

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 977 545**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.05.2017** **PCT/EP2017/061261**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.11.2017** **WO17194646**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.05.2017** **E 17725544 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2024** **EP 3454899**

54 Título: **Composición farmacéutica**

30 Prioridad:

12.05.2016 GB 201608323

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
26.08.2024

73 Titular/es:

UCB BIOPHARMA SRL (100.0%)

Allée de la Recherche 60

1070 Brussels, BE

72 Inventor/es:

YATES, ANDREW JEFFREY y

MASSANT, JAN IVO

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por la
Oficina Europea de Patentes

ES 2 977 545 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica

Campo de la invención

5 La presente invención pertenece al campo de las formulaciones farmacéuticas. Más específicamente, se refiere a una composición farmacéutica, líquida o liofilizada, que comprende un anticuerpo, sacarosa, un aminoácido o una mezcla de aminoácidos y un tensioactivo.

Antecedentes de la invención

10 La fabricación industrial de anticuerpos terapéuticos es una tarea compleja. Requiere una ampliación de los procedimientos desarrollados en un laboratorio para producir anticuerpos en cantidades de miligramos a cantidades de varios kilogramos. A pesar de que los anticuerpos son moléculas bastante estables, cuando se almacenan a alta concentración durante un período de tiempo, pueden, sin embargo, sufrir inestabilidad química y física. La inestabilidad química típica puede resultar en desamidación, hidrólisis, oxidación, beta-eliminación, intercambio de disulfuro o reducción. La inestabilidad física puede resultar en desnaturalización, agregación o precipitación.

15 Si bien las formulaciones líquidas se pueden administrar con una preparación mínima, tienen el inconveniente de ser menos estables a lo largo del tiempo. Las formulaciones líquidas a base de agua son particularmente complejas; el agua actúa como un reactivo o facilita la transferencia de reactivos que conducen a la degradación química y la inestabilidad de las proteínas. La estabilización de proteínas en formulaciones líquidas para evitar o minimizar la agregación, precipitación o degradación sigue siendo un desafío particular. La agregación, con la formación de materia insoluble o precipitado, es un problema particular. Esto puede causar diversos problemas tales como la formación de agregados que podrían conducir a reacciones inmunológicas tras la administración y/o dificultad para realizar la administración adecuada de la formulación farmacéutica, por ejemplo, causando el bloqueo del dispositivo de administración.

20 Los anticuerpos se pueden formular en forma liofilizada, es decir, secada por congelación para su reconstitución en un disolvente poco antes de la administración. Las formulaciones liofilizadas de anticuerpos tienden a ser más estables que las formulaciones líquidas a base de agua. La liofilización facilita el logro de altas concentraciones del anticuerpo en la formulación final, reduciendo así el volumen de inyección, así como el tiempo de inyección.

25 Además, la liofilización (secado por congelación) es el procedimiento de elección para la estabilización durante el almacenamiento a largo plazo de anticuerpos monoclonales que de otro modo serían inestables en forma líquida. Liofilizar anticuerpos a una temperatura más baja reduce el daño a los productos y ayuda a retener la integridad molecular.

30 Esto prolonga la vida útil, reduce el requisito de temperatura para el envío y conserva las propiedades químicas y biológicas de los anticuerpos.

Los anticuerpos, como otras proteínas, sufren desnaturalización tras la liofilización en ausencia de estabilizadores. Normalmente se añaden diferentes estabilizadores, como azúcares o polioles, a las formulaciones para proteger los anticuerpos contra la degradación durante la liofilización y el almacenamiento. Los documentos WO2013148686, WO2005047327, WO2012135408, US2014220027 y WO2009100318, WO2015121318 o WO2007132480 son ejemplos de formulaciones específicas a base de proteínas que comprenden sacarosa.

35 El nivel de estabilización proporcionado por los azúcares o polioles generalmente depende de sus concentraciones. El aumento de la concentración de azúcar/poliole a un cierto nivel puede eventualmente alcanzar un límite de estabilización o incluso desestabilizar una proteína durante la liofilización, por lo que se requiere una concentración específica de estabilizador para la proteína para la estabilidad de almacenamiento de un anticuerpo liofilizado (Chang L, et al. J Pharm Sci. 2005; 94:1445-55). El nivel de estabilizadores utilizados para la protección durante la liofilización depende de la composición de la formulación, la concentración y las propiedades físicas del estabilizador, y su compatibilidad con el anticuerpo. El mecanismo de estabilización durante el secado es que el estabilizador actúa como un sustituto del agua. La interacción entre el agua y las proteínas es fundamental para la estabilidad conformacional de las proteínas. Cuando se elimina el agua durante el secado, los estabilizadores pueden formar enlaces de hidrógeno con la proteína, como lo hacen las moléculas de agua, preservando así la estructura de la proteína nativa durante el procedimiento de liofilización (Chang L, et al. J Pharm Sci. 2005; 94:1445-55).

40 A pesar de que la liofilización es una buena opción para lograr el almacenamiento a largo plazo deseado para los anticuerpos, no existe un protocolo simple y universal para formular anticuerpos. Los anticuerpos pueden volverse inestables durante los procedimientos de liofilización y/o almacenamiento a largo plazo, se pueden formar agregados tras la reconstitución o las tortas liofilizadas pueden tardar demasiado en reconstituirse. Una alta concentración de estabilizadores puede afectar las propiedades físico-químicas (es decir, las viscosidades) de la formulación final.

50 Dado lo anterior, sigue existiendo la necesidad en la técnica de proporcionar composiciones farmacéuticas mejoradas adicionales de anticuerpos adecuados para la liofilización.

Resumen de la invención

La presente invención aborda la necesidad identificada anteriormente al proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo o un fragmento del mismo adecuado para liofilización (es decir, secado por congelación). Las composiciones farmacéuticas resultantes se pueden proporcionar como composiciones liofilizadas (es decir, secadas por congelación) que se pueden reconstituir en un disolvente en el momento del uso o como formulaciones líquidas reconstituidas listas para la administración. La reconstitución en volúmenes reducidos permite lograr una formulación con altas concentraciones de anticuerpo o fragmento del mismo con un bajo nivel de agregación y tiempo de administración.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Tiempo de reconstitución tras la liofilización. El tiempo de reconstitución (tiempo de recon) se muestra en el eje y en minutos por cada una de las formulaciones (eje x) de la Tabla 2.

