvendelse i væskeformige farmaceutiske sammensætninger af frembringelsen sætter fagmanden i stand til at danne (og efter skønsom vurdering finjustere) sammensætninger, som udviser sammenlignelige eller forbedrede egenskaber i  
20 forhold til den kendte tekniks sammensætninger. I særdeleshed, stiller nærværende beskrivelse nu alle nødvendige værktøjer til optimering af formuleringens stabilitet til rådighed for fagmanden, navnlig med henblik på optimering af en eller flere blandt: aggregationshæmning, fragmentering, proteinudfoldning, udfældning, pH-glidning og oxidation (navnlig fotooxidation). Derfor  
25 ved vejledes fagmanden til opnåelse af sådanne optimeringer (gennem ved skønsom vurdering at variere sammensætningerne) og til minimering af skadelige bivirkninger undervejs. Nærværende beskrivelse sætter fagmanden i stand til at udøve frembringelsen over hele dens beskyttelsesomfang til  
30 dannelse af allehånde specifikke sammensætninger, som udviser sammenlignelige eller forbedrede egenskaber i forhold til den kendte tekniks sammensætninger, og dette kan opnås under anvendelse af færre bestanddele.

#### Særlige udførelsesformer

35 I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sam-

mensætning:

- adalimumab;
- et histidinbuffermiddel (f.eks. histidin) (eller histidinbuffersystem);
- en sukkerstabilisator (f.eks. trehalose); og
- 5 - et overfladeaktivt stof (f.eks. polysorbat 80).

I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning:

- adalimumab;
- et histidinbuffermiddel (f.eks. histidin) (eller histidinbuffersystem);
- 10 - en sukkerstabilisator (f.eks. trehalose);
- et toniseringsmiddel (f.eks. natriumchlorid); og
- eventuelt et overfladeaktivt stof (f.eks. polysorbat 80).

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og en sukkerstabilisator i  
 15 et molforhold på 1 : 14-40 : 288-865, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), sukkerstabilisator og et toniseringsmiddel i et molforhold på 1 : 14-40 : 288-865 : 28-576, henholdsvis.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og en sukkerstabilisator i  
 20 et molforhold på 1 : 14-40 : 548-605, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), sukkerstabilisator og et toniseringsmiddel i et molforhold på 1 : 14-40 : 548-605 : 115-173, henholdsvis.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og trehalose i et molforhold på 1 : 5,7-145 : 288-865, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), trehalose og natriumchlorid i et molforhold på 1 : 5,7-145 : 288-  
 30 865 : 28-576, henholdsvis.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og trehalose i et molforhold på 1 : 14-40 : 548-605, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), trehalose og natriumchlorid i et molforhold på 1 : 14-40 : 548-  
 35 fersystem), trehalose og natriumchlorid i et molforhold på 1 : 14-40 : 548-

605 : 115-173, henholdsvis.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og trehalose i et molforhold på 1 : 28,8 : 576, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), trehalose og natriumchlorid i et molforhold på 1 : 28,8 : 576 : 144, henholdsvis.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og trehalose i et molforhold på 25-75 : 0,31-7,8 : 15-140, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), trehalose og natriumchlorid i et molforhold på 1 : 25-75 : 0,31-7,8 : 15-140 : 0,5-12, henholdsvis.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og trehalose i et molforhold på 45-55 : 0,77-2,2 : 65-72, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), trehalose og natriumchlorid i et molforhold på 45-55 : 0,77-2,2 : 65-72 : 2,7-3,1, henholdsvis.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem) og trehalose i et molforhold på 50 : 1,55 : 68, henholdsvis. I en udførelsesform omfatter den væskeformige sammensætning adalimumab, histidinbuffermiddel (eller buffersystem), trehalose og natriumchlorid i et molforhold på 50 : 1,55 : 68 : 2,9, henholdsvis.

Enhver af de førnævnte udførelsesformer med hensyn til mol- og/eller vægtforhold af de forskellige bestanddele kan yderligere defineres ved henvisning til det (væsentlige eller fuldstændige) fravær af små mængder bestanddele såsom arginin, andre aminosyrer end histidin, overfladeaktive stoffer (eventuelt med undtagelse af polysorbit 80) og/eller fosfatbuffermidler/systemer som defineret hvor som helst heri.

Fagmanden vil forstå, at buffermidlet (f.eks. histidin) eller buffersystemet (f.eks. histidin/imidazolium-histidin) ifølge en hvilken som helst af de førnævnte udførelsesformer kan være direkte inkorporeret i sammensætningerne eller kan dannes *in situ*, for eksempel ved en syre-base-reaktion, for-

trinsvis ved at omsætte en korresponderende syre til buffermidlet (f.eks. imidazoliumformen af histidin, det være sig et foruddannet salt såsom histidinhydrochlorid eller imidazoliumformen dannet ved opløsning af fri histidin) med en base (f.eks. natriumhydroxid). Uanset hvilken fremgangsmåde, der benyttes til at tilvejebringe eller producere buffermidlet eller buffersystemet, har den resulterende sammensætning i sidste ende en passende balance mellem buffermidlet og en hvilket som helst korresponderende syre/base til opnåelse af den ønskede pH-værdi.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning følgende:

- adalimumab;
- et histidinbuffermiddel (f.eks. histidin) (eller histidinbuffersystem);
- en sukkerstabilisator (f.eks. trehalose)
- et toniseringsmiddel (f.eks. natriumchlorid);
- eventuelt et overfladeaktivt stof (f.eks. polysorbat 80); og
- vand (af injektionsrenhedsgrad);

hvor sammensætningen:

- er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter arginin i en koncentration på højst 0,1 mM;
- er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM;
- er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer med eventuel undtagelse af polysorbat 80 eller omfatter en eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer (eventuelt eksklusiv polysorbat 80) i en (samlet) koncentration på højst 1 mM; og/eller
- er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler (f.eks. natriumdihydrogenphosphat, dinatriumhydrogenphosphat) eller omfatter et fosfatbuffersystem i en koncentration på højst 0,1 mM.

I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning følgende:

- Adalimumab (fortrinsvis i en koncentration som defineret heri);

- 5 til 14 mM histidinbuffermiddel (f.eks. histidin) (eller histidinbuffer-system);
- 100 til cirka 300 mM sukkerstabilisator (f.eks. trehalose);
- 10 til cirka 200 mM toniseringsmiddel (f.eks. natriumchlorid); og

5

hvor sammensætningen:

- o har en pH-værdi på mellem 6,3 og 6,7 (f.eks. 6,4);
- o er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter arginin i en koncentration på højst 0,1 mM;
- o er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM;
- o er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer med eventuel undtagelse af polysorbat 80 eller omfatter en eller flere af nævnte overfladeaktive stoffer (eventuelt eksklusiv polysorbat 80) i en (samlet) koncentration på højst 1 mM; og/eller
- o er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler (f.eks. natriumdihydrogenphosphat, dinatriumhydrogenphosphat) eller omfatter et fosfatbuffersystem i en koncentration på højst 0,1 mM.

10

15

20

I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning følgende:

- 25 til cirka 75 mg/ml adalimumab;
- 2 til cirka 50 mM histidin (eller histidinbuffer-system);
- 100 til cirka 300 mM trehalose;
- 10 til cirka 200 mM natriumchlorid; og
- vand (af injektionsrenhedsgrad);

30

hvor sammensætningen:

- o har en pH-værdi på mellem 6,3 og 6,5;
- o er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter arginin i en koncentration på højst 0,1 mM;
- o er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosy-

35

- rer end histidin eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM;
- er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer eller omfatter en eller flere overfladeaktive stoffer i en (samlet) koncentration på højst 1 mM; og/eller
  - er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler (f.eks. natriumdihydrogenphosphat, dinatriumhydrogenphosphat) eller omfatter et fosfatbuffersystem i en koncentration på højst 0,1 mM.
- 10 I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning følgende:
- 45 til cirka 55 mg/ml adalimumab;
  - 5 til 14 mM histidin (eller histidinbuffersystem);
  - 190 til 210 mM trehalose;
- 15
- 40 til 60 mM natriumchlorid; og
  - vand (af injektionsrenhedsgrad);
- hvor sammensætningen:
- har en pH-værdi på mellem 6,3 og 6,5;
  - er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter arginin i en koncentration på højst 0,001 mM;
  - er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,001 mM;
  - er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer eller omfatter en eller flere overfladeaktive stoffer i en (samlet) koncentration på højst 0,0001 mM; og/eller er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler (f.eks. natriumdihydrogenphosphat, dinatriumhydrogenphosphat) eller omfatter et fosfatbuffersystem i en koncentration på højst 0,001 mM.
- 20
- 25
- 30
- I en udførelsesform omfatter den væskeformige farmaceutiske sammensætning følgende:
- 50 mg/ml adalimumab;
  - 10 mM histidin (eller histidinbuffersystem);
- 35

- 200 mM trehalose;
  - 50 mM natriumchlorid;
  - 1,0 mg/ml polysorbat 80; og
  - vand (af injektionsrenhedsgrad);
- 5 hvor sammensætningen:
- o har en pH-værdi på 6,4;
  - o er fri for arginin;
  - o er fri for andre aminosyrer end histidin;
  - o er fri for overfladeaktive stoffer; og
- 10 o er fri for phosphat-buffermidler/buffersystemer.
- Fortrinsvis består den væskeformige farmaceutiske sammensætning i det væsentlige af:
- 25 til cirka 75 mg/ml adalimumab;
  - 2 til cirka 50 mM histidin (eller histidinbuffersystem);
- 15 - 100 til cirka 300 mM trehalose;
- 10 til cirka 200 mM natriumchlorid; og
  - vand (af injektionsrenhedsgrad);
- o hvor sammensætningen har en pH-værdi på mellem 6,3 og 6,5.
- Fortrinsvis består den væskeformige farmaceutiske sammensætning
- 20 i det væsentlige af:
- 40 til cirka 60 mg/ml adalimumab;
  - 5 til cirka 15 mM histidin (eller histidinbuffersystem);
  - 175 til cirka 225 mM trehalose;
  - 25 til cirka 75 mM natriumchlorid; og
- 25 - vand (af injektionsrenhedsgrad);
- o hvor sammensætningen har en pH-værdi på mellem 6,3 og 6,5.
- Fortrinsvis består den væskeformige farmaceutiske sammensætning i det væsentlige af:
- 50 mg/ml adalimumab;
- 30 - 10 mM histidin (eller histidinbuffersystem);
- 200 mM trehalose;
  - 50 mM natriumchlorid; og
  - vand (af injektionsrenhedsgrad);
- o hvor sammensætningen har en pH-værdi på 6,4.
- 35 Den væskeformige farmaceutiske sammensætning kan være som

fremlagt i enhver af de foregående udførelsesformer, bortset fra at fraværet eller det lave indhold af bestanddele såsom arginin, aminosyrer, overfladeaktive stoffer (eventuelt med undtagelse af polysorbit 80) og phosphatbuffer-midler/systemer snarere end at være defineret ved henvisning til koncentrationer (dvs. molaritet) kan være defineret i stedet ved henvisning til korresponderende molforhold mellem bestanddelen og buffermidlet/buffersystemet; korresponderende vægtforhold mellem bestanddelen og adalimumab eller korresponderende molforhold mellem bestanddelen og adalimumab. Fagmanden vil uden videre for hver bestanddel udlede fra det relevante afsnit af denne beskrivelse vedrørende den specifikke bestanddel, hvilke mol- og vægtforhold, der svarer til hvilke koncentrationer, eftersom de relevante mol- og vægtforhold er anført, så de svarer til de respektive givne koncentrationer. For eksempel svarer i tilfældet med arginin de eventuelle koncentrationer på "højst 0,1 mM, mere foretrukket højst 0,01 mM, mest foretrukket højst 0,001 mM", henholdsvis, til et molforhold mellem arginin og buffermiddel på "højst 1:150...mere foretrukket højst 1:1500, mest foretrukket højst 1:15.000", til "et vægtforhold mellem arginin og adalimumab på højst 1:3000...mere foretrukket højst 1:30.000...mest foretrukket højst 1:300.000", og "til et molforhold mellem arginin og adalimumab på højst 1:3,75...mere foretrukket højst 1:37,5, mest foretrukket højst 1:375". De samme korrespondancer gælder for aminosyrer, overfladeaktive stoffer og phosphatbuffer-midler/systemer.

#### 25 Fremgangsmåde til fremstilling af en væskeformig farmaceutisk sammensætning

Frembringelsen tilvejebringer en fremgangsmåde til frembringelse af en væskeformig farmaceutisk sammensætning, fortrinsvis som defineret heri. Fremgangsmåden omfatter fortrinsvis at sammenblende hvilke som helst relevante bestanddele, der er påkrævede til dannelse af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri, i en enhver rækkefølge, der vurderes som passende. Fagmanden kan henholde sig til Eksemplerne eller teknikker, der er velkendte inden for fagområdet til dannelse af væskeformige farmaceutiske sammensætninger (navnlig sådanne til injektion med sprøjte). Forskellige udførelsesformer vil fortrinsvis kræ-

ve blanding af forskellige kombinationer af bestanddele, potentielt i forskellige mængder. Fagmanden kan uden videre udlede sådanne kombinationer og mængder ved at henholde sig til den foregående beskrivelse vedrørende den væskeformige farmaceutiske sammensætning.

5 Fortrinsvis omfatter fremgangsmåden at sammenblende de relevante bestanddele i fortrinsvis et fortyndingsmiddel (f.eks. vand), fortrinsvis således, at alle bestanddele (i det væsentlige eller fuldstændigt) opløse i fortyndingsmidlet.

10 Fremgangsmåden kan omfatte først at fremstille en forblanding (eller foropløsning) af nogle eller alle bestanddel (eventuelt med noget af eller alt opløsningsmidlet) uden adalimumab, og adalimumab kan så selv (eventuelt med eller foropløst i noget af fortyndingsmidlet) blandes i forblandingen (eller foropløsningen) til opnåelse af den væskeformige farmaceutiske sammensætning eller en sammensætning, hvortil slutbestanddele 15 efterfølgende tilsættes for at give den endelige væskeformige farmaceutiske sammensætning. Mest foretrukket indeholder forblandingen alle bestanddelene bortset fra adalimumab og eventuelt også noget fortyndingsmiddel (som kan benyttes til at foropløse adalimumab), fortrinsvis således at adalimumab sættes til en blanding, som tilbyder optimal stabilisering af adalimumab. Fortrinsvis fremstilles den nævnte forblanding 20 med den ønskede pH-værdi for den endelige væskeformige farmaceutiske formulering.

Fremgangsmåden omfatter fortrinsvis dannelse af et buffersystem, fortrinsvis et buffersystem omfattende et buffermiddel som defineret heri. 25 Buffersystemet dannes fortrinsvist i en forblanding før tilsætning af adalimumab, selv om buffersystemet eventuelt kan dannes under tilstedeværelse af adalimumab. Buffersystemet kan dannes ved simpelthen at blande buffermidlet (leveret færdiglavet) med dets korresponderende syre/base (fortrinsvis i passende relative mængder til opnåelse af den ønskede pH-værdi – dette kan fastlægges af fagmanden enten teoretisk eller 30 eksperimentelt). I tilfælde af et histidinbuffersystem medfører dette blanding af histidin med en imidazoliumform af histidin (f.eks. histidinhydrochlorid). Alternativt kan buffersystemet dannes ved tilsætning af en stærk syre (f.eks. HCl) til buffermidlet (f.eks. histidin) for *in situ* at danne 35 den korresponderende syre/base (f.eks. imidazoliumformen af histidin) til

buffermidlet (igen fortrinsvis i passende relative mængder til opnåelse af den ønskede pH-værdi). Alternativt kan buffersystemet dannes ved til-sætning af en stærk base (f.eks. natriumhydroxid) til den korresponde-rende syre/base til buffermidlet (eller til buffermidlet selv, hvor det dan-  
5 ner nævnte korresponderende syre/base i en dynamisk ligevægt, såsom efter opløsning) for *in situ* at danne buffermidlet (igen fortrinsvis i pas-sende relative mængder til opnåelse af den ønskede pH-værdi). pH-værdien af forblandingen af endelig væskeformig farmaceutisk sammen-sætning kan indstilles efter skønsom vurdering ved at tilsætte den for-  
10 nødne mængde stærk base eller særk syre eller endog et kvantum buf-fermiddel eller korresponderende syre/base.

I visse udførelsesformer fordannes buffermidlet og/eller buffersyste-met som en separat blanding, og buffersystemet overføres til et forstadi-um af den væskeformige farmaceutiske sammensætning (omfattende  
15 nogle eller alle bestanddele bortset fra buffermidlet og/eller buffersyste-met, fortrinsvis omfattende adalimumab og potentielt kun adalimumab) ved bufferudskiftning (f.eks. under anvendelse af diafiltrering indtil den relevante koncentration eller osmolalitet nås). Yderligere excipienser kan tilsættes derefter om nødvendigt for at danne den endelige væskeformige  
20 farmaceutiske sammensætning. pH-værdien kan indstilles én gang eller før alle bestanddelene er til stede.

Enhver, nogle eller alle bestanddelene kan foropløses eller forblendes med et fortyndingsmiddel forud for blanding med andre bestanddele.

Den endelige væskeformige flydende sammensætning kan filtreres,  
25 fortrinsvis for at fjerne partikelformigt stof. Egnede filtrering sker gennem filtre i størrelsen under eller lig med 1  $\mu\text{m}$ , fortrinsvis i størrelsen 0,22  $\mu\text{m}$ . Fortrinsvis sker filtreringen gennem enten PES-filtre eller PVDF-filtre, fortrinsvis 0,22  $\mu\text{m}$ -PES-filtre.

Frembringelsen tilvejebringer også en væskeformig farmaceutisk  
30 sammensætning, som er opnåelig ved, opnås ved eller opnås direkte ved fremgangsmåden til fremstilling beskrevet heri.

#### Lægemedeldispenseringsanordning

Frembringelsen tilvejebringer en lægemedeldispenseringsanordning  
35 omfattende en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret

heri. Lægemiddeldispenseringsanordningen omfatter fortrinsvis et kammer, hvori den farmaceutiske sammensætning forefindes. Fortrinsvis er lægemiddeldispenseringsanordningen steril.

5 Lægemiddeldispenseringsanordningen kan være en hætteflaske, ampul, sprøjte, injektionspen (f.eks. i det væsentlige omfattende en sprøjte) eller intravenøs pose. Mest foretrukket er lægemiddeldispenseringsanordningen en sprøjte, fortrinsvis en injektionspen. Sprøjten er fortrinsvis en glassprøjte. Sprøjten omfatter fortrinsvis en nål, fortrinsvis en 29G ½"-nål.

10 Frembringelsen tilvejebringer en fremgangsmåde til fremstilling af en lægemiddeldispenseringsanordning, fortrinsvis som defineret heri, hvor fremgangsmåde omfatter et inkorporere en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri i en lægemiddeldispenseringsanordning. En sådan fremstilling omfatter typisk at fylde den væskeformige  
15 farmaceutiske sammensætning som defineret heri på en sprøjte, fortrinsvis via en nål fastgjort dertil. Nålen kan derefter fjernes, udskiftes eller forblive.