Figura 2. Formación de agregados por SEC. Los agregados totales como % de área se muestran en el eje y para cada una de las formulaciones (eje x) de la Tabla 2.

Figura 3. Formación de agregados HMW por DLS. Las intensidades (**como %**) se graficaron en el eje y para cada formulación (eje x) de la Tabla 2.

Figura 4. Variantes de carga. La formación de variantes ácidas (A) y básicas (B) se graficó en función del % de área (eje y) por cada formulación (eje x) de la Tabla 2.

Figura 5. Viscosidad. La viscosidad (cP) se muestra en el eje y para cada formulación (eje x) de la Tabla 2.

Figura 6. Osmolalidad. La osmolalidad (mOsm/kg) se muestra en el eje y para **cada** formulación (eje x) de la Tabla 2.

Figura 7. Tiempo de reconstitución tras la liofilización. El tiempo de reconstitución (tiempo de recon) se muestra en el eje y en minutos por cada una de las formulaciones (eje x) de la Tabla 5.

Figura 8. Formación de agregados por SEC. Los agregados totales como % de área se muestran en el eje y para cada una de las formulaciones (eje x) de la Tabla 5.

Figura 9. Formación de agregados HMW por DLS. Las masas (**como %**) se graficaron en el eje y para cada formulación (eje x) de la Tabla 5.

Figura 10. Variantes de carga. La formación de variantes ácidas (A) y básicas (B) se graficó en función del % de área (eje y) por cada formulación (eje x) de la Tabla 5 que comprende el anticuerpo anti-FcRn a 100 mg/mL.

Figura 11. Variantes de carga. La formación de variantes ácidas (A) y básicas (B) se graficó en función del % de área (eje y) por cada formulación (eje x) de la Tabla 5 que comprende un anticuerpo anti-FcRn a 140 mg/mL.

Figura 12. Viscosidad. La viscosidad (cP) se muestra en el eje y para cada formulación (eje x) de la Tabla 5.

Figura 13. Osmolalidad. La osmolalidad (mOsm/kg) se muestra en el eje y para **cada** formulación (eje x) de la Tabla 5.

Descripción detallada de la invención

La composición farmacéutica en función de la invención comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que comprende una región variable ligera como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada como se define en la SEQ ID NO: 8; de 1 % a 20 % p/v de sacarosa; un aminoácido o una mezcla de aminoácidos; un tensioactivo y un pH de 4,0 a 7,5.

La concentración de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo en la composición farmacéutica puede ser de 1 a 200 mg/mL, preferentemente de 50 a 150 mg/mL, más preferentemente de 80 a 140 mg/mL.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprendido en la composición farmacéutica en función de la invención se une específicamente a FcRn humano.

La expresión «se une específicamente a FcRn humano», «uniéndose específicamente a FcRn humano» y equivalentes, como se emplea en esta memoria, significan que el anticuerpo se unirá a FcRn humano con suficiente afinidad y especificidad para lograr un efecto biológicamente significativo. El anticuerpo seleccionado normalmente tendrá una afinidad de unión por FcRn humano, por ejemplo, el anticuerpo puede unirse a FcRn humano con un valor de K_d de entre 100 nM y 1 pM. Las afinidades de anticuerpos se pueden determinar, por ejemplo, mediante un ensayo de bases de resonancia de plasmón superficial, tal como el ensayo BIAcore; ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA); y ensayos de competencia (por ejemplo, RIA). Dentro del significado de la presente invención, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a FcRn humano también puede

unirse a otra molécula, por ejemplo, FcRn de cyno o tal como a modo de ejemplo en el caso de un anticuerpo biespecífico.

FcRn es un complejo no covalente de la cadena α de la proteína de membrana FcRn y la microglobulina p2 (β 2M). En mamíferos adultos, FcRn desempeña un papel clave en el mantenimiento de los niveles de anticuerpos en suero al actuar como un receptor que se une y recupera anticuerpos del isotipo IgG. Las moléculas de IgG son endocitadas por las células endoteliales, y si se unen a FcRn, se reciclan transcitadas, por ejemplo, en la circulación. Por el contrario, las moléculas de IgG que no se unen a FcRn entran en las células y se dirigen a la vía lisosómica donde se degradan. Una variante de IgG1 en la que His435 se muta a alanina da como resultado la pérdida selectiva de la unión a FcRn y una semivida en suero significativamente reducida (Firan et al. 2001, International Immunology 13:993).

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a FcRn humano, preferentemente también neutraliza FcRn humano.

El término "neutraliza", como se emplea en esta memoria, se refiere a un anticuerpo que inhibe o reduce sustancialmente el efecto biológico de la molécula a la que se une específicamente. Por lo tanto, la expresión "el anticuerpo neutraliza FcRn humano" se refiere a un anticuerpo que se une específicamente a FcRn humano e inhibe o reduce sustancialmente el efecto biológico del mismo, tal como mediante el bloqueo de la unión de FcRn a IgG.

El término "anticuerpo" o "anticuerpos", como se emplea en esta memoria, se refiere a anticuerpos monoclonales o policlonales, que incluyen anticuerpos recombinantes que se generan mediante tecnologías recombinantes como se conoce en la técnica.

Preferentemente, el anticuerpo comprendido en la composición farmacéutica en función de la invención es un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a FcRn humano.

"Anticuerpo" o "anticuerpos" incluyen anticuerpos de cualquier especie, en particular de especies de mamíferos, que tienen dos cadenas pesadas esencialmente completas y dos cadenas ligeras esencialmente completas, anticuerpos humanos de cualquier isotipo, que incluyen IgA₁, IgA₂, IgD, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG₃, IgG₄, IgE e IgM y variantes modificadas de los mismos, anticuerpos de primates no humanos, por ejemplo, de chimpancé, babuino, rhesus o mono cynomolgus, anticuerpos de roedores, por ejemplo, de ratón, rata o conejo; anticuerpos de cabra o caballo, y derivados de los mismos, o de especies de aves tales como anticuerpos de pollo o de especies de peces tales como anticuerpos de tiburón. El término "anticuerpo" o "anticuerpos" también se refiere a anticuerpos "quiméricos" en los que una primera parte de al menos una secuencia de anticuerpo de cadena pesada y/o ligera es de una primera especie y una segunda parte de la secuencia de anticuerpo de cadena pesada y/o ligera es de una segunda especie. Los anticuerpos quiméricos de interés en esta invención incluyen anticuerpos "primatizados" que comprenden secuencias de unión a antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, mono del Viejo Mundo, tal como babuino, mono rhesus o cynomolgus) y secuencias de región constante humana. Los anticuerpos "humanizados" son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia derivada de anticuerpos no humanos. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son anticuerpos humanos (anticuerpo receptor) en los que los residuos de una región hipervariable del receptor se reemplazan por residuos de una región hipervariable o región determinante de complementariedad (CDR) de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata, conejo, pollo o primate no humano, que tiene la especificidad, afinidad y actividad deseadas. En la mayoría de los casos, los residuos del anticuerpo humano (receptor) fuera de la CDR; es decir, en la región marco (FR), se reemplazan adicionalmente por los residuos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para refinar aún más el rendimiento de los anticuerpos. La humanización reduce la inmunogenicidad de los anticuerpos no humanos en humanos, facilitando así la aplicación de anticuerpos al tratamiento de enfermedades humanas. En la técnica se conocen bien anticuerpos humanizados y varias tecnologías diferentes para generarlos. El término "anticuerpo" o "anticuerpos" también se refiere a anticuerpos humanos, que se pueden generar como una alternativa a la humanización. Por ejemplo, es posible producir animales transgénicos (por ejemplo, ratones) que son capaces, tras la inmunización, de producir un repertorio completo de anticuerpos humanos en ausencia de producción de anticuerpos murinos endógenos. Por ejemplo, se ha descrito que la delección homocigótica del gen de la región de unión de la cadena pesada (JH) del anticuerpo en ratones quiméricos y mutantes de la línea germinal da como resultado la inhibición completa de la producción de anticuerpos endógenos. La transferencia de la matriz de genes de inmunoglobulina de línea germinal humana en dichos ratones mutantes de línea germinal dará como resultado la producción de anticuerpos humanos con especificidad contra un antígeno particular tras la inmunización del animal transgénico que porta los genes de inmunoglobulina de línea germinal humana con dicho antígeno. En la técnica se conocen tecnologías para producir tales animales transgénicos y tecnologías para aislar y producir los anticuerpos humanos a partir de tales animales transgénicos. Alternativamente, en el animal transgénico; por ejemplo, ratón, solo los genes de inmunoglobulina que codifican las regiones variables del anticuerpo de ratón se reemplazan con las secuencias génicas de inmunoglobulina variables humanas correspondientes. Los genes de inmunoglobulina de la línea germinal de ratón que codifican las regiones constantes del anticuerpo permanecen sin cambios. De esta manera, las funciones efectoras del anticuerpo en el sistema inmunitario del ratón transgénico y, en consecuencia, el desarrollo de células B permanecen esencialmente sin cambios, lo que puede conducir a una respuesta de anticuerpos mejorada tras la exposición antigénica in vivo. Una vez que los genes que codifican un anticuerpo particular de interés se han aislado de dichos animales transgénicos, los genes que codifican las regiones constantes se pueden

reemplazar con genes de región constante humana para obtener un anticuerpo completamente humano. El término "anticuerpo" o "anticuerpos", tal como se utiliza en esta invención, también se refiere a un anticuerpo aglicosilado.

El término "fragmento de unión al antígeno del mismo o variaciones gramaticales del mismo", como se emplea en esta memoria, se refiere a un fragmento de anticuerpo. Un fragmento de un anticuerpo comprende al menos un dominio de inmunoglobulina de cadena pesada o ligera como se conoce en la técnica y se une a uno o más antígenos. Ejemplos de fragmentos de anticuerpo en función de la invención incluyen Fab, Fab', F(ab')₂ y fragmentos Fv y scFv; así como diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos de dominio (dAb), tales como sdAb, VHH o anticuerpos de camélido (por ejemplo, de camellos o llamas tales como Nanobodies™) y fragmentos VNAR, anticuerpos monocatenarios, anticuerpos biespecíficos, triespecíficos, tetraespecíficos o multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo o anticuerpos, incluyendo construcciones Fab-Fv o Fab-Fv-Fv. En la técnica se conocen fragmentos de anticuerpo como se definió anteriormente.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprendido en la composición farmacéutica en función de la invención puede ser un anticuerpo humano o humanizado, preferentemente un anticuerpo monoclonal humanizado que se une específicamente a FcRn humano.

Una composición farmacéutica ejemplificada comprende (Tabla 1):

1) un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que

a. comprende CDR-H1 que tiene la secuencia como se define en SEQ ID NO:1; CDR-H2 que tiene la secuencia como se define en SEQ ID NO:2; CDR-H3 que tiene la secuencia como se define en SEQ ID NO:3; CDR-L1 que tiene la secuencia como se define en SEQ ID NO:4; CDR-L2 que tiene la secuencia como se define en SEQ ID NO:5 y CDR-L3 que tiene la secuencia como se define en SEQ ID NO:6; o

b. comprende una región variable ligera que tiene la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada que tiene la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 8; o

c. comprende una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 8;

d. comprende una región variable ligera que tiene la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 11; o

e. comprende una región variable ligera que tiene al menos un 80 % de identidad o similitud, preferentemente un 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 11; o

2) un anticuerpo que comprende una cadena ligera que tiene la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que tiene la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 10; o

3) un anticuerpo que comprende una cadena ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 10.

A lo largo de esta memoria descriptiva, las regiones determinantes de complementariedad ("CDR") se definen en función de la definición de Kabat. La definición de Kabat es un estándar para numerar los residuos en un anticuerpo y se utiliza típicamente para identificar regiones CDR (Kabat et al., (1991), 5ª edición, publicación NIH N.º 91-3242).