Ifølge et aspekt af frembringelsen tilvejebringes en lægemiddeldispenseringsanordning, som er opnåelig ved, opnås ved eller opnås direkte ved  
20 fremgangsmåden til fremstilling defineret heri.

#### Pakning

Frembringelsen tilvejebringer en pakning omfattende en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri. Fortrinsvis omfatter pakningen en lægemiddeldispenseringsanordning som defineret heri, fortrinsvis flere lægemiddeldispenseringsanordninger. Pakningen kan omfatte  
25 en hvilken som helst egnet beholder til at rumme en eller flere lægemiddeldispenseringsanordninger.

Frembringelsen tilvejebringer en fremgangsmåde til fremstilling af en pakning, hvilken fremgangsmåde omfatter inkorporering af en væskeformig farmaceutisk sammensætning som defineret heri i en pakning. Fortrinsvis opnås dette ved at inkorporere den væskeformige farmaceutiske sammensætning i en eller flere lægemiddeldispenseringsanordninger og derefter inkorporere den ene eller de flere forfyldte lægemiddeldispenseringsanordninger i en beholder, der forefindes i pakningen.

35 Frembringelsen tilvejebringer en pakning, som er opnåelig ved, opnås

eller direkte opnås ved en fremgangsmåde til fremstilling defineret heri.

#### Sæt af dele

Frembringelsen tilvejebringer et sæt af dele omfattende en lægemid-  
5 deldispenseringsanordning (uden den væskeformige farmaceutiske sammen-  
sætning inkorporeret deri), en væskeformig farmaceutisk sammensætning  
som defineret heri (eventuelt indeholdt i en særskilt pakning eller beholder)  
og eventuelt et sæt instruktioner med anvisninger angående indgiften (f.eks.  
subkutan) af den væskeformige farmaceutiske sammensætning. Brugeren  
10 kan så fylde lægemiddeldispenseringsanordningen med den væskeformige  
farmaceutiske sammensætning (som kan forefindes i en hætteflaske eller  
ampul eller deslige) forud for indgift.

#### Anvendelser af farmaceutisk væskeformig sammensætning of frem- 15 gangsmåder til behandling

Ifølge et aspekt af frembringelsen tilvejebringes en fremgangsmåde  
til behandling af en sygdom eller medicinsk forstyrrelse; en væskeformig  
farmaceutisk sammensætning til anvendelse i behandling: anvendelse af en  
væskeformig farmaceutisk sammensætning til fremstilling af et lægemiddel til  
20 behandling af en sygdom eller forstyrrelse; en fremgangsmåde til behandling  
af en tumornekrosefaktor-alfa(TNF- $\alpha$ )-forbundet autoimmunsygdom; en væ-  
skeformig farmaceutisk sammensætning til anvendelse i behandling af en  
tumornekrosefaktor-alfa(TNF- $\alpha$ )-forbundet autoimmunsygdom; anvendelse af  
en væskeformig farmaceutisk sammensætning til fremstilling af et lægemid-  
25 del til behandling af en tumornekrosefaktor-alfa(TNF- $\alpha$ )-forbundet autoim-  
munsygdom; en fremgangsmåde til behandling af arthritis rheumatoides, psori-  
atisk arthritis, Bechterews sygdom, Crohns sygdom, ulcerøs colit, moderat til  
svær kronisk psoriasis og børneleddegigt; en væskeformig farmaceutisk sam-  
mensætning til anvendelse i behandling af arthritis rheumatoides, psoriatisk ar-  
30 thritis, Bechterews sygdom, Crohns sygdom, ulcerøs colit, moderat til svær kro-  
nisk psoriasis og børneleddegigt; og anvendelse af en væskeformig farmaceutisk  
sammensætning til fremstilling af et lægemiddel til behandling af arthritis rheu-  
matoides, psoriatisk arthritis, Bechterews sygdom, Crohns sygdom, ulcerøs colit,  
moderat til svær kronisk psoriasis og børneleddegigt, som defineret heri.

35 De væskeformige farmaceutiske sammensætninger defineret heri kan

anvendes til behandling af en hvilken som helst eller flere af de førnævnte sygdomme eller medicinske forstyrrelser. I en særlig udførelsesform anvendes de væskeformige farmaceutiske sammensætninger til behandling af arthritis rheumatoides, fortrinsvis Crohns sygdom og psoriasis.

- 5 De væskeformige farmaceutiske sammensætninger indgives fortrinsvis parenteralt, fortrinsvis via subkutan injektion.

### EKSEMPLER

#### Materialer og udstyr

- 10 De følgende materialer blev anvendt til fremstilling af formuleringer, der er beskrevet i de efterfølgende eksempler:

<b>Ingrediens</b>
Adalimumab DS
Argininmonohydrochlorid
Asparaginsyre
Citronsyremonohydrat
Dibasisk natriumphosphatdihydrat
Histidin
Lysinhydrochlorid
Mannitol
Monobasisk natriumphosphatdihydrat
Poloxamer 188
Polysorbat 80
Natriumchlorid
Natriumcitrat
Natriumhydroxid-opløsning 30%
Trehalosedihydrat
WFI

Følgende engangsudstyr og materiale blev anvendt i eksemplerne og screeningsforsøgene som følger.

<b>Udstyr</b>	<b>Kode</b>	<b>Leverandør</b>
Eppendorfrør (0,5 mL, 1,5	N/A	Eppendorf

mL, 2,0 mL)		
Falcon	352096 (15 mL), 352070 (50 mL) polypropylenrør	Becton Dickinson
PES membran (0,22 µm) filterenhed	MillexGP Express PES membran REF SLGP033RS	Millipore
PETG flasker	3420-1000, 3420-0500, 2019-0250, 3420-0125, 3420-0060, 2019-0030	Nalgene

Følgende emballage blev anvendt i eksemplerne og screeningsforsøgene som følger.

Udstyr	Kode	Leverandør
DIN2R Type I hætteglas af glas	0212060.6112 11200000A	Nuova Ompi
1 mL stopper	S2-F451 RSV; D 21-7S RB2-40	Daikyo Seiko, LTD
13mm flip-off cap	12000350	MS-A

Følgende emballering blev anvendt i eksemplerne og screeningsforsøgene som følger.

Udstyr	Mod.	Producent
Analytiske vægte	AX205, PG2002-S	Mettler Toledo
Benchtop xenon instrument	Suntest CPS+	Atlas
Kalibrerede pipetter	P20, P100, P200, P1000	Gilson
HPLC	Alliance	Waters
iCE280	Fast IEF Analyzer	Convergent Bioscience
Osmometer	Osmomat 030/D	Gonotec
PCR	7500 Fast Real-Time	AB Applied Biosystem
pH-metre	Seven Multi	Mettler Toledo
Køleskabe	+2-8°C	Angelantoni
Software Design Expert	ver. 7.1.5	Stat-Ease, Inc.
Thermostatiske skabe	+25°C, +40°C	Angelantoni
Turbidimeter	2100AN IS	Hach Lange
UV Spektrofotometer	Lambda 35	Perkin Elmer

Analytiske teknikker og protokoller

Følgende analytiske protokolfremgangsmåder benyttedes i Eksemplerne og screeningseksperimenterne, som følger, af grundene anført i tabellen nedenfor:

Metode Nr.	Analytisk metode	Formål med test
1	Bioanalyzer	Renhed
2	DSF	Udfoldningstemperatur
3	iCE280	Profiler af isoformer
4	OD	Proteinindhold
5	SE-HPLC	Aggregatbestemmelse
6	Nefelometri	Turbiditet
7	Osmolalitet	Osmolalitet af opløsning
8	pH	pH bestemmelse
9	Ikke-synlige partikler	Partikeltælling

5 Protokollerne for hver af de ovenstående analytiske metoder er for deres vedkommende beskrevet nedenfor, og henvisning i eksemplerne og screeningsforsøgene til enhver af sådanne analytiske metoder og screeningsforsøg har været under anvendelse af disse protokoller.

10 1. Renhed – Bioanalyzer

En 2100 Bioanalyzer blev anvendt. Protokoller forefindes i de aktuelle instruktionsmanualer. Protokollerne er dog yderligere justeret som følger.

Opløsninger:

15 Gel-Dye Mix (farvningsopløsning):

Tilsæt 25 µl 230plus-farvekoncentrat til et protein 230plus-gel-matrix-rør. Hvirvelomryst grundigt og centrifuger røret i 15 sekunder. Overfør til et spin-filter og centrifuger ved 2500rpm i mindst 20min. Opløsningen er klar til brug. Opbevar opløsningen ved  $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$  i højst 4 uger.

20

Affarvningsopløsning:

Pipettér 650µl gel matrix til et spin-filter. Centrifuger ved 2500rpm i mindst 25 min. Opbevar opløsningen ved  $+5\pm 3^{\circ}\text{C}$  i højst 4 uger.

**Prøvebuffer:**

Det anbefales at dele de 200 µl prøvebuffer i afmålte portioner af 25 µl og at genfryse en afmålt portion for hver chip. Opbevar prøvebuffer-  
5 stamopløsningen og de afmålte portioner ved -20°C, ikke længere end udløbsda-  
toen, som leverandøren har angivet.

**Maleimid-stamopløsning:**

Opløs 23,4 mg maleimid i 1 ml MilliQ-vand (0,24M). Omryst opløsningen  
10 grundigt. Efterfølgende fortyndes opløsningen 1:4 med MilliQ-vand. (fx 50 µl  
stamopløsning + 150 µl MilliQ). Slutkoncentrationen af den fortyndede maleimid-  
opløsning er 60mM. (Eftersom der endnu ikke er tilgængelige data vedrørende  
stabiliteten af denne opløsning, skal den fremstilles frisk til hver analyse).

**15 OTf-opløsning:**

Til analyse af Adalimumab-prøver skal den reducerende opløsning frem-  
stilles med 1M DTT, derfor opløses 154,0 mg DTT i 1 ml MilliQ-vand.

**Ikke-reducerende opløsning:**

20 Tilsæt 1 µl MilliQ vand til en afmålt prøvebufferportion (25 µl) og centri-  
fuger i 5 sekunder. Anvend den ikke-reducerende opløsning samme dag, som  
den er fremstillet.

**Reducerende opløsning:**

25 Tilsæt 1 µl DTf-opløsning til en afmålt prøvebufferportion (25 µl) og cen-  
trifuger i 5 sekunder. Anvend den reducerende opløsning samme dag, som den er  
fremstillet.

**Prøvefremstilling:**

30 Prøver med et koncentrationsinterval mellem 2,4 og 3 mg/ml analyse-  
res.

Om nødvendigt kan prøverne fortyndes til ønsket koncentration med Milli Q-vand.

- 5 Prøver fremstilles i overensstemmelse med the Reagent Kit Guide under anvendelse af reducerende og ikke-reducerende prøvebuffer ifølge the Reagent Kit Guide og også som anvist ovenfor. Det anbefales kraftigt at anvende, modsat vejledningen, større volumener for at opnå reproducerbare og præcise resultater. Et eksempel på, hvordan markøren og prøverne fremstilles, er angivet nedenfor:

- 10 Prøvefremstillingsopløsning; reducerende og ikke-reducerende betingelser

Reagens	Volumen, $\mu\text{l}$	Samlet volumen, $\mu\text{l}$
Prøve fortyndet til 3 mg/ml	3 $\mu\text{l}$	6 $\mu\text{l}$
Prøvebuffer (reducerende eller ikke-reducerende)	2 $\mu\text{l}$	
Maleimid-opløsning	1 $\mu\text{l}$	
Prøver skal blandes godt (med hvirvelomryster) og centrifugeres. Alle prøver og markøren opvarmes 5 minutter ved 70 °C.		
MilliQ-vand	84 $\mu\text{l}$	90 $\mu\text{l}$
Omryst godt og centrifuger; påfyld 6 $\mu\text{l}$ , hele prøven og markør		

- 15 Note 1: For de IPC'ere hvis koncentration er mellem 2,4 mg/ml og 3,0 mg/ml, følger prøvefremstillingen tabellen ovenfor, på nær voluminet af MilliQ-vand, der tilsættes efter prøveopvarmning, som beregnes med henblik på en slutproteinkoncentration på 0,1 mg/ml.

Et eksempel på en prøve, der har en koncentration på mellem 2,4 and 3,0 mg/ml, er angivet nedenfor:

- 20 Prøvefremstillingsopløsning; reducerende og ikke-reducerende betingelser

Reagens	Volumen, $\mu\text{l}$	Samlet volumen, $\mu\text{l}$
Prøve fortyndet til 3 mg/ml	3 $\mu\text{l}$	6 $\mu\text{l}$
Prøvebuffer (reducerende eller ikke-reducerende)	2 $\mu\text{l}$	
Maleimid-opløsning	1 $\mu\text{l}$	
Prøver skal blandes godt (med hvirvelomryster) og centrifugeres. Alle prøver og markøren opvarmes 5 minutter ved 70 °C.		
MilliQ-vand	72 $\mu\text{l}$	78 $\mu\text{l}$
Omryst godt og centrifuger; påfyld 6 $\mu\text{l}$ , hele prøven og markør		

Note 2: Alle brønde skal fyldes. Hvis antallet af prøver er lavere end antallet af brønde, kan de tomme brønde anvendes til ekstra dobbeltbestemmelser eller blanke prøver.

5

Udarbejdelse af systemet og chippen:

For at rengøre systemet inden og efter en analyse fyldes "Electrode Cleaner'en" med 600  $\mu\text{L}$  MilliQ-vand og anbringes i Agilent 2100 Bioanalyser'en, låget lukkes og systemet lukker ned. Intet yderligere er påkrævet.

- 10 Juster basispladen i chip-priming-stationen til position "A" og sprøjteklipsen til dens mellemposition.

Præparering af chippen

<u>Udarbejdelse af systemet</u>
Indsæt en ny proteinchip i priming-stationen
Pipettér 12 $\mu\text{l}$ Gel-Dye-blanding i brønden mærket G (øverst til højre)
Sæt stemplet til 1 ml og luk chip-primingstationen
Tryk stemplet ned, indtil det holdes af chippen
Vent 60 sekunder og frigør derefter chippen
Vent 5 sekunder og træk langsomt stemplet tilbage til 1 ml-mærket

Åbn chip-primingstationen
Fjern opløsningen i denne brønd
Pipettér 12 µl Gel-Dye-blanding i brønden mærket G (øverst til højre) og i alle øvrige brønde mærket med G
Pipettér 12 µl affarvningsopløsning i brønden mærket med DS

På sætning af markør og prøve:

- Overfør 6 µL af hver prøve til prøvebrønden og ligeledes 6 µL af markøren i den dertil angivne brønd, som er tydeligt angivet med et markørsymbol. Anbring chippen i Agilent 2100 Bioanalyseren og start analysen inden for 5 min.

Eksempel på prøvesæt

Brønd	Prøve	Mængde, µl
1	Blank	6
2	Blank	6
3	Ukendt prøve 1, rep 1	6
4	Ukendt prøve 1, rep 2	6
5	Ukendt prøve 2, rep 1	6
6	Ukendt prøve 2, rep 2	6
7	Ukendt prøve 3, rep 1	6
8	Ukendt prøve 3, rep 2	6
9	Aktuelt referencemateriale, rep 1	6
10	Aktuelt referencemateriale, rep 2	6
Markør	Markør	6

Dataanalyse og evaluering af resultaterne:

- 10 For at få resultater skal følgende trin i det mindste udføres:

- Chippen anbringes det fastsatte sted, og låget lukkes.
- I instrument vælges Assay - Electrophoresis- Protein- Protein 230 Plus.
- Tryk på START for at starte analysen, som er færdig inden for 30 minutter.
- Rådata vises ved at trykke på "Data Analysis", hvor alle forsøg, der er udført den dag, fremgår. Tryk på det ønskede forsøg og vælg det
- Gelen, der genereres fra det valgte forsøg, åbnes automatisk.
- Data kan vises som et elektroferogram eller gel-lignende billede.

Detaljeret information omkring integrationen af toppe i elektroferogrammet (for at få data omkring renhed) forefindes i manualen, der hører til softwaren. Prøvens renhed gives af systemet ved automatisk integration, men om nødvendigt kan der anvendes manuel integration.

#### Resultater:

Under ikke-reducerende betingelser angives resultaterne som %Purity (renhed) og %LMW (sum af toppe inden monomer).

Under reducerende betingelser angives resultaterne som % Purity (renhed), som summen af den tunge og lette kæde.

Den indikative molekylvægt er angivet i tabellen nedenfor:

Indikativ molekylvægt af Adalimumab

Betingelser	Resultat	KDa
Ikke-reducerende	Monomer	151
Reducerende	LC	27
	HC	58

25 2. Udfoldningstemperatur – DSF

DSF (differentielscanningsfluorimetri) blev udført som følger:

2 mikroliter Sypro Orange (Orange protein gelfarve, cod. S6650, Life Technologies) forudgående fortyndet 500-fold i vand af injektionsrenhed blev tilsat 20 mikroliter lægemiddelproduktopløsning. Ved tilsætning af Sypro Orange, fyldes DP-  
5 opløsninger (prøver i tripelbestemmelse) i 96-brønds plader (MicroAmp Fast 96-W Reaction Plate 0.1 ml, cod. 4346907). Pladerne forsegles derpå med et beskyttende transparent dække (MicroAmp Optical Adhesive Film, cod. 4311971) og der centrifugeres derpå for at fjerne luftbobler. Pladerne isættes derefter i 7500 Fast Real-Time AB Applied Biosystem PCR-systemet, og der scannes for emissionspro-  
10 filer ved temperaturer fra stuetemperatur til 90-100°C. Fluorescenseemissionsintensitetens afhængighed af temperaturen er en kurve, der typisk viser et vendepunkt/et stop ved denatureringstemperaturen, og er en parameter, der anvendes til at sammenligne de forskellige sammensætninger.

### 15 3. Isoformers profil - iCE280

cIEF ved iCE280 (isoformers profil): Efter oprensning og fjernelse af salte ved centrifugering i en Amicon Ultra-4 centrifuge (cut off 10 kDa), blev prøverne for-  
håndsfortyndet til en koncentration på 5,0 mg/ml med rensed vand. En næste fortynding blev derpå lavet til 1,0 mg/ml med en opløsning bestående af:  
20 methylcellulose, Pharmalyt 5-8 (GE Healthcare), Pharmalyt 8 - 10.5 (GE Healthcare), lav-pI-markør 7,05 (Protein Simple), høj-pI-markør 9,50 (Protein Simple) og rensed vand. Efter fortynding blev prøverne centrifugeret ved 10000 opm i 3 minutter. Et ekstra centrifugeringstrin (2 minutter ved 7000 opm) udføres derpå med 150 mikroliter af hver prøve som er overført til glasindsatser. cIEF (kapillær  
25 isoelektrisk fokusering) blev foretaget med iCE280 systemet med Protein Simple, ved brug af kapillærkassetter Fc med 100 mikron ID-coating og en total længde på 50 nm (Cat. No. 101700/101701 by Protein Simple). Separation af de forskellige isoformer sker ved brug af 100 mM natriumhydroxid (i 0,1% methylcellulose) som katodisk opløsning og 80 mM o-phosphorsyre (i 0,1% methylcellulose) som  
30 anodisk opløsning. Elektroferogrammet fremkommer ved 280 nm ved præfokusering og fokuseringstider på henholdsvis 1 og 6 minutter, ved en spænding på 1500 V (præ-fokusering) og 3000 V (fokusering).