Tabla 1

Región e identificador de SEQ ID	Secuencia de aminoácidos
CDR-H1 SEQ ID NO:1	GFTFSNYGMV
CDR-H2 SEQ ID NO:2	YIDSDGDNTYYRDSVKG
CDR-H3 SEQ ID NO:3	GIVRPFLY

Región e identificador de SEQ ID	Secuencia de aminoácidos
CDR-L2 SEQ ID NO:5	LVSTLDS
CDR-L3 SEQ ID NO:6	LQGTHFPHT
Región variable ligera SEQ ID NO:7	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLT SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGKLE IK
Región variable pesada SEQ ID NO:8	EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVA IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDPAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTG VRPFLYWGGG TLVTVS
Cadena ligera SEQ ID NO:9	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLT SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASWCL LNNFYPRKAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC
Región e identificador de SEQ ID	Secuencia de aminoácidos
Cadena pesada SEQ ID NO:10	EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDPAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI VRPFLYWGGG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSWTVPS SSLGKTYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCW VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRW SVLTVLHQDW LNKKEYCKKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK
Cadena pesada Fab SEQ ID NO: 11	EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVA IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDPAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTG VRPFLYWGGG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDY PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSWTVPS SSLGKTYI NVNHPKPSNTK VDKKVEPKSC

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo ejemplificado se describe adicionalmente en detalle en WO2014019727.

5 Las moléculas de anticuerpo pueden producirse típicamente cultivando una célula huésped que contiene un vector que codifica la secuencia de anticuerpo en condiciones adecuadas para conducir a la expresión de proteína a partir de ADN que codifica la molécula de anticuerpo de la presente invención, y aislando la molécula de anticuerpo.

10 La molécula de anticuerpo puede comprender solo un polipéptido de cadena pesada o ligera, en cuyo caso solo se necesita usar una secuencia codificante de polipéptido de cadena pesada o cadena ligera para transfectar las células hospedadoras. Para la producción de productos que comprenden cadenas pesadas y ligeras, la línea celular puede transfectarse con dos vectores, un primer vector que codifica un polipéptido de cadena ligera y un segundo vector que codifica un polipéptido de cadena pesada. Alternativamente, se puede usar un solo vector, el vector incluye secuencias que codifican polipéptidos de cadena ligera y cadena pesada.

Un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo que se puede fabricar en función de escalas industriales

se puede producir cultivando células hospedadoras eucariotas transfectadas con uno o más vectores de expresión que codifican el fragmento de anticuerpo recombinante. Las células hospedadoras eucariotas son preferentemente células de mamífero, más preferentemente células de ovario de hámster chino (CHO - Chinese Hamster Ovary).

Las células de mamífero se pueden cultivar en cualquier medio que apoye su crecimiento y expresión de la proteína recombinante, preferentemente el medio es un medio químicamente definido que está libre de productos derivados de animales tales como suero animal y peptona. Existen diferentes medios de cultivo celular disponibles para el experto en la materia que comprenden diferentes combinaciones de vitaminas, aminoácidos, hormonas, factores de crecimiento, iones, tampones, nucleósidos, glucosa o una fuente de energía equivalente, presentes en concentraciones adecuadas para permitir el crecimiento celular y la producción de proteínas. Pueden incluirse componentes de medios de cultivo celular adicionales en el medio de cultivo celular a concentraciones apropiadas en diferentes momentos durante un ciclo de cultivo celular que sería conocido por los expertos en la técnica.

El cultivo de células de mamífero puede tener lugar en cualquier recipiente adecuado, tal como un matraz de agitación o un biorreactor, que puede o no funcionar en un modo de alimentación por lotes dependiendo de la escala de producción requerida. Estos biorreactores pueden ser reactores de tanque agitado o de elevación por aire. Se encuentran disponibles varios biorreactores a gran escala con una capacidad de más de 1000 L a 50 000 L, preferentemente entre 5000 L y 20 000 L, o hasta 10 000 L. Alternativamente, también se pueden usar biorreactores a menor escala, como entre 2 L y 100 L, para fabricar un anticuerpo o fragmento de anticuerpo.

Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se encuentra típicamente en el sobrenadante de un cultivo de células hospedadoras de mamífero, típicamente un cultivo de células de CHO. Para los procedimientos de cultivo de CHO en los que la proteína de interés, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, se secreta en el sobrenadante, dicho sobrenadante se recoge por procedimientos conocidos en la técnica, típicamente por centrifugación.

Por lo tanto, el procedimiento de producción del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una etapa de centrifugación y recuperación del sobrenadante después del cultivo celular y antes de la purificación de la proteína. En una realización particular adicional, dicha centrifugación es centrifugación continua. Para evitar dudas, el sobrenadante denota el líquido que se encuentra por encima de las células sedimentadas como resultado de la centrifugación del cultivo celular.

Alternativamente, las células hospedadoras son células procariotas, preferentemente bacterias gramnegativas. Más preferentemente, las células hospedadoras son células de *E. coli*. Las células hospedadoras procariotas para la expresión de proteínas son bien conocidas en la técnica (Terpe, K. Appl Microbiol Biotechnol 72, 211-222 (2006)). Las células hospedadoras son células recombinantes que se han modificado genéticamente para producir la proteína de interés, tal como un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo. Las células hospedadoras de *E. coli* recombinantes pueden derivar de cualquier cepa de *E. coli* adecuada, incluidas MC4100, TG1, TG2, DHB4, DH5α, DH1, BL21, K12, XL1Blue y JM109. Un ejemplo es la cepa W3110 de *E. coli* (ATCC 27,325), una cepa hospedadora comúnmente utilizada para fermentaciones de proteínas recombinantes. Los fragmentos de anticuerpo también se pueden producir cultivando cepas de *E. coli* modificadas, por ejemplo, mutantes metabólicos o cepas de *E. coli* deficientes en proteasa.

Un fragmento de anticuerpo se encuentra típicamente en el periplasma de la célula hospedadora de *E. coli* o en el sobrenadante del cultivo de células hospedadoras, dependiendo de la naturaleza de la proteína, la escala de producción y la cepa de *E. coli* utilizada. Los procedimientos para dirigir proteínas a estos compartimentos son bien conocidos en la técnica (Makrides, S.C.; Microbiol Rev 60, 512-538 (1996)). Ejemplos de secuencias señal adecuadas para dirigir proteínas al periplasma de *E. coli* incluyen las secuencias señal PhoA, OmpA, OmpT, LamB y OmpF de *E. coli*. Las proteínas pueden dirigirse al sobrenadante confiando en las vías secretoras naturales o mediante la inducción de una fuga limitada de la membrana externa para provocar la secreción de proteínas, cuyos ejemplos son el uso del líder pelB, el líder de la proteína A, la coexpresión de la proteína de liberación de bacteriocina, la proteína de liberación de bacteriocina inducida por mitomicina junto con la adición de glicina al medio de cultivo y la coexpresión del gen kil para la permeabilización de la membrana. Lo más preferentemente, la proteína recombinante se expresa en el periplasma de la *E. coli* hospedadora.

La expresión de la proteína recombinante en las células hospedadoras de *E. coli* también puede estar bajo el control de un sistema inducible, por lo que la expresión del anticuerpo recombinante en *E. coli* está bajo el control de un promotor inducible. Muchos promotores inducibles adecuados para su uso en *E. coli* son bien conocidos en la técnica y dependiendo de la expresión del promotor de la proteína recombinante pueden ser inducidos por factores variables tales como la temperatura o la concentración de una sustancia particular en el medio de crecimiento. Ejemplos de promotores inducibles incluyen los promotores lac, tac y trc de *E. coli* que son inducibles con lactosa o el análogo de lactosa no hidrolizable, isopropil-b-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG) y los promotores phoA, trp y araBAD que son inducidos por fosfato, triptófano y L-arabinosa, respectivamente. La expresión puede inducirse, por ejemplo, mediante la adición de un inductor o un cambio en la temperatura donde la inducción depende de la temperatura. Cuando la inducción de la expresión de proteínas recombinantes se logra mediante la adición de un inductor al cultivo, el inductor se puede añadir mediante cualquier procedimiento adecuado dependiendo del sistema de fermentación y el inductor, por ejemplo, mediante adiciones de una sola o múltiples inyecciones o mediante una adición gradual de inductor a

través de una alimentación. Se apreciará que puede haber un retraso entre la adición del inductor y la inducción real de la expresión de proteínas, por ejemplo, cuando el inductor es lactosa, puede haber un retraso antes de que se produzca la inducción de la expresión de proteínas, mientras que cualquier fuente de carbono preexistente se utiliza antes que la lactosa.

5 Los cultivos de células hospedadoras de *E. coli* (fermentaciones) se pueden cultivar en cualquier medio que apoye el crecimiento de *E. coli* y la expresión de la proteína recombinante. El medio puede ser cualquier medio químicamente definido tal como, por ejemplo, el descrito en Durany O, et al. (2004). Studies on the expression of recombinant fuculose-1-phosphate aldolase in Escherichia coli. Process Biochem 39, 1677-1684.

10 El cultivo de las células hospedadoras de *E. coli* puede tener lugar en cualquier recipiente adecuado, tal como un matraz de agitación o un fermentador, dependiendo de la escala de producción requerida. Varios fermentadores a gran escala están disponibles con una capacidad de más de 1000 litros a aproximadamente 100 000 litros. Preferentemente, se utilizan fermentadores de 1.000 a 50.000 litros, más preferentemente de 1.000 a 25.000, 20.000, 15.000, 12.000 o 10.000 litros. También se pueden usar fermentadores de menor escala con una capacidad de entre 0,5 y 1000 litros.

15 La fermentación de *E. coli* se puede realizar en cualquier sistema adecuado, por ejemplo, modo continuo, por lotes o por lotes alimentados, dependiendo de la proteína y los rendimientos requeridos. El modo por lotes se puede usar con adiciones de nutrientes o inductores cuando sea necesario. De manera alternativa, se puede usar un cultivo semicontinuo y los cultivos cultivados en preinducción en modo discontinuo a la tasa de crecimiento específica máxima que se puede mantener usando los nutrientes inicialmente presentes en el fermentador y uno o más regímenes de alimentación de nutrientes usados para controlar la tasa de crecimiento hasta que se complete la fermentación. El modo de alimentación por lotes también se puede usar antes de la inducción para controlar el metabolismo de las células huésped de *E. coli* y para permitir que se alcancen densidades celulares más altas.

20 Si se desea, las células hospedadoras se pueden someter a recolección del medio de fermentación, por ejemplo, las células hospedadoras se pueden recolectar de la muestra mediante centrifugación, filtración o concentración. En este caso, el procedimiento comprende típicamente una etapa de centrifugación y recuperación celular antes de extraer la proteína.

25 Para los procedimientos de fermentación de *E. coli* en los que la proteína de interés, tal como un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo, se encuentra en el espacio periplásmico de la célula hospedadora, se requiere liberar la proteína de la célula hospedadora. La liberación se puede lograr mediante cualquier procedimiento adecuado tal como lisis celular mediante tratamiento mecánico o a presión, tratamiento de congelación-descongelación, choque osmótico, agentes de extracción o tratamiento térmico. En la técnica se conocen bien tales procedimientos de extracción para la liberación de proteínas. Por lo tanto, en una realización particular, el procedimiento de producción comprende una etapa de extracción de proteínas adicional antes de la purificación de proteínas.

30 Otros procedimientos para obtener un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo humano *in vitro* se basan en tecnologías de presentación tales como la presentación en fagos o la tecnología de presentación en ribosomas, donde se utilizan bibliotecas de ADN recombinante que se generan al menos en parte artificialmente o a partir de repertorios de genes de dominio variable (V) de inmunoglobulina de donantes. En la técnica se conocen bien tecnologías de presentación en fagos y ribosomas para generar anticuerpos humanos. Los anticuerpos humanos también se pueden generar a partir de células B humanas aisladas que se inmunizan *ex vivo* con un antígeno de interés y posteriormente se fusionan para generar hibridomas que luego se pueden a continuación analizar para determinar el anticuerpo humano óptimo.

35 La composición farmacéutica en función de la invención puede tener un pH de 4,0 a 7,5, preferentemente de 4,0 a 6,0, más preferentemente de 4,5 a 6,0, incluso más preferentemente de 5,5 a 5,8 o más preferentemente de aproximadamente 5,6.

45 La composición farmacéutica contiene un agente tampón para mantener el pH constante. Hay muchos agentes tampón utilizados en el campo de las formulaciones farmacéuticas líquidas, tales como citrato, fosfato, lactato, histidina, glutamato, maleato, tartrato o succinato. Una especie tampón preferida se selecciona típicamente entre aquellas que tienen un pKa que está cerca (+/-1 unidad de pH) del pH preferido para una estabilidad óptima de la proteína con el fin de mantener una alta capacidad tampón, y se asocia con la estabilidad máxima demostrada observada para una proteína particular cuando se coloca en una serie de especies tampón variadas. Los intervalos de pH adecuados de una formulación se eligen en general de aquellos asociados con la estabilidad máxima demostrada observada para una proteína particular cuando se coloca en una serie de formulaciones de pH variado.