### 4. Proteinindhold – OD

OD(proteinindhold)-målinger blev udført på prøver, som forud blev fortyndet gravimetrisk (tre uafhængige fortyndinger blev forberedt) med relevant buffer eller placebo fra startkoncentrationer til cirka 10 mg/ml. De fortyndede opløsninger blev testet for absorbans ved 280 and 320 nm i 0,1 cm længdes kvartskuvetter, ved stuetemperatur, med et dobbeltstrålespektrofotometer (Lambda35 fra Perkin Elmer). Værdien på 1,35 blev anvendt som molær-ekstinktionskoefficient for Adalimumab.

#### 5. Aggregatbestemmelse - SE-HPLC

10 Prøverne blev fortyndet med DPBS 1X til en koncentration på 0,5 ml og injiceret (20 mikroliter injektionsvolumen) i en TSK gel Super SW3000 4,6mm ID X 30,0 cm cod.18675 kolonne fra Tosoh under opretholdelse af isokratiske betingelser (mobilfase: 50mM natriumphosphat + 0,4 M natriumperchlorat, pH 6,3 ± 0,1). UV-detektion foregik ved 214 nm ved en flow-hastighed på 0,35 ml. Hver analytiske cyklus havde en varighed på 15 minutter. Inden analysen blev prøverne opbevaret ved 2-8°C i Waters Alliance HPLC system-autosamplern anvendt til denne analyse.

#### 6. Turbiditet – nefelometri

20 Turbiditet blev evalueret ved nefelometriske (effekten baseret på lys-diffusions-effekten forårsaget af partikler med dimensioner typisk < 1 mikron) målinger udført med et turbidimeter 2100AN IS Turbidimeter fra Hach ved stuetemperatur. Minimumsmængder på 3 ml opløsning blev tilsat glaskuvetter med reduceret volumen og testet for diffusiv effekt efter forudgående kalibrering af instrumentet med en række standardopløsninger (0,1 - 7500 NTU).

#### 7. Osmolalitätsbestemmelse – Osmolalitet

Osmolalitet blev målt på basis af opløsningernes kryoskopiske karakteristika. Analyserne blev udført med en Osmomat 030-D fra Gonotech, hvor 50 mikroliter af prøverne blev frosset. Frysetemperaturen afhænger af opløsningens osmolalitet (dvs. af tilstedeværelsen af midler, der er opløst såsom salte, sukkerstoffer, andre ioniske og non-ioniske forbindelser osv.).

### 8. pH-bestemmelse – pH

pH blev bestemt ved potentiometriske målinger udført ved stuetemperatur med Mettler Toledo Seven Multi pH-meter.

5

### 9. Partikeltælling – Ikke-synlige partikler

Prøverne blev fortyndet 5-fold med rensat vand til et slutvolumen på 25 ml. Antallet af partikler bestemmes ved stuetemperatur med PAMAS SVSS fra Aminstruments ved at indsamle fire uafhængige kørsler og tage et gennemsnit af resultaterne fra hver enkelt dimensionalfraktion af interesse.

10

### Eksempel 1 – Formuleringer til første formuleringsscreening

15 Det følgende første sæt af formuleringer (ofte refereret til som DoE1-formuleringer heri) er vist nedenfor i Tabel 1.

Tabel 1: Liste af DoE1 formuleringer til senere screeningsforsøg 1

Form #	Salt (NaCl) konc (mM)	Buffertype (10 mM)	pH	Stabilisator
18	25	Histidin	6,0	Trehalose dihydrat (200 mM)
19	50	Histidin	6,0	Lysin Hydrochlorid (100 mM)
20	100	Histidin	6,0	Mannitol (200 mM)
21	50	Histidin	6,2	Lysin hydrochlorid (100 mM)
22	50	Histidin	6,2	Arginin monohydrochlorid + asparaginsyre (80 mM + 20 mM)
23	75	Histidin	6,2	Trehalose dihydrat (200 mM)
24	25	Histidin	6,4	Mannitol (200 mM)
25	100	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)

20 Formuleringerne i Tabel 1 blev fremstillet startende med et præformuleret surfaktantfrit DS-materiale.

En afmålt portion DS er blevet diafiltreret med en 10 mM histidinbuffer ved pH 6,0, indtil der var opnået en trefoldig volumenudbytning med bufferen. Derpå blev de angivne excipienser tilsat de bufferudbyttede DS-materialer og pH indstillet til målet

ved tilsætning af en fortyndet opløsning af natriumhydroxid. Hver formulering blev filtreret gennem 0,22 µm PES-filtre.

I Tabel 2 er resultaterne med hensyn til materialegevinding og osmolalitet af de tre bufferudbyttede DS-materialer angivet.

Tabel 2: Genvinding og osmolalitet af DS-materialerne efter bufferudbytning

Der var en god gevinding af histidinbuffersystemet ( $\leq 90\%$ ). Værdier for osmolalitet indikerer, at der er opnået tilfredsstillende grad af bufferudbytning med en minimal rest af stoffer stammende fra den oprindelige DS.

15

Buffer	Start-DS-volumen	Start-DS-koncentration	Behandlet protein (mg)	Efter udbytning		Genvundet protein (mg)	Udbytte (%)	Osmolalitet (mOsm/kg)
				Slut-volumen (ml)	Slut-koncentration (mg/ml)			
Histidin	200	63,3	12660	200	56,9	11280	90	23

Eksempel 2 – Formuleringer til anden formuleringsscreening

Det følgende andet sæt af formuleringer (ofte refereret til som DoE2-formuleringer heri) er vist nedenfor i Tabel 3 (som afledt af tabel 4 nedenfor igen).

20

Tabel 1: Liste af DoE2-formuleringer til næste Screeningsforsøg 2 (formuleringer stammende fra de, der er vist i tabel 4, med det ekstra overfladeaktive stof som angivet)

Formuleringer	Polysorbat 80 koncentration (mg/mL)		
	0	0,5	1
Form 7 (stammende fra Form C, Tabel 4)	X	-	-
Form 8 (stammende fra Form C, Tabel 4)	-	X	-

Form 9 (stammende fra Form C, Tabel 4)	-	-	x
--	---	---	---

Tabel 4: \_\_\_\_\_ Formuleringsprototype stammende fra DoE1-screeningen

Form	Salt (NaCl) mM	Buffertype (10 mM)	pH	Stabilisator
C	100	Histidin	6.4	Trehalosedihydrat (200 mM)

DoE2-formuleringerne (Tabel 3) blev fremstillet startende med et præformuleret  
5 surfaktant-frit, DS-materiale.

Tre afmålte portioner DS er blevet diafiltreret, indtil en trefoldig volumen-  
udbytning opnåedes. Derefter er de påkrævede excipienser blevet tilsat til de  
buffer-udbyttede DS-materialer, og pH-værdien er blevet indstillet til målværdien  
ved tilsætning af en fortyndet natriumhydroxidopløsning. Hver formulering filtre-  
10 redes gennem 0,22 µm-PES-filtre.

I Tabel 5 gengives resultaterne med hensyn til osmolalitet og turbiditet for  
bufferudbyttede DS-materialer.

Osmolalitetsværdierne ( $\leq 40$  mOsm/kg) angav den tilfredsstillende opnå-  
ede grad af bufferudbytning med en minimal rest af stoffer hidrørende fra den  
15 oprindelige DS.

Tabel 5: Osmolalitet og turbiditet af DS-materialerne efter bufferudbytning

Buffer	Turbiditet (NTU)	Osmolalitet (mOsm/kg)
Histidin	50	26

### Eksempel 3 – Sammenligningsformuleringer til både første og anden screening

20 Til sammenlignings- og kontrolformål fremstilledes eller opnåedes tre refe-  
renceformuleringer, herunder Ref-1 (Humira®-sammensætning fremstillet af  
ansøger); Ref-2 (RMP US – Humira®, kommercielt lægemiddelprodukt fra USA);  
og Ref-3 (RMP EU – Humira®, kommercielt lægemiddelprodukt fra EU). Alle dis-  
ser referenceformuleringer har sammensætningen vist i Tabel 6.

Tabel 6: Sammensætning af Humira DP

Ingrediens	Mængde per beholder (mg) (fyldvolumen = 0,8 ml)	Mængde (mg/ml)
Adalimumab	40	50
Citronsyremonohydrat	1,04	1,3
Dibasisk natriumphosphat dehydrate	1,22	1,53
Mannitol	9,6	12
Monobasisk natriumphosphat dehydrate	0,69	0,86
Polysorbat 80	0,8	1
Natriumchlorid	4,93	6,16
Natriumcitrat	0,24	0,3
WFI og natriumhydroxid	q.b. til indstilling af pH til 5,2	q.b. til indstilling af pH 5,2

### SCREENING

5 En første formuleringscreening (DoE1) førte til bestemmelse af diverse faktorer (f.eks. pH-værdi, tilstedeværelse af NaCl, excipienstype), der er ansvarlige for proteinestabilitet, og i sidste ende til udvælgelse af formuleringer, der skulle forfølges i en anden screening (DoE2), som søgte at finjustere formuleringerne og vurdere, hvorledes overfladeaktive stoffer såsom Polysorbat 80 kan  
10 påvirke proteinets stabilitet.

Hver af de to screeninger omfattede diverse analytiske test, som defineret i det foregående og henvist til i det følgende, på en række forskellige formuleringer, som udsattes for forskellige grader af varmebelastning, mekaniske belastning og lysbelastninger over længere tidsrum (f.eks. 1 måned). Disse formuleringsscreeninger gjorde det muligt at opsamle en betydelig mængde data, som  
15 gav overraskende og værdifuld indsigt, der tillader udvikling af nye fordelagtige formuleringer.

Resultaterne af de to formuleringscreeninger præsenteres nedenfor.

#### 20 Screeningseksperiment 1 – analyse og screening af formuleringer fra Eksempel 1 i forhold til sammenligningsformuleringerne i Eksempel 3

Den foreløbige DoE-screening (trin 1) anslog virkningen, som ionstyrke (givet ved NaCl), pH og forskellige stabilisatorer udøver på proteinet i løbet af korttidsstabilitetsundersøgelser.

25 Der anvendtes et statistisk responsflade-D-Optimal-design. Tre faktorer toges i betragtning:

- Ionstyrke (drevet af NaCl-koncentrationen, som varieredes i området 25 mM-100 mM og sættes som en numerisk faktor);
- pH-værdi (området 4,6-6,4) pufret af histidin undersøgtes;
- stabilisator/excipient (kategorifaktor omfattende flere niveauer: lysin-5 hydrochlorid, arginin + asparaginsyre, mannitol, trehalosedihydrat).

Disse formuleringer fremstilledes som beskrevet i Eksempel 1 ovenfor, med udgangspunkt i DS uden Polysorbat 80 og var derfor fri for overfladeaktive stoffer.

Tabel 7 nedenfor opsummerer formuleringerne, der blev afprøvet i denne screening. Ud over de foreslåede 8 formuleringer, er to kontroller også blevet analyseret til sammenligning:

- Kommercielt Humira-lægemiddelprodukt DP (formuleret som i Eksempel 3 ovenfor)
- MS-lægemiddelsubstans DS formuleret som kommercielt Humira-DP (formuleret som i Eksempel 3 ovenfor).

Tabel 7: Liste over DoE1-formuleringer (Trin 1), der er screenet under varme-stressbetingelser (stabilitet ved 40 °C) og højhastighedsbestemmelse af protein-udfoldningstemperatur (DSF).

Form #	Salt (NaCl) konc (mM)	Buffertype (10 mM)	pH	Stabilisator
18	25	Histidin	6,0	Trehalose dihydrat (200 mM)
19	50	Histidin	6,0	Lysin hydrochlorid (100 mM)
20	100	Histidin	6,0	Mannitol (200 mM)
21	50	Histidin	6,2	Lysin hydrochlorid (100 mM)
22	50	Histidin	6,2	Arginin monohydrochloride + asparaginsyre (80 mM + 20 mM)
23	75	Histidin	6,2	Trehalose dihydrat (200 mM)
24	25	Histidin	6,4	Mannitol (200 mM)
25	100	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)
Ref-1 (MS)	Humira-sammensætning (formulering fremstillet med MS-lægemiddelsubstans) – Eksempel 3			
Ref-2 (RMP US)	Kommerciel Humira-DP (USA) - Eksempel 3			
Ref-3 (RMP EU)	Kommerciel Humira-DP (EU) - Eksempel 3			

Formuleringerne blev undersøgt ifølge planen gengivet i Tabel 8. Varmestress op til 1 måned ved 40 °C toges i betragtning. Højhastighedsvurdering foretaget med DSF-teknik (som tilsigter hurtig screening på grundlag af bestemmelse af proteinudfoldningstemperaturen) udførtes ved T0.

Tabel 8: Oversigt over analytiske test udført på foreløbige DoE-formuleringer (trin 1): 1 måneds varmebelastning ved 40 °C.

Accelereret (40 °C)		Stabilitetstid (uger)		
Metoder	Test	0	2u	4u
OD	Indhold	x	-	x
SE-HPLC	Aggregater	x	x	x
Bioanalyser	Renhed	x	x	x
pH	pH-værdi	x	x	x
Osmolalitet	Osmolalitet	x	-	-
DSF	Udfoldning T	x	-	-

### 5 1.1 Osmolalitetsscreening

Osmolaliteten af de samlede DoE1-formuleringer begyndende med bufferudbytnings-DS-materialer (afsnit 5.1.1) gengives i Tabel 9.

De fleste formuleringer fandtes at ligge i osmolalitetssområdet 250-400 mOsm/kg, mens lidt højere værdier sås ved de højeste natriumchloridkoncentrationer.

Tabel 9: Osmolalitet (mOsm/kg) registreret til tiden 0 for DoE1-screeningsformuleringer

Form #	Salt (NaCl) koncentration (mM)	Buffer type (10 mM)	pH	Stabilisator	Tid 0
18	25	Histidin	6,0	Trehalose dihydrat (200 mM)	<b>0,324</b>
19	50	Histidin	6,0	Lysin hydrochlorid (100 mM)	<b>0,317</b>
20	100	Histidin	6,0	Mannitol (200 mM)	<b>0,458</b>
21	50	Histidin	6,2	Lysin hydrochlorid (100 mM)	<b>0,317</b>
22	50	Histidin	6,2	Arginin honohydrochloride + asparaginsyre (80 mM + 20 mM)	<b>0,307</b>
23	75	Histidin	6,2	Trehalose dihydrat (200 mM)	<b>0,434</b>
24	25	Histidin	6,4	Mannitol (200 mM)	<b>0,307</b>
25	100	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	<b>0,496</b>
Reference In-House (Humira-sammensætning, Merck Serono DS)					<b>0,374</b>
RMP (USA) Humira					<b>NA</b>

### 1.2 Proteinindhold (OD)

Proteinindholdet i DoE1-formuleringer blev bestemt ved tiden 0 og efter 1 måned ved 40°C.

- 5 Fig. 1 er et søjlediagram, der viser proteinindholdet (mg/ml) af DoE1-formuleringerne (fra Eksempel 1), sammen med referencestandarder (der repræsenterer HUMIRA®-sammenligningsformuleringer), ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter 4 uger (røde søjler) af formulering(erne) opvarmet til 40 °C.
- 10 Resultaterne gengivet i Fig. 1 viste ingen forekomst af signifikante ændringer over tid. Alle koncentrationer fandtes at være på linje med målværdien på 50 mg/ml.

### 1.3 Aggregering (SE-HPLC)

- 15 Fig. 2 er et søjlediagram, der viser % ophobning/aggregering som bestemt ved SE-HPLC af DoE1-formuleringer (fra Eksempel 1) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer til et arbitrært starttidspunkt (blå søjler, tid=0) og både 2 uger (grønne søjler) og 4 uger (orange søjler) efter, at formuleringerne er blevet opvarmet til 40 °C. Den samlede mængde aggregater observeret ved SE-HPLC mod stabiliteten ved 40 °C
- 20 er gengivet grafisk i Fig. 2. Der sås minimale forøgelse i aggregeringen/ophobningen i alle formuleringer. Imidlertid beløb alle aggregeringsniveauer sig selv efter 1 måned til mindre end 1 %.

### 1.4 Fragmentering (Bioanalyser)

- 25 Fig. 3 er et søjlediagram, der viser % fragmentering som bestemt af en Bioanalyser, af DoE1-formuleringerne (fra Eksempel 1) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) til et arbitrært starttidspunkt (mørkeblå søjler, tid=0) og både 2 uger (lyserøde søjler) og 4 uger (lyseblå søjler) efter at formuleringerne er blevet opvarmet til 40 °C.

- 30 I Fig. 3 vises variationen af fragmenter over tid som bestemt af Bioanalyser. Formuleringer ved lavere pH-værdi har tendens til højere fragmenteringshastigheder. Desuden kan tilstedeværelsen af aminosyrer i dette pH-område forværre stabilitetsprofilen.

Ved pH > 6,0 og i nærvær af sukker/polyalkoholer er alle formuleringerne, herunder referencerne, sammenlignelige (fragmentering under 1 % efter 1 måned ved 40 °C).

Som det fremgår af Tabel 10, sås ingen afvigelser fra den tilsigtede pH-værdi.

Tabel 10: pH-værdi af DoE1-screeningsformuleringer bestemt i forhold til stabilitet ved 40 °C

Form #	Salt (NaCl) konc (mM)	Buffertype (10 mM)	pH-værdi	Stabilisator	Stabilitetstid		
					Tid 0	2 uger 40°C	4 uger 40°C
18	25	Histidin	6,0	Trehalose dihydrat (200 mM)	6,0	5,9	6,0
19	50	Histidin	6,0	Lysin hydrochlorid (100 mM)	6,0	6,0	6,0
20	100	Histidin	6,0	Mannitol (200 mM)	6,0	6,0	6,0
21	50	Histidin	6,2	Lysin hydrochlorid (100 mM)	6,2	6,2	6,2
22	50	Histidin	6,2	Arginin hydrochlorid + asparaginsyre (80 mM + 20 mM)	6,2	6,2	6,2
23	75	Histidin	6,2	Trehalose dihydrat (200 mM)	6,3	6,2	6,2
24	25	Histidin	6,4	Mannitol (200 mM)	6,4	6,4	6,4
25	100	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	6,4	6,4	6,4
Reference In-House (Humira-sammensætning, Merck Serono DS)					5,2	5,2	5,2
RMP (USA) Humira					5,3	5,3	5,3
RMP (EU) Humira					5,3	5,3	5,3

### 1.6 Udfoldningstemperatur (DSF)

10 DSF er en højhastighedsfremgangsmåde, som sigter til bestemmelse af proteiner udfoldningstemperatur ved hjælp af tiltagende interaktioner med fluorescerende prober, når prøvernes temperatur forøges. Når proteinet begynder at folde sig ud, vil det i stigende grad eksponere hydrofobe partier over for opløsningsmidlet, hvilket tiltrækker de fluorescerende prober, som vil overgå fra den frie tilstand i opløsningen (ikke-fluorescerende) til den bundne tilstand (via hydrofobe interaktioner) med proteinet, hvorved fluorescenssignalet forstærkes.

Ud fra vurderingen af fluorescenssignalet var det muligt at bestemme midtpunktet af de sigmoidale kurver, som angiver hver formuleringens transitionspunkt. Det antages, at jo højere transitionspunktet, jo højere formuleringens modstandsdygtighed mod varmebelastning.

Resultaterne af den foretagne vurdering på DoE1-screeningsformuleringerne er gengivet i Fig. 4. Fig. 4 er et søjlediagram, der viser udfoldelsestemperaturen (°C) som bestemt ved DSF af DoE1-formuleringerne (fra Eksempel 1) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer).

Udfoldningstemperaturen af de tre referenceformuleringer er 71-72 °C. Få formuleringer, bortset fra referencerne, fandtes at have udfoldningstemperaturer højere end 70 °C, men de, der havde, omfatter:

- Formulering 23, 24 og 25 (formuleringer i histidinbuffer, pH 6,2-6,4, i nærvær af enten trehalosedihydrat eller D-mannitol ved varierende natriumchloridkoncentrationer).

Derfor bekræftede denne test de tidligere opnåede resultater for fragmentering med Bioanalyser: polyalkoholer/sukkerstoffer kan positivt påvirke protei-  
nets varmestabilitet, navnlig ved  $\text{pH} \geq 6,2$ , medens natriumchlorid ikke ser ud til  
signifikant at påvirke dets optræden.

### 1.7 Isoformprofilændring vs. RMP

Isoformprofilen for DoE-screeningens formulering 25 er blevet undersøgt efter 10-11 uger ved 40 °C og sammenlignet med referenceprøver.

Data med hensyn til hovedtop- og surklyngevariationer gives i Tabel 11.

Sammenlignelige variationer opnås for de fire undersøgte prøver med lidt bedre resultater for Formulering 25 (i histidin).

Tabel 11: Isoformprofil ved iCE280 for de mest lovende formuleringer fra DoE-screening 1 og referencer

#### ***Hovedtop***

ID	Tid 0	10 uger (40°C)	11 uger (40°C)
DoE1-25	56,5	-	42,2
Ref-1 (MS)	55,8	38,5	-
Ref-3 RMP (EU)	56,5	40,7	-
Ref-2 RMP (US)	56,8	40,6	-

#### ***Sur klynge***

ID	Tid 0	10 uger (40°C)	11 uger (40°C)
DoE1-25	19,5	-	36,9
Ref-1 (MS)	19,8	40,5	-

Ref-3 RMP (EU)	19,5	38,9	-
Ref-2 RMP (US)	20,2	39,8	-

### Konklusion af Screeningsforsøg 1

Resultaterne opnået fra Bioanalyser og DSF-test vurderes kombineret ved hjælp af ANOVA-modellen for responsflader for at bestemme de bedste sammensætninger, som eventuelt ville kunne garantere den højeste varmestabilitet af proteinet.

Listen af anbefalede sammensætninger gengives i Tabel 12, som også sammenligner resultaterne for de fremkomne prototypeformuleringer med Humira-RMP med hensyn til udfoldningstemperatur og fragmenteringsændring over 1 måned ved 40 °C.

Formulering C svarer til DoE1-formulering 25, og realdata gengaves.

Ved sammenligning af disse formuleringer med RMP kan det konkluderes at disse prototypeformuleringers optræden som reaktion på varmebelastning er sammenligneligt med hvad, der sås for RMP.

Tabel 12: Resultat af EoE1-eksperimenter: anbefalede sammensætninger til anden screening

Form	Salt (NaCl) mM	Buffertype (10 mM)	pH	Stabilisator
C	100	Histidin	6,4	Trehalosedihydrat (200 mM)

Noget uventet klarede formuleringer indeholdende trehalosedihydrat som eneste stabilisator sig særdeles godt, navnlig med hensyn til fragmenteringshæmning, udfoldningshæmning og pH-opretholdelse. Sådanne trehalosebaserede formuleringer klarede sig også godt med hensyn til aggregering/ophobning og udfældning. At trehalose var så stærk en stabilisator-kandidat, særligt alene, var særdeles lovende i lyset af dets antioxidantegenskaber, som vil bibringe yderligere langsigtet kemisk stabilitet (særligt over for oxidation og/eller fotooxidation) til adalimumabformuleringer. Ydermere betragtedes det som særligt opmuntrende, at trehalose kan benyttes alene og dog stadig klare sig glimrende, og det baner vejen for mindre komplekse formuleringer, der gør brug af færre bestanddele – dette vil på sin side mindske forarbejdningen og omkostningerne forbundet med fremstilling af det relevante adalimumablægemedelprodukt. Som sådan bragtes

disse trehalosebaserede formuleringer videre til en anden runde af screeningeksperimenter for at finjustere formuleringerne.

Screeningeksperiment 2 – analyse og screening af formuleringer fra Eksempel 2 i forhold til sammenligningsformuleringer fra Eksempel 3

5 En formuleringsprototype fra de forrige screening bestemtes (Tabel 12). Eftersom det foregående trin udførtes uden tilsat overfladeaktivt stof, sigtede det andet trin mod at screene en samlet række niveauer af overfladeaktivt middel i form af Polysorbat 80 (interval: 0-1 mg/ml) for at vurdere, hvorvidt tilsætning af overfladeaktivt stof er nødvendigt for at fremme proteinstabiliteten.

10 Tabel 3 (Eksempel 2) opsummerer udformningen af dette andet trin i undersøgelsen og opregner formuleringerne (DoE2-formuleringer), der blev undersøgt i denne anden screeningsrunde.

15 Typisk er overfladeaktive stoffer observeret at stå i kontrast til ophobning/aggregering fremkaldt af mekanisk belastning, og undersøgelser med rystebelastning er derfor blevet udført for at vurdere, hvorledes Polysorbat 80 påvirker proteinstabilitet og reaktionen på omrystning.

Som for trin 1 er referencesammensætningerne beskrevet i Eksempel 3 også blevet vurderet for at give et vurderingsgrundlag for udviklingen af en ny formulering.

20 Den fuldstændige liste af analyser foretaget på denne gruppe formuleringer gengives i Tabel 13. I denne anden screening blev de respektive formuleringer udsat for tre forskellige typer belastning, nemlig varmebelastning, mekanisk belastning og lysbelastning.

25 Tabel 13: Oversigt over analytiske test udført på DoE2-formuleringer (trin 2): 1 måneds varmebelastningsbetingelser ved 40 °C (A), rystebelastning ved 200 opm (B) og lyseksponeering ifølge ICH Q18 (C)

#### Varmebelastning ved 40°C

Forceret (40°C)		Stabilitetstid (uger)		
Metoder	Test	0	2u	4u
OD	Indhold	x	-	x
iCE280	Isoformer	x	x	x
SE-HPLC	Aggregater	x	x	x
Bionalyzer	Renhed	x	x	x

pH	pH-værdi	x	x	x
Osmolalitet	Osmolalitet	x	-	-
Nefelometri	Turbiditet	x	x	x
DSF	Udfoldning T	x	-	-

#### A. Rystebelastningsbetingelser

Rystebelastning (200 rpm)		Stabilitetstid (timer)		
Metoder	Test	0	24 t	48 t
OD	Indhold	x	-	-
SE-HPLC	Aggregater	x	x	x
Bioanalyser	Renhed	x	x	x
pH	pH-værdi	x	x	x
Nefelometri	Turbiditet	x	x	x

#### B. Lyseksposering, 7 timers eksponering ved 765W/m<sup>2</sup> (ICH Q1B).

Lyseksposering		Prøve	
Metoder	Test	Tid 0	Eksponeret
OD	Indhold	x	-
iCE280	Isoformer	x	x
SE-HPLC	Aggregater	x	x
Bioanalyser	Renhed	x	x
pH	pH-værdi	x	x
Nefelometri	Turbiditet	x	x

5 Varmebelastningsundersøgelser udførtes ved simpelthen at opvarme en prøve af de relevante formuleringer ved den fastsatte temperatur i det fastsatte tidsrum (typisk 2 uger eller 4 uger/måned).

Undersøgelser vedrørende mekanisk belastning udførtes ved simpelthen at omryste en prøve af de relevante formuleringer ved stuetemperatur ved 200 opm i det fastsatte tidsrum (typisk 24 timer eller 48 timer).

10 Lysbelastningsundersøgelser udførtes ved simpelthen at eksponere en prøve af de relevante formuleringer for 765 W/m<sup>2</sup> lys (i overensstemmelse med ICH Q1B-vejledninger fra Det Europæiske Lægemiddelagentur angående fotostabilitetsafprøvning af nye aktivstoffer og medicinske produkter) i 7 timer.

##### 2.1 Osmolalitet

Osmolaliteten af DoE2-screeningsformuleringerne gengives i Tabel 14. Værdierne, i området 378-401 mOsm/kg er formentlig overvurderede på grund af tilstedeværelsen af trehalosedihydrat, som kan lede til en vis stigning i viskositeten, hvilket påvirker opløsningernes kryoskopiske punkt og dermed osmolalite-

5 ten. Dette blev bekræftet af målinger i forbindelse med andre testformuleringer, som fortyndedes 3 gange med WFI forud for osmolalitetstesten for at sænke viskositeten: den sande osmolalitet for alle disse formuleringer er < 350 mOsm/kg.

Tabel 14: Osmolalitet af DoE2-screeningsformuleringer (undersøgt ufortyndede)

Form #	Salt (NaCl) koncentration (mM)	Buffer-type (10 mM)	pH	Stabilisator	Overfladeaktivt stof (Polysorbat 80) koncentration (mg/ml)	Tid 0
DoE2-7	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0	381
DoE2-8	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0,5	381
DoE2-9	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	1	378

## 10 2.2 Proteinindhold

Proteinindholdet af alle DoE2-formuleringerne til tiden 0 var på linje med proteinkoncentrationsmålet på 50 mg/ml (Tabel 15).

Tabel 15: Proteinindhold (OD) af DoE2-screeningsformuleringer (undersøgt ufortyndede)

15

Form #	Salt (NaCl) koncentration (mM)	Buffer-type (10 mM)	pH	Stabilisator	Overfladeaktivt stof (Polysorbat 80) koncentration (mg/ml)	Time 0
DoE2-7	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0	49,9
DoE2-8	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0,5	50,2
DoE2-9	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	1	50,4

## 2.3 Aggregater med varmebelastning (SE-HPLC)

Variationerne i den samlede mængde aggregater ved SE-HPLC præsenteres i Fig. 5. Fig. 5 er et søjlediagram, der viser % aggregering, som bestemt ved SE-HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) ved et arbitrært startpunkt (røde søjler, tid=0) og efter både 2 uger (grønne søjler) og 4 uger (lilla søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

25 Der sås minimale forandringer i alle formuleringer, idet den samlede

mængde aggregater efter 1 måned ved 40 °C beløb sig til under 1 %.

DoE1-screeningsformuleringerne klarede sig lige som RMP-materialerne eller lidt bedre.

#### 2.4 Fragmentering med varmebelastning (Bioanalyser)

5 Variationerne i fragmenter med Bioanalyser vises i Fig. 6. Figur 6 er et søjlediagram, der viser % fragmentering, som bestemt med en Bioanalyser, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

10 Formulering DoE2-7 (intet Polysorbat 80) undergår en konsistent stigning i fragmenter, medens de andre to, i nærvær af overfladeaktivt stof, fandtes at være sammenlignelige med RMP-materialerne. Ved betragtning af data, der er tilgængelige fra DoE1-forsøgene på formulering #25 (sammenlignelig med Formulering 7 i DoE2), kan det konkluderes, at den forøgede nedbrydning af DoE2-7 kan tilskrives en mulig kontaminering af prøven.

#### 2.5 Isoformprofil med varmebelastning (iCE280)

Ændringerne med hensyn til hovedtop og sur klynge for de tre formuleringer i løbet af 1 måned ved 40 °C er vist i henholdsvis Fig. 7 og 8.

20 Figur 7 er et søjlediagram, der viser hovedtopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

25 Figur 8 er et søjlediagram, der viser surklyngetopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

De største ændringer ses i DoE2 - 7 (-15 % i hovedtoppen), men dette kan hidrøre fra en mulig kontaminering af prøven som fremhævet ovenfor.

30 Disse resultater bekræfter de eksperimentelle vidnesbyrd, der allerede er fremhævet ved iCE280 på prototypeformuleringerne (som resultat af første screening): formuleringer i histidin viser sammenlignelige nedbrydningshastigheder med hensyn til isoformprofil i forhold til RMP.

35 Resultaterne med hensyn til sur klynge er på linje med de gjorte hovedtopobservationer.

#### 2.6 pH-screening med varmebelastning

Variationen i pH for DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) over et tidsrum, gennem hvilket formuleringerne opvarmes til 40 °C, er vist i Tabel 16.

pH-fald sås i DoE2-7, som vist i Tabel 16. Dette kan skyldes mulig kontaminering/bakterieopformering i prøverne.

5

Tabel 16: DoE2-screening: pH-værdi (varmebelastning ved 40 °C)

Form #	Salt (NaCl) koncentration (mM)	Buffer-type (10 mM)	pH	Stabilisator	Overfladeaktivt stof (Polysorbat 80) koncentration (mg/ml)	Tid 0	2 uger (40°C)	4 uger (40°C)
DoE2-7	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0	6,4	4,3	4,3
DoE2-8	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0,5	6,4	6,4	6,4
DoE2-9	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	1	6,4	6,4	6,4

### 2.7 Turbiditet med varmebelastning (nefelometri)

Fig. 9 er et søjlediagram, der viser turbiditeten, som bestemt ved nefelometri, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 2 uger (røde søjler) og 4 uger (grønne søjler) for formuleringer, der opvarmes til 40 °C.

Turbiditeten af de tre opløsninger er til tiden 0 i området for typiske opaliserende opløsninger (6-18 NTU). Med hensyn til tid de oprindelige DS-materialer med typisk turbiditet på 19-52 NTU er DP-opløsningerne efter aseptisk filtrering betragteligt klarede.

Det skal noteres, at turbiditetsværdien for Humira RMP normalt er på cirka 10 NTU, på linje med vores formuleringer.

### 2.8 Aggregater med mekanisk belastning (SE-HPLC)

Figur 10 er et søjlediagram, der viser % ophobning/aggregering, som bestemt ved SE-HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 24 timer (røde søjler) og 48 timer (grønne søjler) for formuleringer, der bevæges mekanisk (omrystning).

Variationen i den samlede mængde aggregater opgjort ved SE-HPLC vises i Fig. 10. Der sås minimale ændringer (+ 0,1 %) for alle formuleringer i histidinbuffer.

### 2.9 Fragmentering med mekanisk belastning (Bioanalyser)

Fig. 11 er et søjlediagram, der viser % fragmentering, som bestemt med en Bioanalyser, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 24 timer (røde søjler) og 48 timer (grønne søjler) for formuleringer, der bevæges mekanisk (omrystning).

Variationerne i fragmenter ved opgørelse med Bioanalyser præsenteres i Fig. 11. Minimale ændringer ses, idet alle registrerede værdier er lig med eller under 0,5 %.

Efter 48 timers omrystning ved stuetemperatur viste alle prøverne fragmentering mellem 0,2 og 0,4 %. Der bemærkedes ingen tendens til stigende fragmentering efter mekanisk omrystning.

#### 2.10 pH-screening med mekanisk belastning

Variationen i pH-værdi for DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) over et tidsrum, hvorunder formuleringerne bevæges mekanisk (omrystning) vises i Tabel 17. Der sås ingen forandringer.

Tabel 17: DoE2-screening: pH-værdi (mekanisk omrystning)

Form #	Salt (NaCl) koncentration (mM)	Buffer-type (10 mM)	pH	Stabilisator	Overfladeaktivt stof (Polysorbat 80) koncentration (mg/mL)	Tid 0	24 timer	48 timer
DoE2-7	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0	6,4	6,5	6,5
DoE2-8	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0,5	6,4	6,4	6,4
DoE2-9	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	1	6,4	6,4	6,4

#### 2.11 Turbiditet med mekanisk belastning (nefelometri)

Figur 12 er et søjlediagram, der viser % turbiditet, som bestemt ved nefelometri, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) ved et arbitrært startpunkt (blå søjler, tid=0) og efter både 24 timer (røde søjler) og 48 timer (grønne søjler) for formuleringer, der bevæges mekanisk (omrystning). Ingen ændringer observeredes.

#### 2.12 Aggregater med lysbelastning (SE-HPLC)

Figur 13 er et søjlediagram, der viser % ophobning/aggregering, som bestemt ved SE-HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksponering ved 765 W/m<sup>2</sup> (røde søjler).

Der foretoges også sammenligninger med Humira-prøver (fra USA og EU) udsat for samme vilkår. I RMP øges aggregeringen op til 9-15 % efter lyseksponering (ved tiden 0 er aggregatmængden under 1 %). Alle DoE2-formuleringerne viser mindre eller sammenlignelige stigninger og dermed bedre/sammenlignelig modstandsdygtighed over for varmebelastning. Mere detaljeret:

- Formuleringer i histidinbuffer: 5,8 -> 9,2 % samlet mængde ag-

gregater efter lyseksposering.

### 2.13 Fragmentering med lysbelastning (Bioanalyser)

Figur 14 er et søjlediagram, der viser % fragmentering, som bestemt med en Bioanalyser, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksposering ved 765 W/m<sup>2</sup> (røde søjler).

Minimale stigninger bemærkedes (højst + 0,3 % efter eksposering). Alle fragmenteringsmængder er godt under 1 % efter 7 timers eksposering (Fig. 14).

### 2.14 Isoformprofil med lysbelastning (iCE2280)

Figur 15 er et søjlediagram, der viser hovedtopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksposering ved 765 W/m<sup>2</sup> (røde søjler).

Figur 16 er et søjlediagram, der viser surklyngetopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksposering ved 765 W/m<sup>2</sup> (røde søjler).

I Humira-RMP giver lyseksposeringen signifikante virkninger: mest relevant ses fald i hovedtophyppighed (cirka -9 %) og samtidig stigning i sur klynge (op til +15 %) i forbindelse med fotooxidationsfænomener.

Formuleringer i histidin fandtes at være mere udsatte for nedbrydning på grund af lyseksposering end RMP'en: faldet i hovedtophyppighed er -11,4 % (DoE2 -7) eller endnu mere (cirka -18 % for andre), stigninger i sur klynge gik op til +27 %.

Histidin er udsat for oxidation forvoldt af både omfattende lyseksposering og nedbrydningsprodukter (typisk peroxider) frigivet af polysorbater under belastende betingelser. Derfor er polysorbat 80 + histidin en kombination, som kan skabe forøget ustabilitet under lysbelastning.