50 La composición farmacéutica en función de la invención comprende como agente tampón, un aminoácido o una mezcla de aminoácidos, preferentemente a una concentración de 10 mM a 100 mM, 10 mM a 80 mM, 10 mM a 60 mM, 25 mM a 60 mM, preferentemente 30 mM a 50 mM o 30 mM.

55 Los aminoácidos adecuados son arginina, lisina, histidina, metionina, ornitina, isoleucina, leucina, alanina, glicina, ácido glutámico o ácido aspártico. Se prefiere la inclusión de un aminoácido básico, es decir, arginina, lisina y/o histidina. Un aminoácido puede estar presente en su forma D y/o L, pero la forma L es típica. El aminoácido puede

estar presente como cualquier sal adecuada, por ejemplo, una sal de clorhidrato, tal como arginina-HCl.

Preferentemente, el aminoácido es histidina, más preferentemente a una concentración de 30 mM.

La composición farmacéutica en función de la invención también puede comprender una mezcla de aminoácidos, por ejemplo, una mezcla de histidina y prolina, histidina, prolina y glicina, histidina, prolina y arginina, histidina, prolina, arginina y glicina. Preferentemente, la composición farmacéutica en función de la invención comprende histidina y otro aminoácido, preferentemente prolina a una concentración de 10 mM a 300 mM, 50 mM a 280 mM, 100 mM a 280 mM o 180 mM a 250 mM. Preferentemente, la composición farmacéutica en función de la invención comprende histidina 30 mM y prolina de 180 mM a 250 mM.

La composición farmacéutica en función de la invención comprende adicionalmente un tensioactivo. Los tensioactivos disponibles para su uso en la composición farmacéutica en función de la invención incluyen tensioactivos no iónicos, tensioactivos iónicos y tensioactivos zwitteriónicos. Los tensioactivos típicos para usar con la invención incluyen ésteres de ácidos grasos de sorbitán (por ejemplo, monocaprilato de sorbitán, monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán), trioleato de sorbitán, ésteres de ácidos grasos de glicerina (por ejemplo, monocaprilato de glicerina, monomiristato de glicerina, monoestearato de glicerina), ésteres de ácidos grasos de poliglicerina (por ejemplo, decaglicerilo), monoestearato, diestearato de decaglicerilo, monolinoleato de decaglicerilo), ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitán (por ejemplo, monolaurato de polioxietilensorbitán, monooleato de polioxietilensorbitán, monoestearato de polioxietilensorbitán, monopalmitato de polioxietilensorbitán, trioleato de polioxietilensorbitán, triestearato de polioxietilensorbitán), ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitol (por ejemplo, tetraestearato de polioxietilensorbitol, tetraoleato de polioxietilensorbitol), ésteres de ácidos grasos de polioxietilenglicol (por ejemplo, monoestearato de polioxietilenglicerilo), ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (por ejemplo, diestearato de polietilenglicol), éteres de polioxietilenaalquilo (por ejemplo, éter laurílico de polioxietileno), éteres alquílicos de polioxietileno polioxipropileno (p. ej., éter polioxipropilenglicol de polioxietileno, éter propílico de polioxietileno, éter cetílico de polioxietileno polioxipropileno), éteres alquilfenílicos de polioxietileno (p. ej., éter nonilfenílico de polioxietileno), polioxietileno hidrogenado, aceites de ricino (p.ej. aceite de ricino de polioxietileno, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno), derivados de cera de abejas de polioxietileno (por ejemplo, cera de abejas de sorbitol de polioxietileno), derivados de lanolina de polioxietileno (por ejemplo, lanolina de polioxietileno) y amidas de ácidos grasos de polioxietileno (por ejemplo, amida de ácido polioxietileno esteárico); Sulfatos de alquilo C₁₀-C₁₈ (por ejemplo, cetilsulfato de sodio, laurilsulfato de sodio, oleilsulfato de sodio), sulfato de polioxietileno alquil C₁₀-C₁₈ éter con un promedio de 2 a 4 moles de unidades de óxido de etileno añadidas (por ejemplo, polioxietileno lauril sulfato de sodio), y sales de éster de alquil sulfosuccinato C₁-C₁₈ (por ejemplo, éster de lauril sulfosuccinato de sodio); y tensioactivos naturales tales como lecitina, glicerofosfolípidos, esfingofosfolípidos (por ejemplo, esfingomielina) y ésteres de sacarosa de ácidos grasos C₁₂-C₁₈. La composición puede incluir uno o más de estos tensioactivos. Los tensioactivos preferidos son ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitán, por ejemplo, polisorbato 20, 40, 60 u 80. Preferentemente, la composición farmacéutica en función de la invención comprende polisorbato 80.

La composición farmacéutica de la invención puede comprender de 0,01 % a 10 % p/v de tensioactivo, de 0,01 % a 1,0 % p/v de tensioactivo, de 0,01 % a 0,5 % p/v de tensioactivo o 0,03 % p/v de tensioactivo tal como polisorbatos. Preferentemente, la composición farmacéutica de la invención comprende 0,03 % p/v de polisorbato 80.

La composición farmacéutica según la presente invención comprende como estabilizador (es decir, crioprotector) del 1 al 20 % p/v, o del 5 % al 13 % p/v o del 7 % al 10 % p/v o el 7 % de sacarosa.

La presente invención también proporciona un procedimiento para producir una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión al antígeno del mismo, mediante el cual el procedimiento comprende preparar una composición que comprende un anticuerpo anti-FcRn, por ejemplo, una composición que comprende de 80 mg/mL a 140 mg/mL de un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8, histidina 30 mM, prolina 250 mM, 0,03 % p/v de polisorbato 80, a pH 5,6, y adición de 1 % a 25 % p/v de sacarosa.

Preferentemente, el procedimiento comprende preparar una composición que comprende de 80 mg/mL a 140 mg/mL de un anticuerpo anti-FcRn que comprende una cadena variable ligera que comprende SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8, histidina 30 mM, prolina 250 mM, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6, y adición de una composición que comprende histidina 30 mM, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, de 17,5 % a 24,5 % p/v de sacarosa a pH 5,6.