For bedre at belyse virkningen af overfladeaktivt stof og bestemme, hvorvidt det er påkrævet for at forhindre proteinnedbrydning/partikeldannelse efter fryse-tø-cykler, udførtes målrettede forsøg, som viste at Polysorbat ikke giver nogen ekstra virkning. Dette kunne efterhånden lede til en reserveformulering med histidin uden overfladeaktivt stof.

### 2.15 Turbiditet med lysbelastning (nefelometri).

Figur 17 er et søjlediagram, der viser turbiditeten, som bestemt ved ne-

felometri, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før udsættelse for lys (blå søjler, tid=0) og efter 7 timers lyseksposering ved 765 W/m<sup>2</sup> (røde søjler). Der sås stort set ingen ændringer.

#### 2.16 pH-screening med lysbelastning

- 5 Variationen i pH-værdien i DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) over et tidsrum, hvorunder formuleringerne udsættes i 7 timer til lys ved 765 W/m<sup>2</sup> vises i Tabel 18. Der sås ingen ændringer.

Tabel 18: DoE2-screening: pH-værdi (lyseksposering)

Form #	Salt (NaCl) koncentration (mM)	Buffer-type (10 mM)	pH	Stabilisator	Overfladeaktivt stof (Polysorbat 80) koncentration (mg/ml)	Tid 0	Efter eksponering
DoE2-7	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0	6,4	6,5
DoE2-8	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	0,5	6,4	6,5
DoE2-9	50	Histidin	6,4	Trehalose dihydrat (200 mM)	1	6,4	6,5

10

#### 2.17 Virkning af overfladeaktivt stof på fryse-tø-cykler

- Isoformprofiler, aggregater og ikke-synlige partikler for de tre DoE2-formuleringer er blevet bestemt før og efter fem fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur) for at vurdere, hvorvidt det overfladeaktive stof udøver nogen virkning.

15

Figur 18 er et søjlediagram, der viser hovedtopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

20

Figur 19 er et søjlediagram, der viser surklyngetopisoprofilen, som bestemt ved iCE280-analyse, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

25

Figur 20 er et søjlediagram, der viser % ophobning, som bestemt ved SE-HPLC, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) sammen med standardreferencer (repræsenterende HUMIRA®-sammenligningsformuleringer) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

30

Figur 21 er et søjlediagram, der viser antalskoncentrationen (#/mg) af ikke-synlige partikler med en partikelstørrelse under eller lig med 10 mikrometer, som bestemt ved tællingsanalyse af ikke-synlige partikler, af DoE2-formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem

fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

Figur 22 er et søjlediagram, der viser antalskoncentrationen (#/mg) af ikke-synlige partikler med en partikelstørrelse under eller lig med 25 mikrometer, som bestemt ved tællingsanalyse af ikke-synlige partikler, af DoE2-  
5 formuleringerne (fra Eksempel 2) før (blå søjler, tid=0) og efter (røde søjler) fem fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur).

Der sås ingen ændringer i isoformer og aggregater (Fig. 18-20) efter fryse-tø-cykler, medens minimale, ikke-kritiske ændringer (Fig. 21-22) i ikke-synlige partikler bemærkedes og fandtes ikke at være forbundet med tilstedeværelsen af overfladeaktivt stof. Et større antal registrerede partikler i DoE2-8 skyldes mest sandsynligt prøvens fremstillingsmåde.  
10

Der vindes derfor intet ved at tilsætte et overfladeaktivt stof med det formål at forhindre partikel- og aggregatdannelse/proteinnedbrydning i løbet af fryse-tø-cyklerne. Dette understreger de nye formuleringers effektivitet uafhængigt af overfladeaktivt stof.  
15

#### Konklusion på screeningseksperiment 2

På grundlag af de indsamlede data af relevans for varmebelastning, mekanisk belastning og lysbelastning kan følgende konklusion drages:

20 Formuleringer i 10 mM histidinbuffer ved pH 6,4 (DoE2 -7, DoE2 - 8, DoE2 - 9):

- Ved varmebelastning fandtes en ydelse svarende til Humira;
- Minimal forøgelse af aggregering efter mekanisk omrystning;
- Forøget nedbrydning og isoformprofilændring med hensyn til Humira  
25 på grund af histidins følsomhed over for lys og nedbrydningsprodukter fra Polysorbat 80. Formuleringen uden Polysorbat 80 i denne gruppe (DoE2 - 7) er stadig lidt ringere end RMP, men langt bedre end de andre histidin + Polysorbat 80 (0,5 eller 1,0 mg/ml).

Tilstedeværelsen af Polysorbat 80 er blevet opgjort for at vurdere dets effektivitet og funktion som proteinbeskytter (beskyttelse mod fryse-tø-cykler). Efter 5 fryse-tø-cykler (-80 °C → stuetemperatur) sås det, at det overfladeaktive stof ikke giver nogen ekstra virkning, og anbefalingen er at gå videre med DoE2 - 7, som er fri for overfladeaktivt stof (50 mg/ml adalimumab, 200 mM trehalosedihydrat, 50 mM natriumchlorid i 10 mM histidin, pH 6,4).  
30

35 På grundlag af screeningsarbejdet udført på forskellige formuleringer, der varierer med hensyn til buffer/pH, stabilisator, mængde af isotonicitetsmiddel

(NaCl) og indhold af overfladeaktivt stof (Polysorbat 80), er den bedste sammensætning, som viser sammenlignelige eller endog forbedrede egenskaber i forhold til Humira efter forskellige belastende betingelser (varmebelastning, mekanisk belastning, lys) blevet identificeret som:

5 [0001]

Ingrediens	Mængde (mg/ml)
Adalimumab	50
Histidin (vandfri)	1,55 *
Trehalosedihydrat	75,67 **
Natriumchlorid	2,92 ***
WFI og natriumhydroxid	q.b. til indstilling af pH til 6,4

\* svarende til 10 mM histidin; \*\*svarende til 200 mM; \*\*\* svarende til 50 mM

Sådanne formuleringer kan uden videre inkorporeres i fyldte glassprøjter med 29G ½"-nåle.

10

## FORKORTELSER

	DoE	Forsøgsudformning
5	DP	Lægemiddelprodukt
	DS	Lægemiddelsubstans
	DSF	Differentielscanningfluorimetri
	OD	Optisk densitet
	PES	Polyethersulfon
10	opm	Omdrejninger per minut
	RT	Stuetemperatur
	SE-HPLC	Højtydende størrelsesudelukkelsesvæskechromatografi
	SMI	Summariske fremstillingsinstruktioner
	SOP	Standarddriftsprocedure
15	WI	Arbejdsvejledning

20

25

30

35

Yderligere udførelsesformer:

Yderligere aspekter og udførelsesformer af frembringelsen gengives i de nummererede afsnit nedenfor:

- 5 1. Væskeformig farmaceutisk sammensætning omfattende:
  - (a) adalimumab;
  - (b) et histidinbuffermiddel (eller histidinbuffersystem); og
  - (c) en sukkerstabilisator;hvor sammensætningen har en pH-værdi større end eller lig med 6,30.
- 10 2. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i afsnit 1, hvor sammensætningen har en pH-værdi mellem 6,3 og 6,5.
3. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sukkerstabilisatoren er trehalose.
- 15 4. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sammensætningen enten er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM.
- 20 5. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i afsnit 4, hvor sammensætningen er fri for andre aminosyrer end histidin.
6. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sammensætningen enten er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for overfladeaktive stoffer eller omfatter et eller flere overfladeaktive stoffer i en (samlet) koncentration på højst 0,001 M.
- 25 7. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sammensætningen er enten (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for arginin (fortrinsvis L-arginin) eller omfatter arginin i en koncentration på højst 0,1 mM.
- 30 8. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sammensætningen enten er (i det væsentlige eller fuldstændigt) fri for fosfatbuffermidler eller omfatter et fosfatbuffersystem i en koncentration på højst 0,1 mM.
9. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, omfattende et toniseringsmiddel udvalgt blandt natriumchlorid, kaliumchlorid, magnesiumchlorid eller calciumchlorid.
- 35 10. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor osmolaliteten af sammensætningen er

mellem 220 og 390 mOsm/kg.

11. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor proteinudfoldningstemperaturen for adalimumab i den væskeformige farmaceutiske sammensætning er større end  
5 eller lig med 70 °C.

12. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sammensætningen omfatter adalimumab, histidin (eller histidinbufferstoffer) og trehalose i et vægtforhold på 25-75: 0,31-7,8 : 15-140, henholdsvis.

10 13. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sammensætningen omfatter adalimumab, histidin (eller histidinbufferstoffer), trehalose og natriumchlorid i et vægtforhold på 45-55 : 0,77-2,2 : 65-72 : 2,7-3,1, henholdsvis.

15 14. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst foregående afsnit, hvor sammensætningen omfatter:

- 45 til cirka 55 mg/ml adalimumab;
- 5 til 14 mM histidin (eller histidinbuffersystem);
- 190 til 210 mM trehalose;
- 40 til 60 mM natriumchlorid;
- 20 - vand (af injektionsrenhed);

hvor sammensætningen:

- o har en pH-værdi mellem 6,3 og 6,5;
- o er fri for arginin eller omfatter arginin i en koncentration på højst 0,001 mM;
- 25 o er fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end histidin i en (samlet) koncentration på højst 0,001 mM;
- o er fri for overfladeaktive stoffer eller omfatter et eller flere overfladeaktive stoffer i en (samlet) koncentration på højst 0,0001 mM; og/eller
- o er fri for fosfatbuffermidler (f.eks. natriumdihydrogenfosfat, dinatriumhydrogenfosfat) eller omfatter et fosfatbuffersystem i en koncentration på højst 0,001 mM.
- 30

15. Lægemedeldispenseringsanordning omfattende en væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst af de foregående afsnit.

35 16. Væskeformig farmaceutisk sammensætning som beskrevet i et hvilket som helst af afsnittene 1 til 14 til anvendelse i behandling af rheumatoid

arthritis, psoriatisk arthritis, ankyloserende spondylitis, Crohns sygdom, ulcerativ colitis, moderat til svær kronisk psoriasis og/eller juvenil idiopatisk arthritis.

5

10

15

20

## B R U G S M O D E L K R A V

1. Vandig farmaceutisk sammensætning, der omfatter:
  - (a) adalimumab;
  - 5 (b) histidinbuffermiddel (eller histidinbuffersystem);
  - (c) sukkerstabilisator valgt fra gruppen, der indbefatter trehalose, sucrose, mannitol, sorbitol, maltose, lactose, xylitol, arabitol, erythritol, lactitol, maltitol, inositol; og
  - (d) polysorbat 20;
- 10 hvor sammensætningen:
  - enten er fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere andre aminosyrer end histidin ved en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM; og
  - enten er fri for fosfatbuffermidler eller omfatter et fosfatbuffersystem ved en koncentration på højst 0,1 mM;
- 15 hvor sammensætningen yderligere omfatter en citratbuffer.
  2. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge krav 1, hvor sammensætningen har en pH-værdi på mellem 5,0 og 6,7.
  3. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor sammensætningen omfatter adalimumab ved en koncentration på 25 mg/ml til 75 mg/ml.
  - 20 4. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor sammensætningen omfatter histidinbuffermidlet (eller histidinbuffersystemet) ved en koncentration på 2 til 50 mM.
  5. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af
  - 25 ovennævnte krav, hvor sammensætningen omfatter sukkerstabilisatoren ved en koncentration på 50 til 400 mM.
  6. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor sammensætningen omfatter polysorbat 20 ved en koncentration på 0,05 til 2 mg/ml.
  - 30 7. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor sammensætningen omfatter polysorbat 20 ved en koncentration på 0,9 til 1,5 mg/ml.
  8. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af
  - 35 ovennævnte krav, hvor sukkerstabilisatoren er en sukkeralkohol valgt fra gruppen, der består af sorbitol, xylitol, arabitol, erythritol, lactitol, maltitol og inositol.

9. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor sukkerstabilisatoren er sorbitol.

10. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor natriumchlorid er til stede ved en koncentration på mellem 25 og 100 mM, hvis sammensætningen omfatter natriumchlorid som et eventuelt tonicitetsmiddel.

11. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor sammensætningen omfatter:

- (a) 45 til 55 mg/ml adalimumab;
- 10 (b) 2 til 50 mM histidinbuffermiddel (eller histidinbuffersystem);
- (c) 50 til 300 mM sorbitol; og
- (d) 0,05 til 2 mg/ml polysorbat 20;

hvor sammensætningen:

- enten er fri for andre aminosyrer end histidin eller omfatter en eller flere 15 andre aminosyrer end histidin ved en (samlet) koncentration på højst 0,1 mM; og
- enten er fri for fosfatbuffermidler eller omfatter et fosfatbuffersystem ved en koncentration på højst 0,1 mM.

12. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav, hvor sammensætningen omfatter:

- 20 (a) 45 til 55 mg/ml adalimumab;
- (b) 2 til 50 mM histidinbuffermiddel (eller histidinbuffersystem);
- (c) 50 til 300 mM sorbitol; og
- (d) 0,9 til 1,5 mg/ml polysorbat 20;

hvor sammensætningen:

- 25 • har et pH på mellem 5,0 og 6,7;
- er fri for andre aminosyrer end histidin; og
- er fri for fosfatbuffermidler.

13. Lægemedeldispenseringsanordning, der omfatter en vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af ovennævnte krav.

30 14. Vandig farmaceutisk sammensætning ifølge et hvilket som helst af kravene 1 til 12 til anvendelse til behandling af rheumatoid arthritis, psoriatisk arthritis, ankyloserende spondylitis, Crohns sygdom, ulcerativ colitis, moderat til svær kronisk psoriasis og/eller juvenil idiopatisk arthritis.

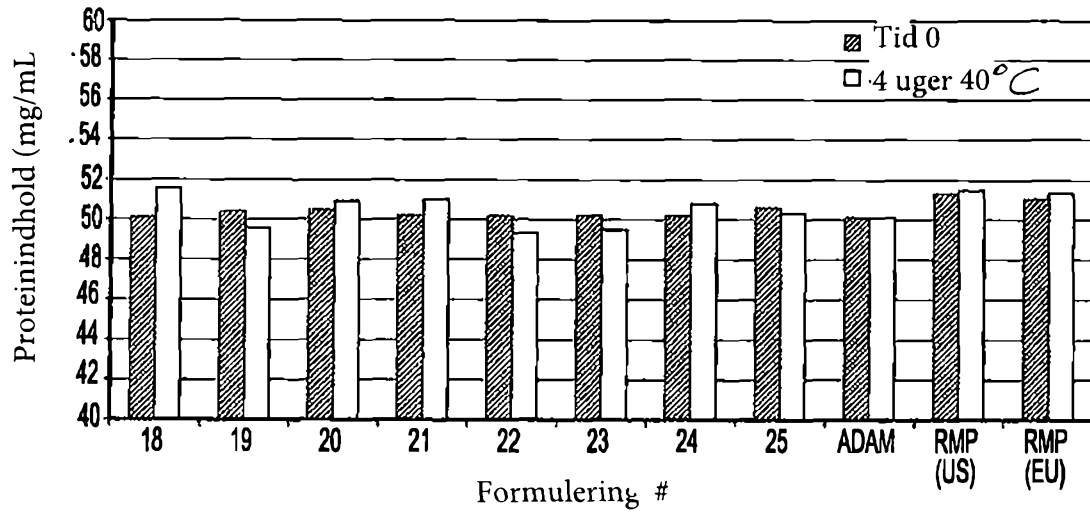


FIG. 1

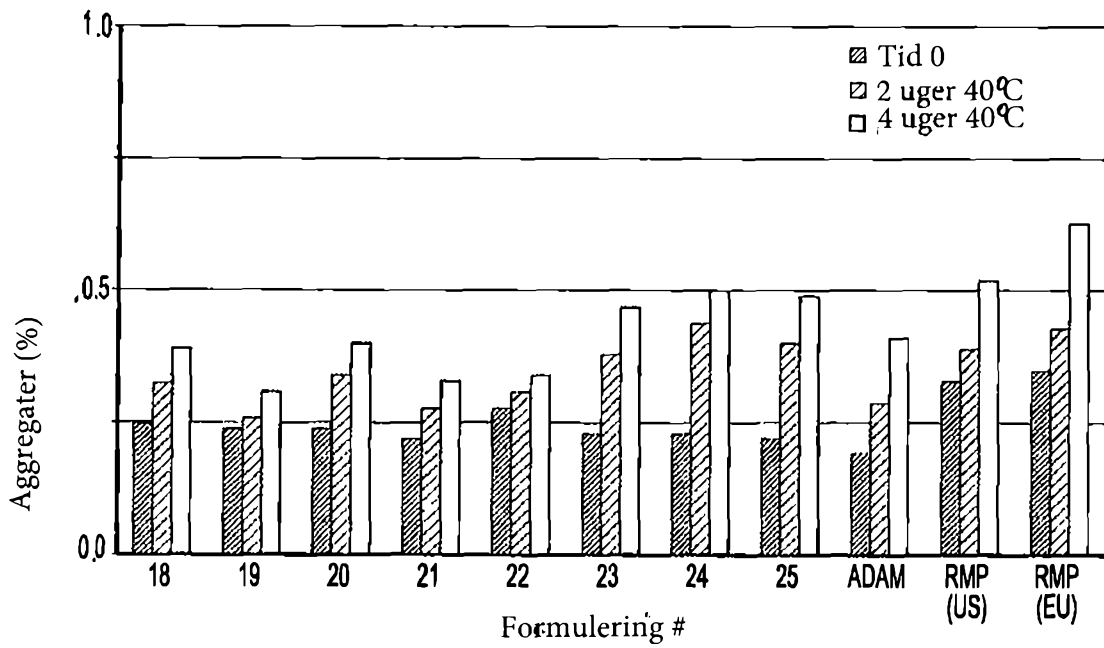


FIG. 2

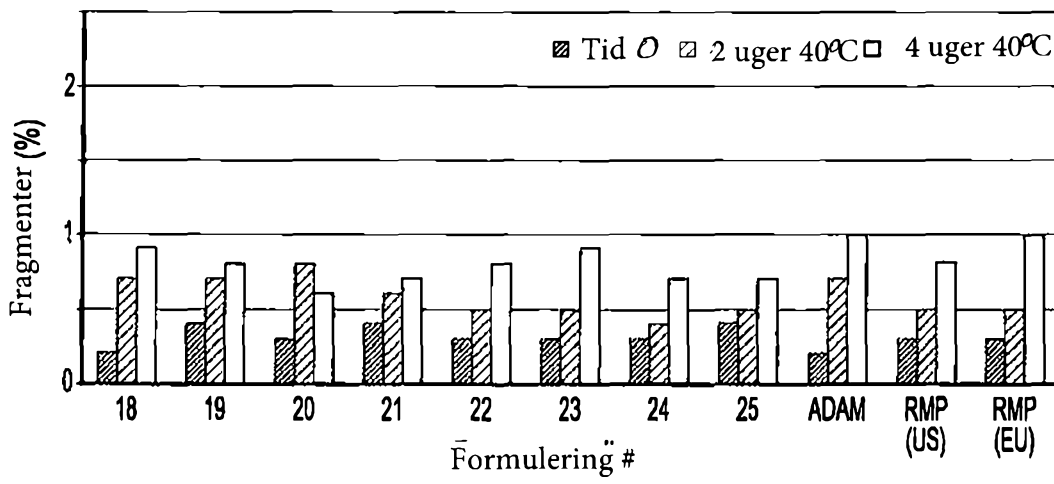


FIG. 3

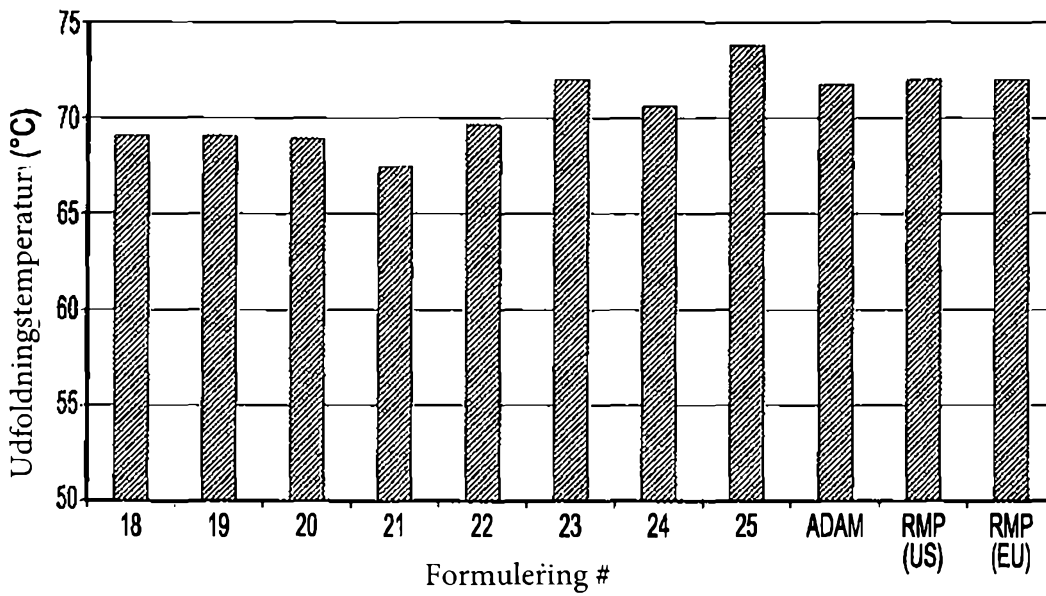


FIG. 4

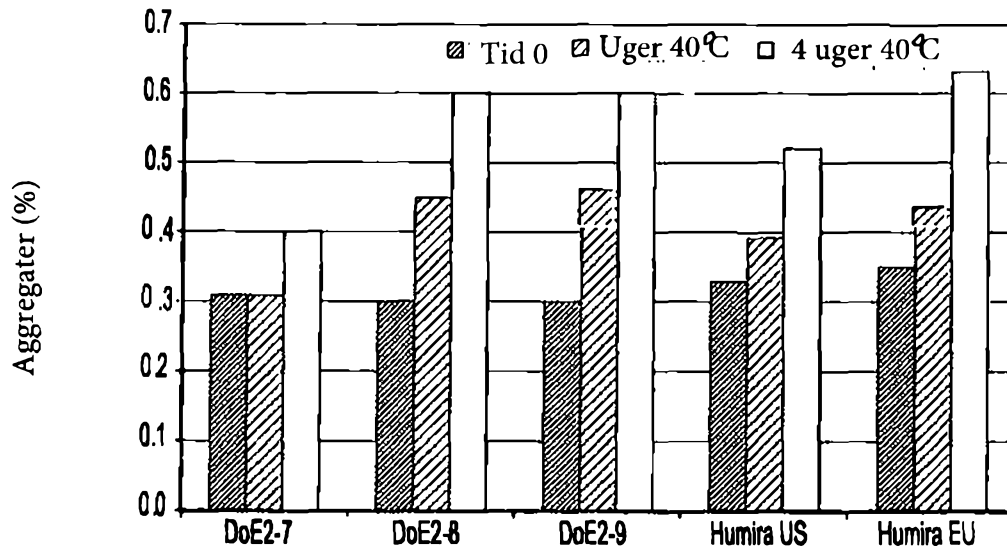


FIG. 5

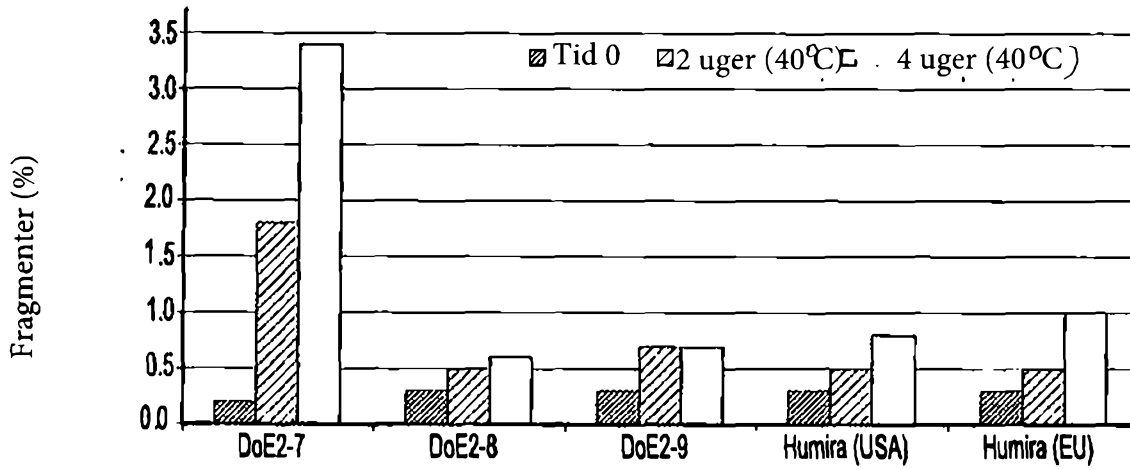


FIG. 6

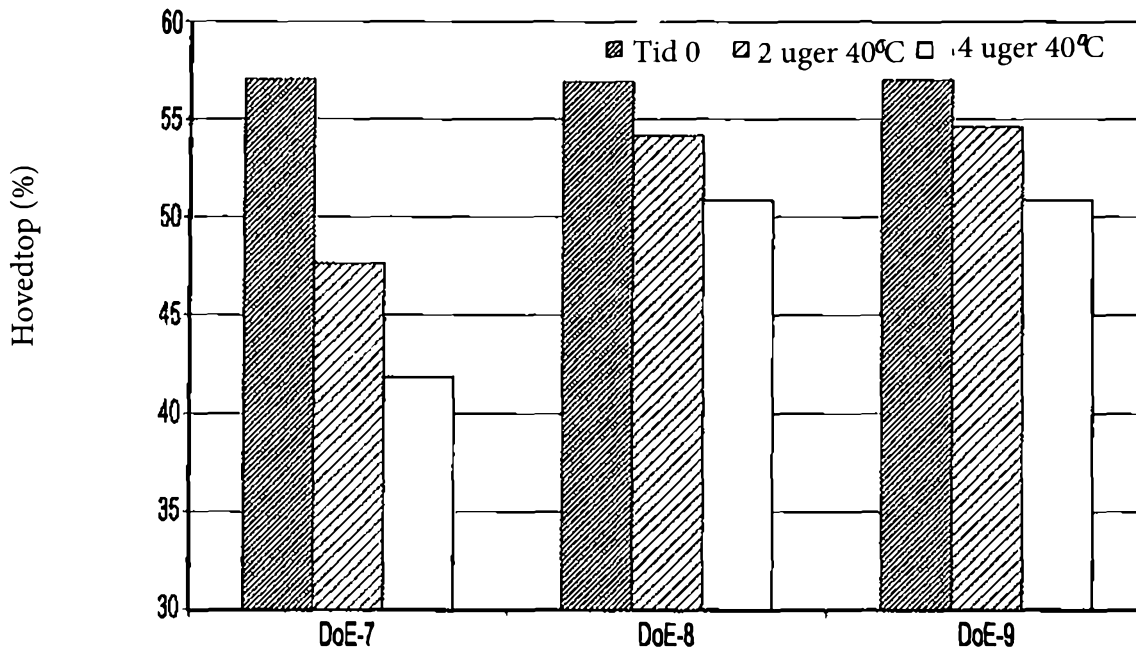


FIG. 7

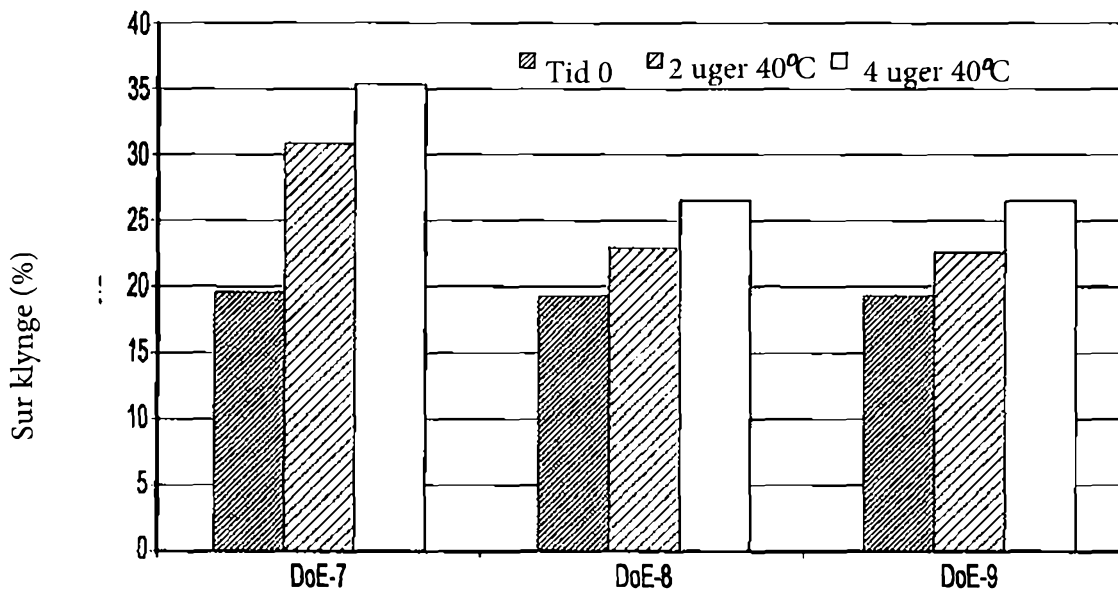


FIG. 8

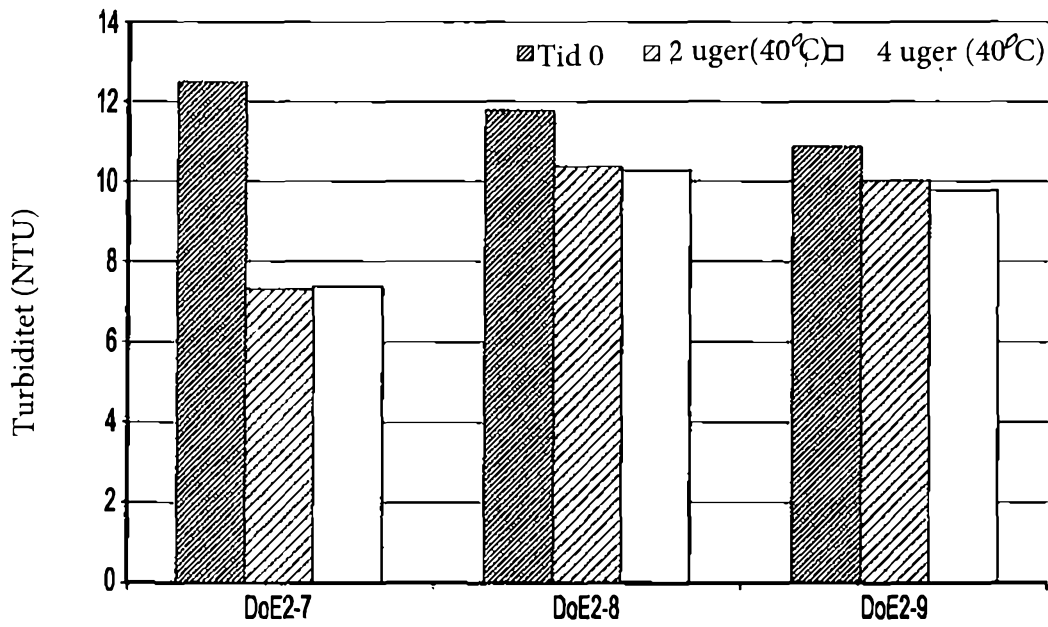


FIG. 9

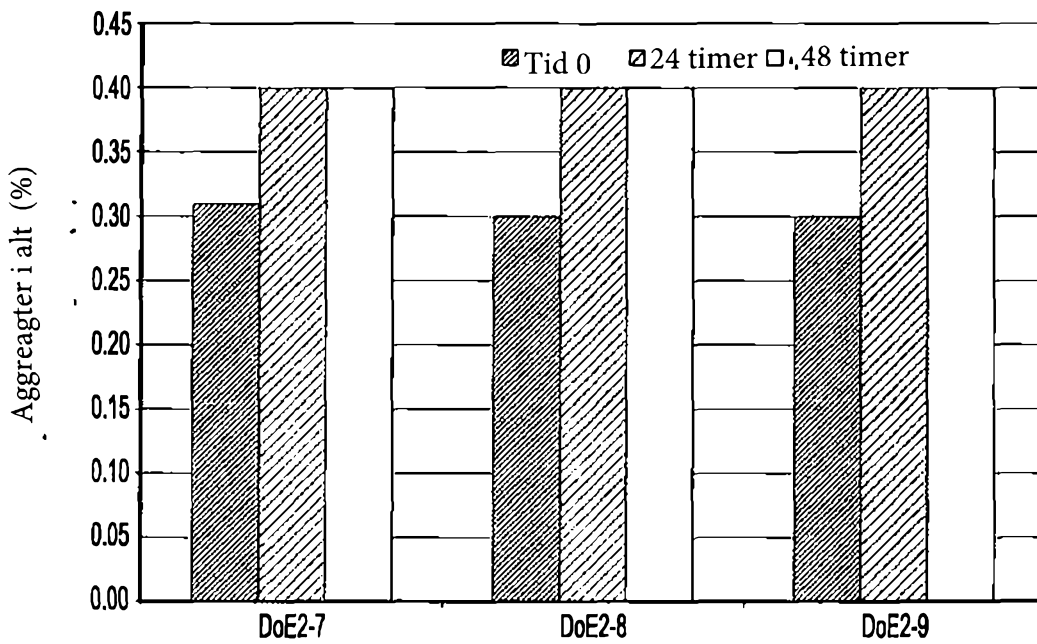


FIG. 10