Las composiciones farmacéuticas descritas y realizadas en esta invención pueden estar en forma de una composición farmacéutica liofilizada.

Por lo tanto, el procedimiento para producir una composición farmacéutica en función de la invención puede comprender además la etapa de liofilización (es decir, secado por congelación).

Las técnicas para la liofilización de anticuerpos son bien conocidas en la técnica (John F. Carpenter y Michael J. Pikal, 1997 Pharm. Res. 14, 969-975); de manera similar, actualmente hay disponibles productos de anticuerpos monoclonales tales como SYNAGIS™, REMICADE™, RAPTIVA™, SIMULECT™, XOLAIR™ y HERCEPTIN™ que se suministran

como liofilizados. Estos anticuerpos se reconstituyen a varias concentraciones finales, por ejemplo, SIMULECT™ se reconstituye a una concentración de 4 mg/ml de anticuerpo, REMICADE™ se reconstituye a una concentración de 10 mg/ml, HERCEPTIN™ a 21 mg/ml, SYNAGIS™ y RAPTIVA™ a 100 mg/ml, y XOLAIR™ a 125 mg/ml.

Las técnicas de liofilización se analizarán más adelante en esta invención en la sección de ejemplos.

5 La presente invención, por lo tanto, proporciona una formulación liofilizada que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable ligera que comprende SEQ ID NO:7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8, sacarosa, un aminoácido o una mezcla de aminoácidos y opcionalmente un tensioactivo. Preferiblemente, la formulación liofilizada comprende de 10 % a 40 % p/p de sacarosa, más preferiblemente de 20 % a 40 % p/p de sacarosa.

10 En una realización preferida de la presente invención, la formulación liofilizada que comprende del 10 % al 40 % p/p de sacarosa también comprende un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión al antígeno del mismo, donde el anticuerpo o fragmento del mismo comprende una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO:7 y una cadena variable pesada que comprende la SEQ ID NO:8.

15 En otra realización preferida, la formulación liofilizada comprende alrededor de 50,8 % p/p de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, alrededor de 35,5 % p/p sacarosa, alrededor de 3,0 % p/p histidina, alrededor de 10,5 % p/p prolina y 0,2 % p/p polisorbato 80; donde el anticuerpo o fragmento del mismo comprende una cadena variable ligera que comprende SEQ ID NO:7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8.

20 Excipientes adicionales para su uso dentro de las composiciones farmacéuticas en función de la invención incluyen agentes potenciadores de la viscosidad, agentes de carga, agentes solubilizantes tales como monosacáridos, por ejemplo, fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa; disacáridos, por ejemplo, lactosa, trehalosa, celobiosa; polisacáridos, por ejemplo, rafinosa, melecitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones; y polioles, tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol sorbitol (glucitol); polietilenglicoles (por ejemplo, PEG100, PEG300, PEG600, PEG1500, PEG2000, PEG3000, PEG3350, PEG4000, PEG6000, PEG8000 o PEG20000), polivinilpirrolidona, N-óxido de trimetilamina, trimetilglicina o combinaciones de los mismos.

25 Antes de que una composición farmacéutica liofilizada (es decir, secada por congelación) se pueda administrar a un paciente, debe reconstituirse con un disolvente. Dentro de la presente invención, el disolvente preferido es un disolvente acuoso, más preferentemente el disolvente acuoso es agua.

30 El volumen de disolvente utilizado para la reconstitución dicta la concentración del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo en la formulación farmacéutica líquida resultante. La reconstitución con un volumen menor de disolvente que el volumen previo a la liofilización proporciona una formulación que está más concentrada que antes de la liofilización y viceversa.

Por lo tanto, la presente invención proporciona un procedimiento para reconstituir una composición farmacéutica liofilizada en función de la invención mediante la adición de un disolvente, en el que el disolvente es preferentemente agua.

35 La relación de reconstitución (volumen de composición farmacéutica preliofilizada a disolvente utilizado para reconstituir la composición farmacéutica liofilizada) puede variar de 0,5:1 a 1:10. En una realización preferida, se aplica una relación de aproximadamente 1:1 de modo que el volumen resultante de la formulación farmacéutica líquida reconstituida sea de aproximadamente 4,4 mL.

Las composiciones farmacéuticas pre-liofilización y/o formulaciones farmacéuticas líquidas reconstituidas descritas en esta invención comprenden:

40 A. de 1 mg/mL a 200 mg/mL de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8, de 10 mM a 50 mM de histidina, de 10 a 300 mM de prolina, de 1 % a 20 % p/v de sacarosa, de 0,01 % a 1,0 % p/v de polisorbato 80, a pH 5,6;

45 B. de 50 mg/mL a 150 mg/mL de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8, de 20 mM a 40 mM de histidina, de 50 a 280 mM de prolina, de 5 % a 13 % p/v de sacarosa, de 0,01 % a 0,5 % p/v de polisorbato 80, a pH 5,6;

50 C. de 80 mg/mL a 140 mg/mL de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8, histidina 30 mM, prolina 250 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6;

D. de 50 mg/mL a 150 mg/mL de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8 o una cadena pesada que comprende SEQ ID NO:11, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6;

E. de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable pesada y una cadena variable ligera, donde la cadena variable pesada comprende CDR-H1 de SEQ ID NO:1, CDR-H2 de SEQ ID NO:2 y CDR-H3 de SEQ ID NO:3 y la cadena variable ligera comprende CDR-L1 de SEQ ID NO:4, CDR-L2 de SEQ ID NO:5 y CDR-L3 de SEQ ID NO:6, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6;

F. de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que comprende SEQ ID NO:9, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6 y al menos i) o i) y ii) o i), ii) y iii):

i) de 100mM a 250mM de manitol;

ii) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;

iii) de 100mM a 280mM de glicina;

G. de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8 o una cadena pesada que comprende SEQ ID NO:11, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6 y al menos i) o i) y ii) o i), ii) y iii):

i) de 100 mM a 250 mM de manitol;

ii) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;

iii) de 100mM a 280mM de glicina;

H. de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una cadena variable pesada y una cadena variable ligera, donde la cadena variable pesada comprende CDR-H1 de SEQ ID NO:1, CDR-H2 de SEQ ID NO:2 y CDR-H3 de SEQ ID NO:3 y la cadena variable ligera comprende CDR-L1 de SEQ ID NO:4, CDR-L2 de SEQ ID NO:5 y CDR-L3 de SEQ ID NO:6, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6 y al menos i) o i) y ii) o i), ii) y iii):

i) de 100mM a 250mM de manitol;

ii) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;

iii) de 100mM a 280mM de glicina;

C. de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de un anticuerpo que comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que comprende SEQ ID NO:9, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6 y al menos i) o i) y ii) o i), ii) y iii):

i) de 100mM a 250mM de manitol;

ii) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;

iii) de 100mM a 280mM de glicina;

La presente invención también proporciona un recipiente que comprende la formulación liofilizada o la formulación farmacéutica líquida reconstituida en función de la invención. En particular, el recipiente puede ser un vial que comprende la formulación liofilizada a reconstituir.