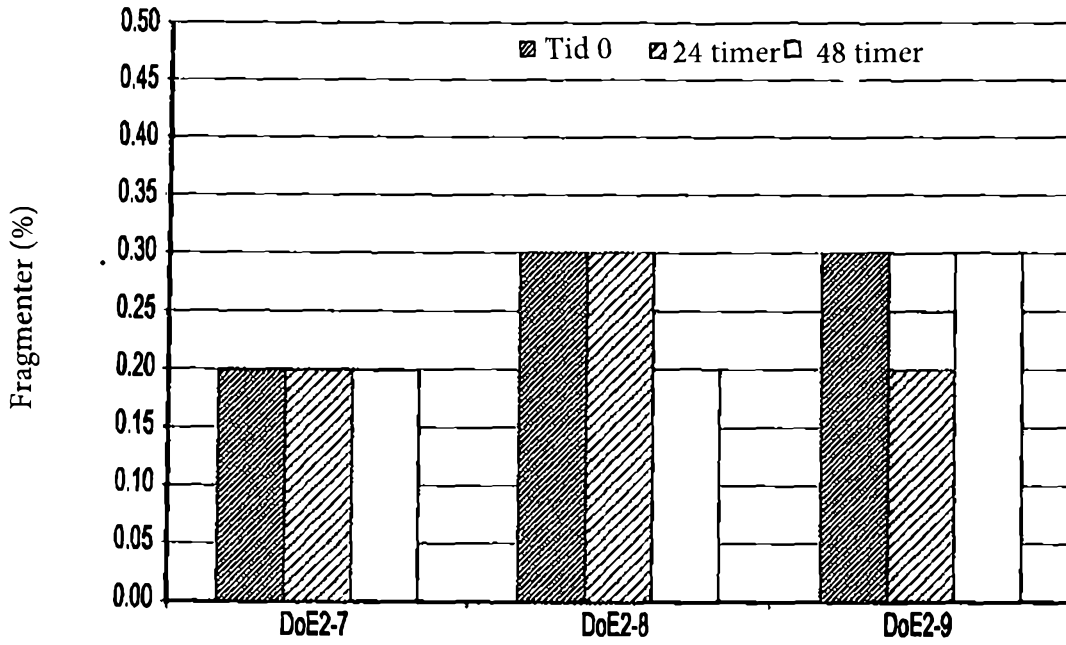


FIG. 11

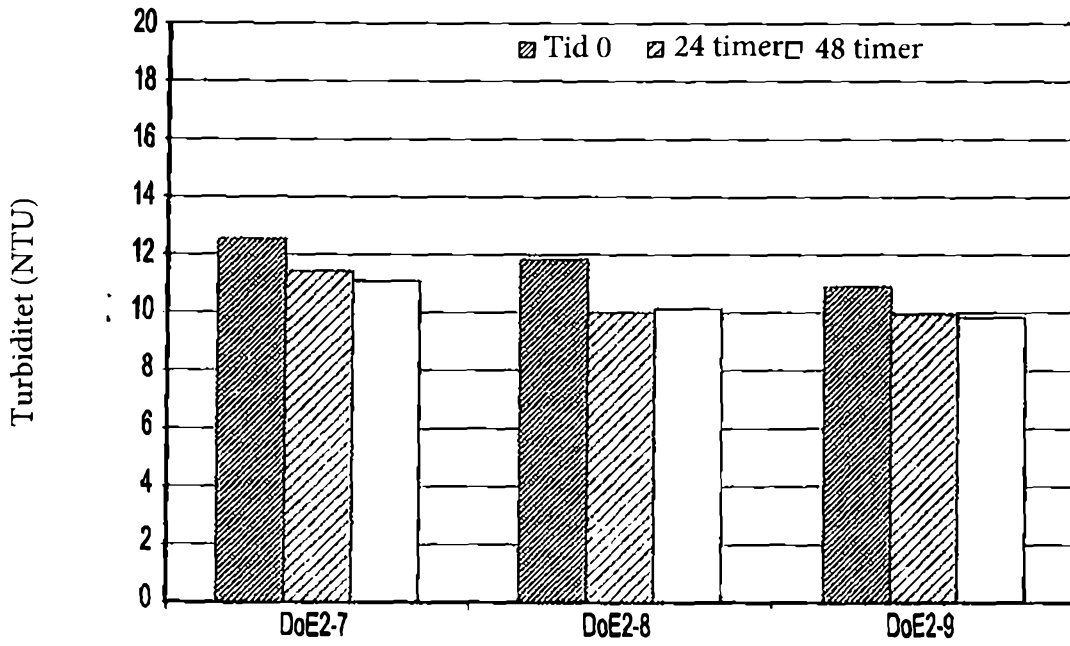


FIG. 12

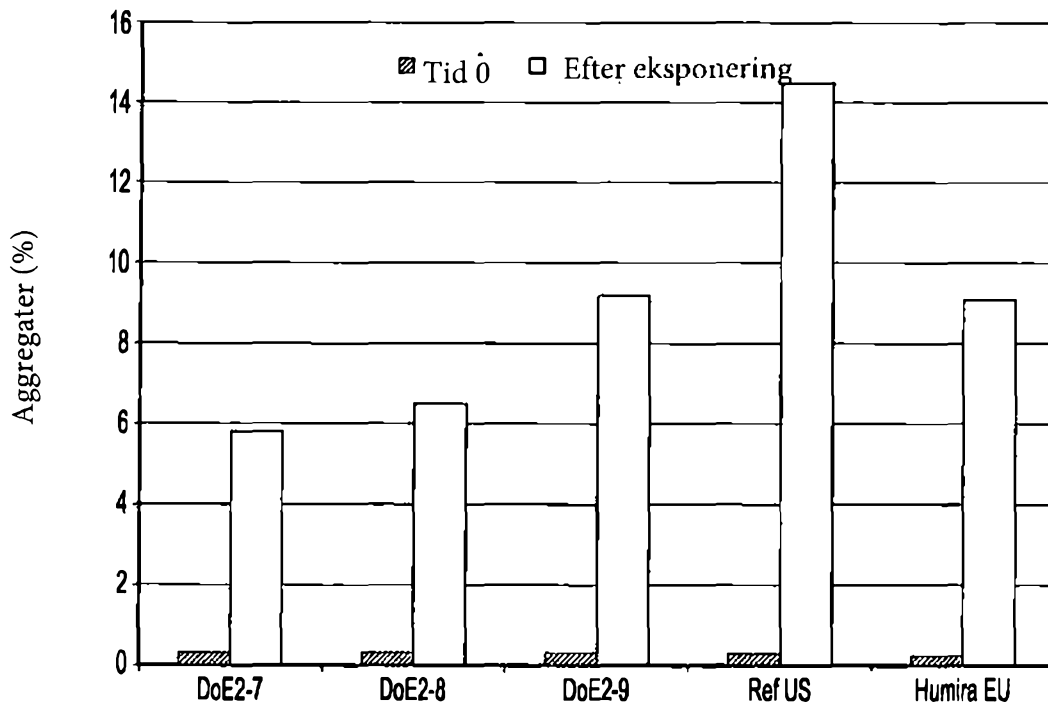


FIG. 13

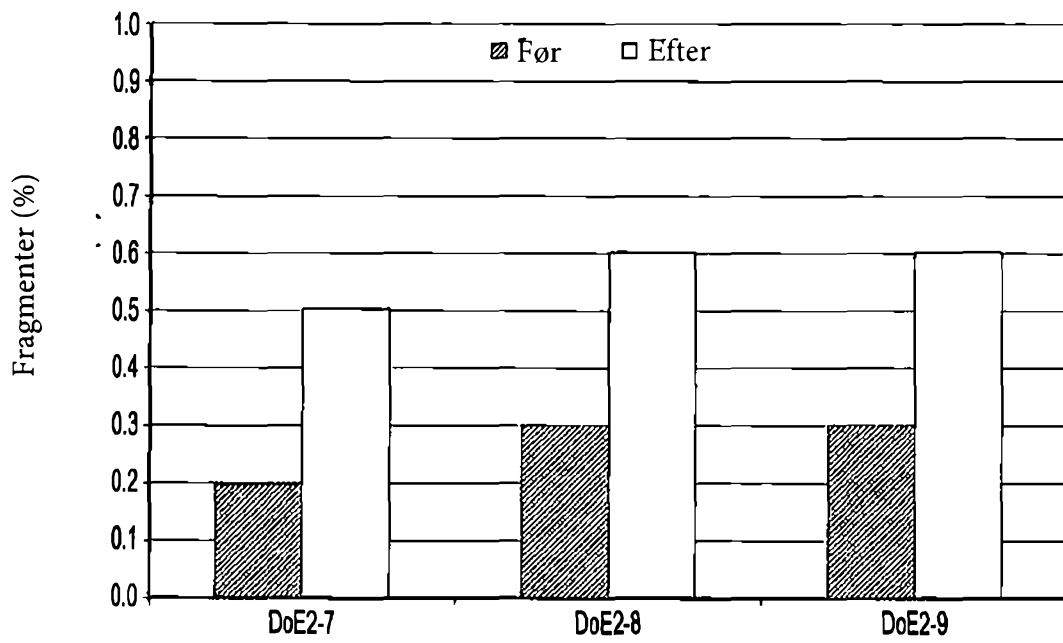


FIG. 14

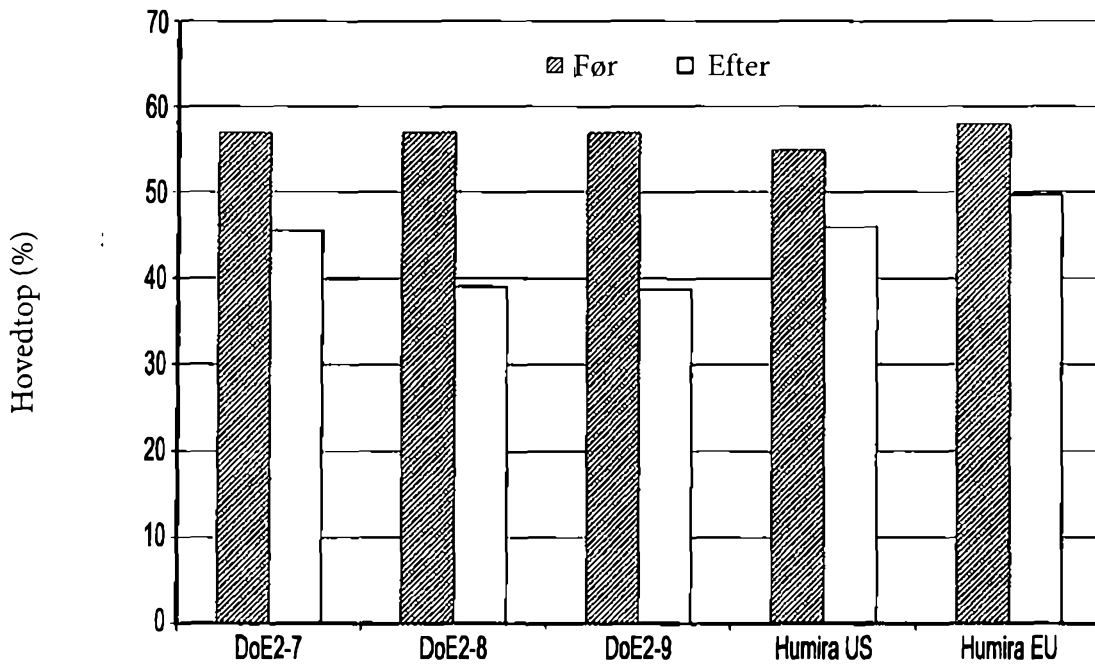


FIG. 15

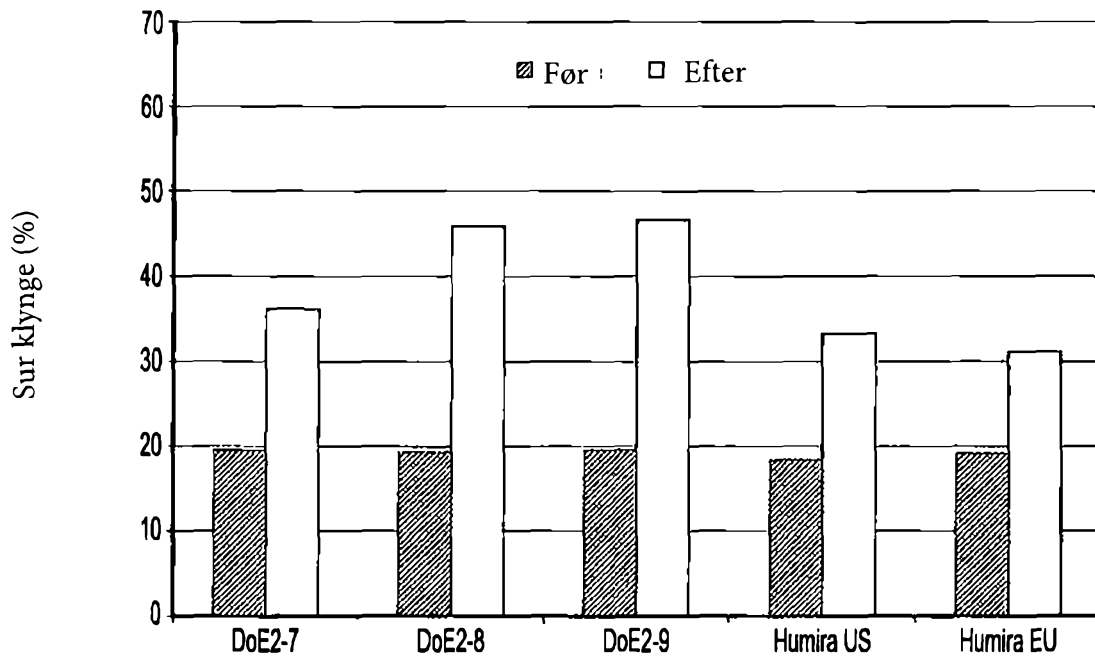


FIG. 16

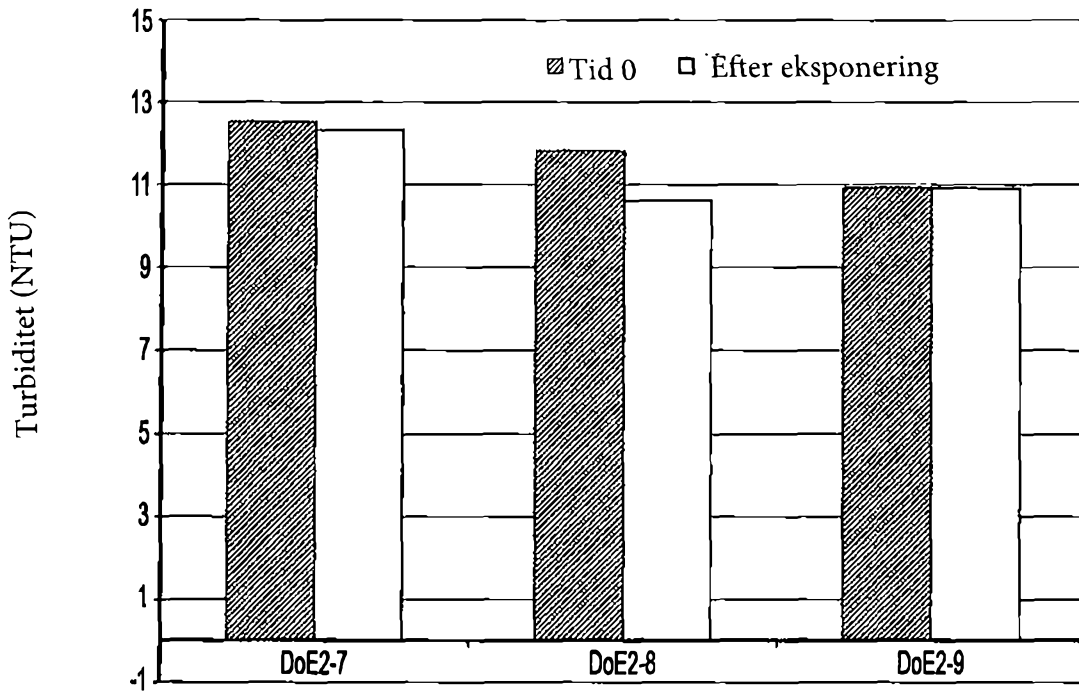


FIG. 17

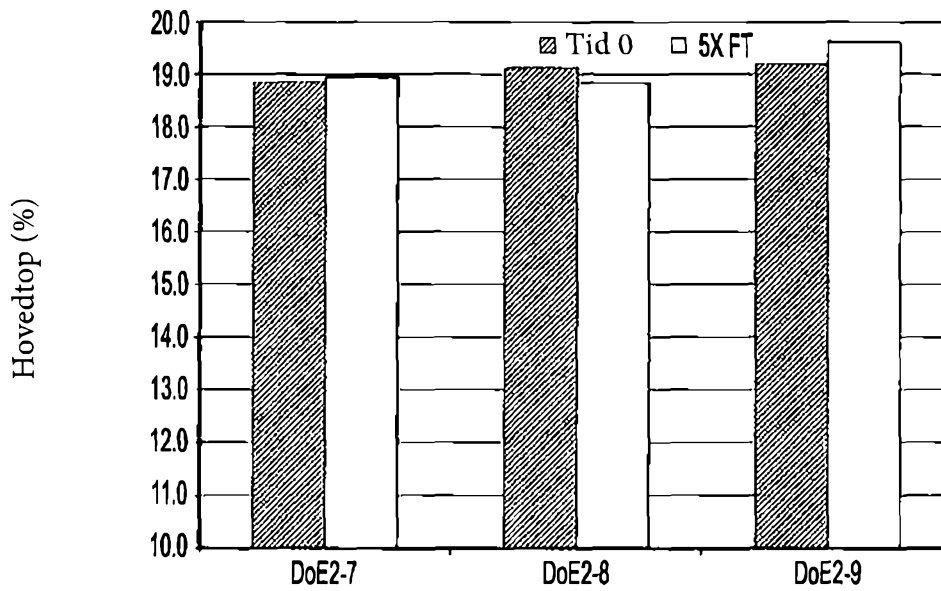


FIG. 18

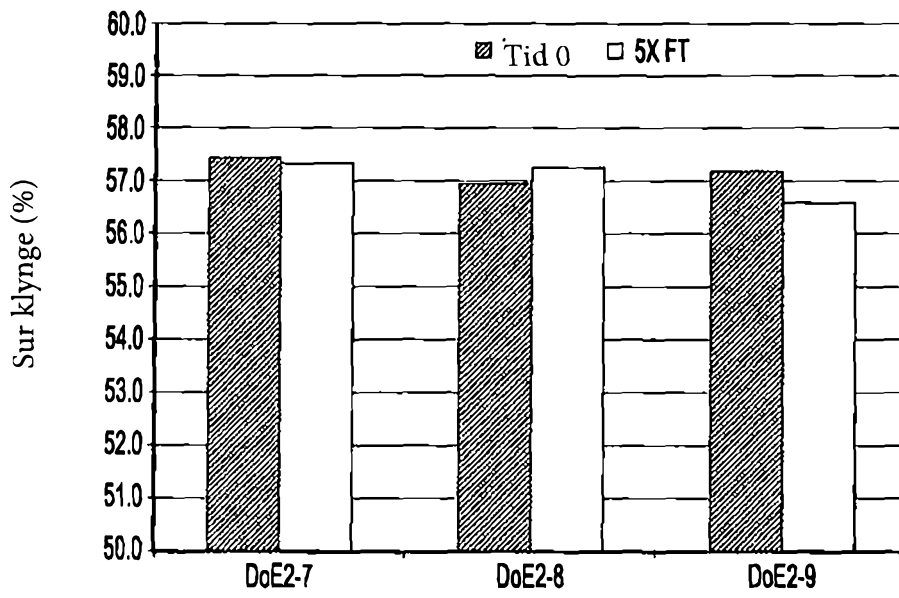


FIG. 19

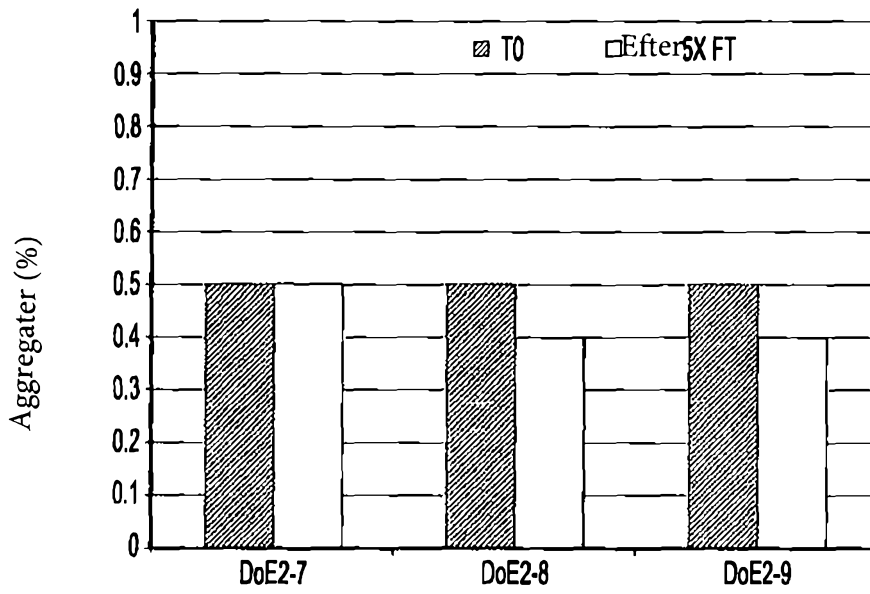


FIG. 20

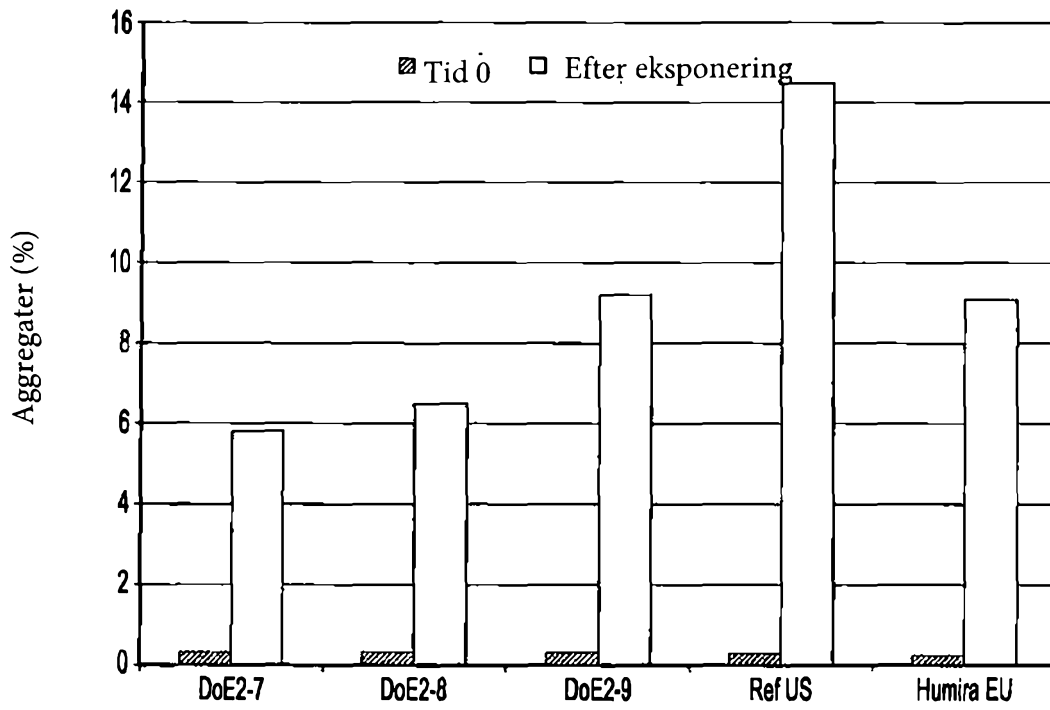


FIG. 13

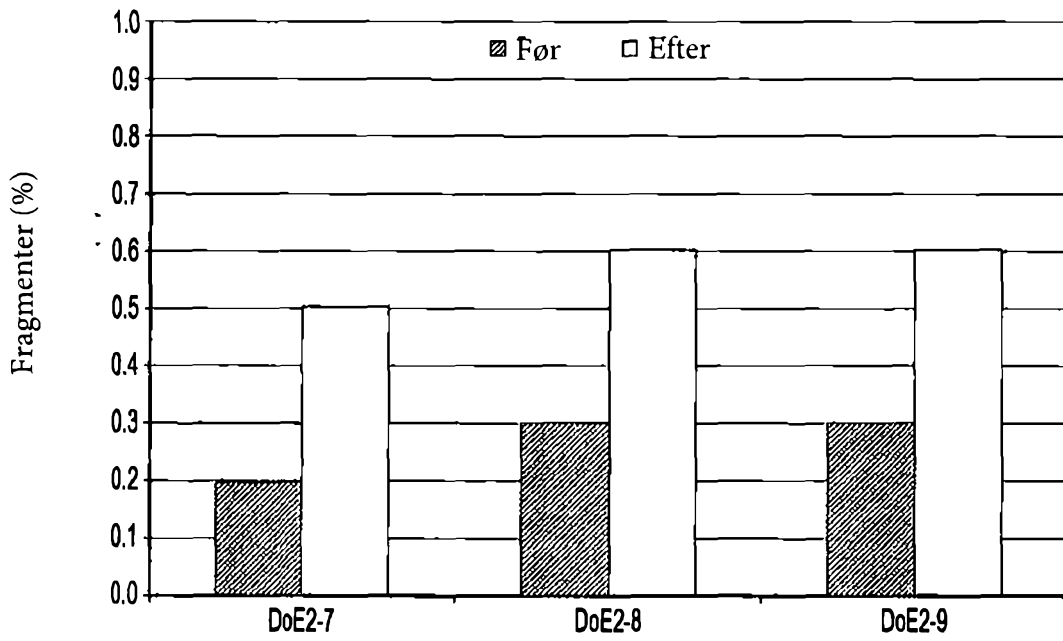


FIG. 14

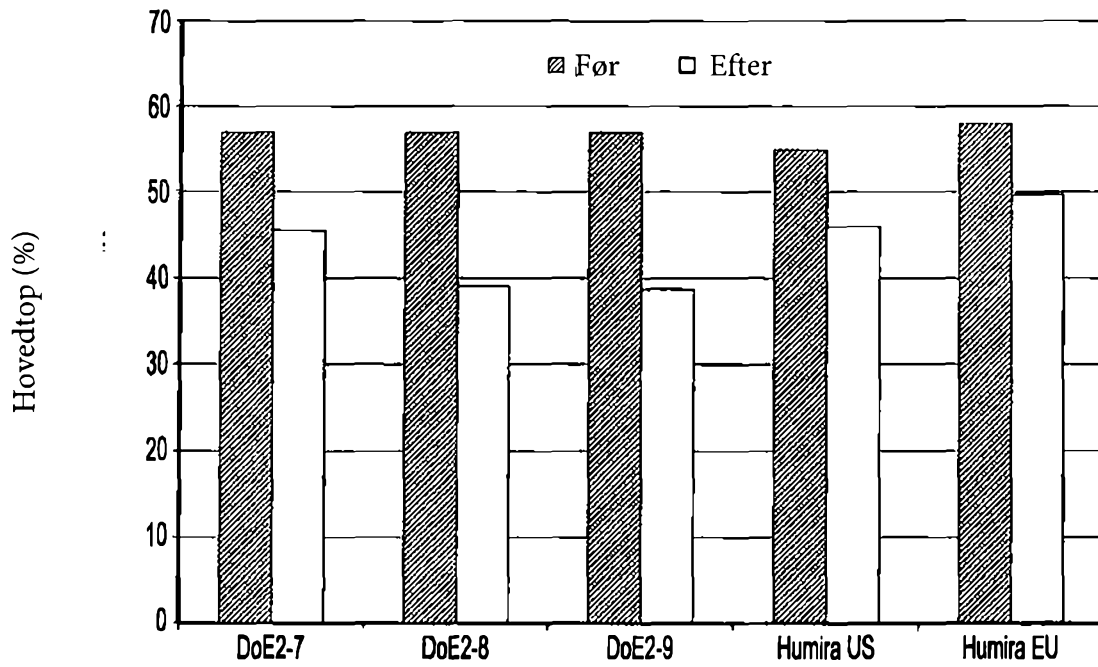


FIG. 15

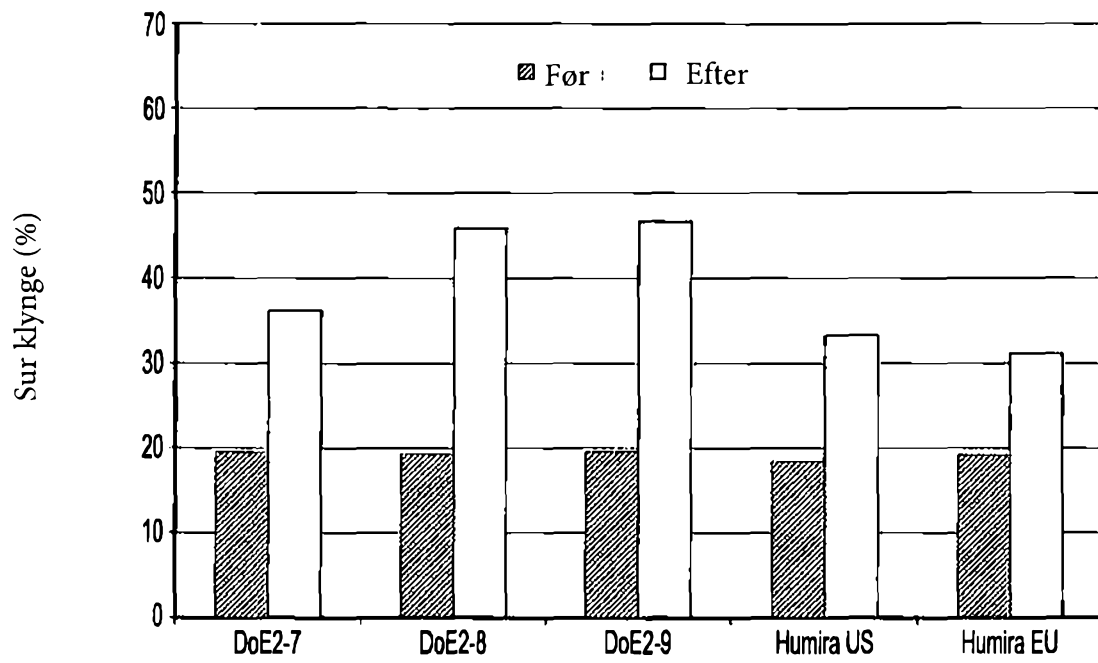


FIG. 16

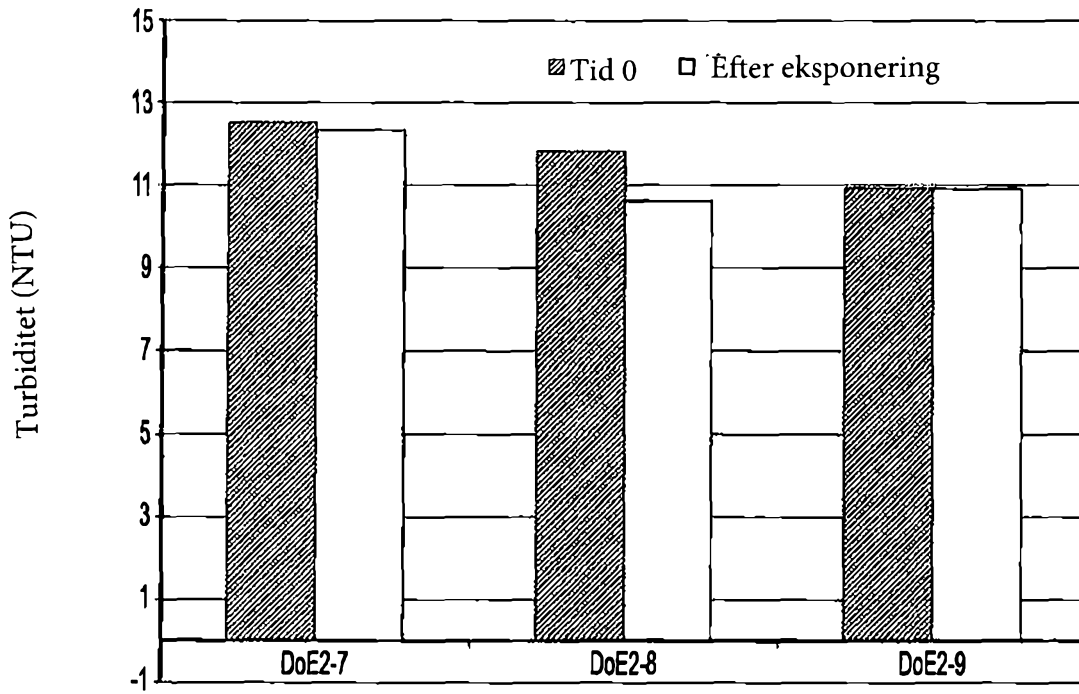


FIG. 17

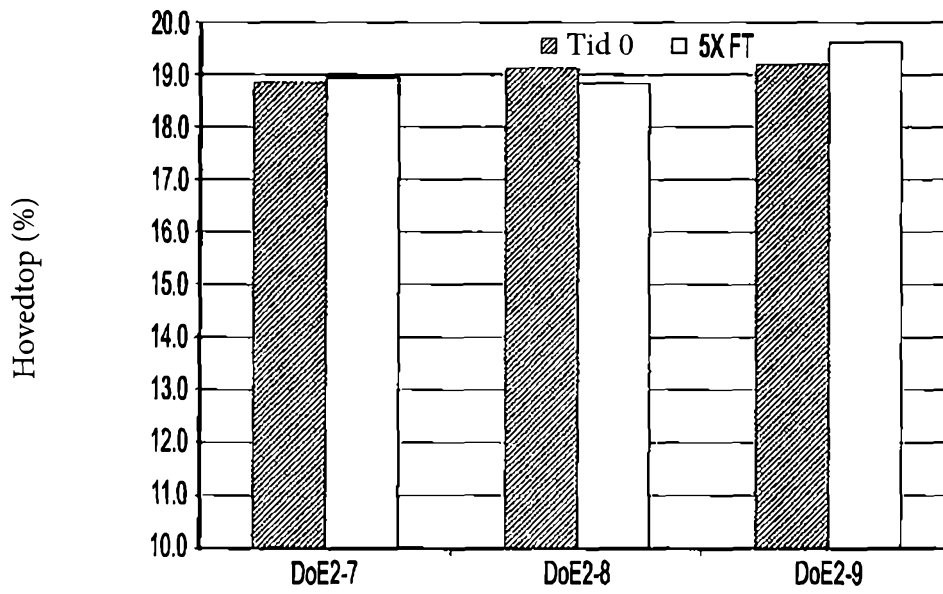


FIG. 18

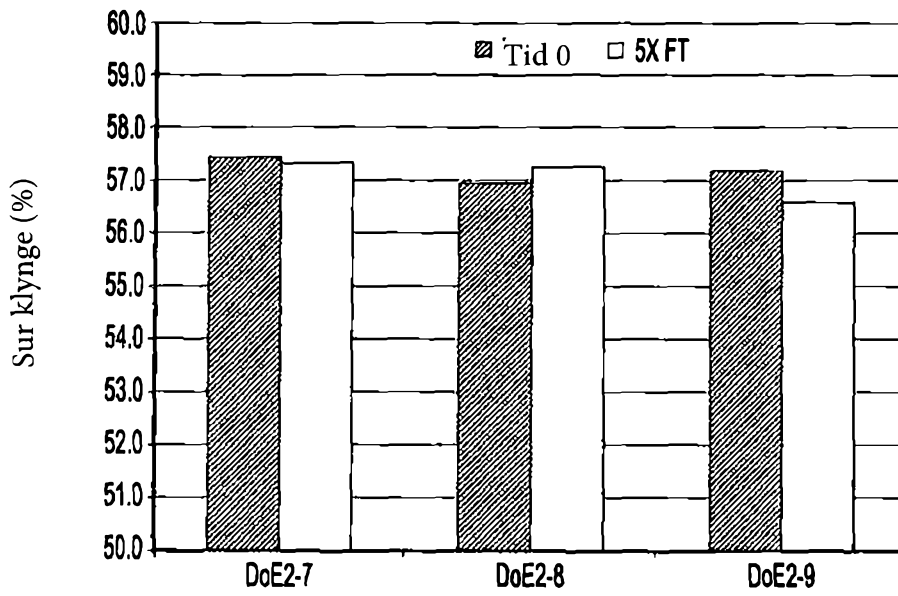


FIG. 19

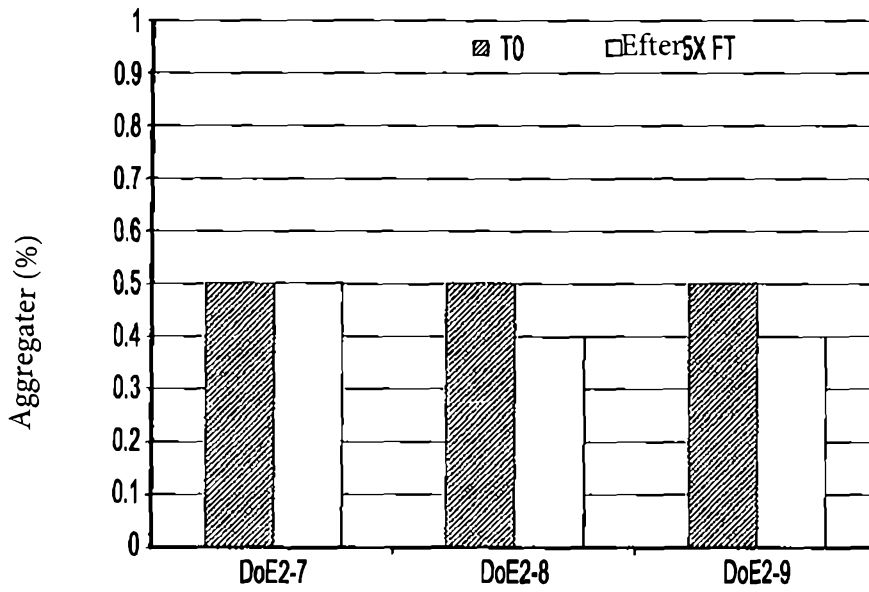


FIG. 20

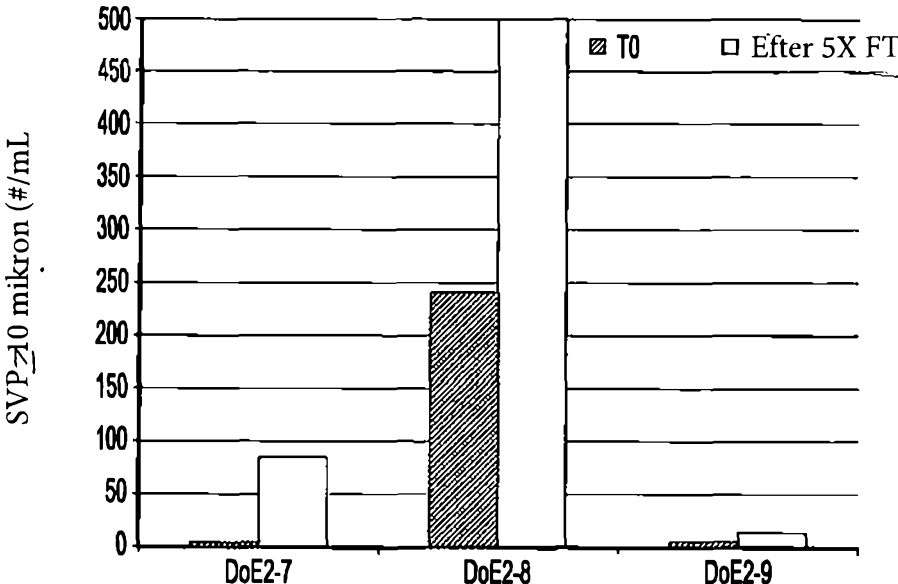


FIG. 21

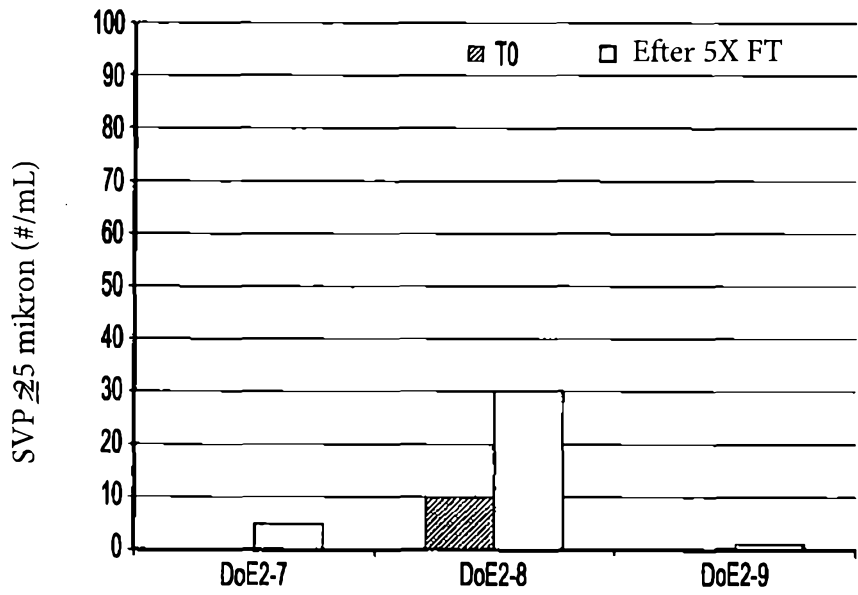


FIG. 22