El recipiente puede ser parte de un kit de piezas que comprende uno o más recipientes que comprenden las formulaciones liofilizadas en función de la invención, disolventes adecuados para reconstituir la formulación liofilizada, dispositivos de suministro tales como jeringas e instrucciones de uso.

Las composiciones farmacéuticas o las formulaciones farmacéuticas líquidas en función de la invención son para su uso en terapia.

En una realización preferida, la formulación farmacéutica líquida reconstituida para su uso en terapia comprende de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6 opcionalmente, i) o i) y ii) o i), ii) y iii) donde:

i) de 100mM a 250mM de manitol;

ii) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;

iii) de 100mM a 280mM de glicina;

en la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo (según corresponda) comprende:

- 1) una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8 o una cadena pesada que comprende SEQ ID NO:11; o
- 5 2) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 8;
- 10 3) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 11;
- 15 4) una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO:10; o
- 5) una cadena ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 10;
- 20 6) una cadena variable pesada y una cadena variable ligera, donde la cadena variable pesada comprende CDR-H1 de SEQ ID NO:1, CDR-H2 de SEQ ID NO:2 y CDR-H3 de SEQ ID NO:3 y la cadena variable ligera comprende CDR-L1 de SEQ ID NO:4, CDR-L2 de SEQ ID NO:5 y CDR-L3 de SEQ ID NO:6.
- 25 La composición farmacéutica o las formulaciones farmacéuticas líquidas en función de la invención también son para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias o autoinmunitarias seleccionadas de miastenia grave, pénfigo vulgar, neuromielitis óptica, síndrome de Guillain-Barré, lupus y púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PIDC) y combinaciones de las mismas.
- 30 En otra realización preferida, la formulación farmacéutica líquida reconstituida para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias o autoinmunes seleccionadas entre miastenia grave, pénfigo vulgar, neuromielitis óptica, síndrome de Guillain-Barré, lupus y púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PIDC) y combinaciones de las mismas comprende de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, 30 mM histidina, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6, opcionalmente, i) o i) y ii) o ii), ii) y iii) donde:
 - i) de 100mM a 250mM de manitol;
 - ii) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;
 - iii) de 100mM a 280mM de glicina;

en la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo (según corresponda) comprende:

- 35 1) una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8 o una cadena pesada que comprende SEQ ID NO:11; o
- 40 2) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 8;
- 45 3) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 11;
- 50 4) una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO:10; o
- 5) una cadena ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 10;
- 6) una cadena variable pesada y una cadena variable ligera, donde la cadena variable pesada comprende CDR-H1 de SEQ ID NO:1, CDR-H2 de SEQ ID NO:2 y CDR-H3 de SEQ ID NO:3 y la cadena variable ligera comprende

CDR-L1 de SEQ ID NO:4, CDR-L2 de SEQ ID NO:5 y CDR-L3 de SEQ ID NO:6.

La divulgación también proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad inflamatoria o autoinmunitaria en un sujeto mamífero que comprende administrar la composición farmacéutica o las formulaciones farmacéuticas líquidas en función de la invención; donde la enfermedad inflamatoria o autoinmunitaria se selecciona de miastenia grave, pénfigo vulgar, neuromielitis óptica, síndrome de Guillain-Barré, lupus y púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura trombocitopénica (PTI), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PIDC) y combinaciones de los mismos.

El sujeto mamífero puede seleccionarse del grupo de roedores, gatos, perros, caballos, bovinos, ovinos, primates no humanos y sujetos humanos. Preferentemente, el sujeto mamífero es un sujeto humano.

En otra realización adicional, el procedimiento para tratar una enfermedad inflamatoria o autoinmunitaria en un sujeto mamífero comprende administrar la formulación farmacéutica líquida reconstituida que comprende de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6, opcionalmente, i) o ii) o iii) y iii) donde:

iv) de 100 mM a 250 mM de manitol;

i) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;

ii) de 100mM a 280mM de glicina;

en la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo (según corresponda) comprende:

1) una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8 o una cadena pesada que comprende SEQ ID NO:11; o

2) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 8;

3) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 11;

4) una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO:10; o

5) una cadena ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 10;

6) una cadena variable pesada y una cadena variable ligera, donde la variable pesada comprende CDR-H1 de SEQ ID NO:1, CDR-H2 de SEQ ID NO:2 y CDR-H3 de SEQ ID NO:3 y la cadena variable ligera comprende CDR-L1 de SEQ ID NO:4, CDR-L2 de SEQ ID NO:5 y CDR-L3 de SEQ ID NO:6.

y donde la enfermedad inflamatoria o autoinmunitaria se selecciona de miastenia grave, pénfigo vulgar, neuromielitis óptica, síndrome de Guillain-Barré, lupus y púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP) y combinaciones de los mismos.

Además, la composición farmacéutica o las formulaciones farmacéuticas líquidas en función de la descripción puede usarse en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias o autoinmunes seleccionadas de miastenia grave, pénfigo vulgar, neuromielitis óptica, síndrome de Guillain-Barré, lupus y púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PIDC) y combinaciones de los mismos.

En otra realización, la formulación farmacéutica líquida reconstituida puede usarse en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias o autoinmunes seleccionadas de miastenia grave, pénfigo vulgar, neuromielitis óptica, síndrome de Guillain-Barré, lupus y púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP) y combinaciones de los mismos que comprenden de 80 mg/mL a 140 mg/mL, preferentemente 100 mg/mL, de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, histidina 30 mM, prolina 180 mM, sacarosa al 7 % p/v, polisorbato 80 al 0,03 % p/v, a pH 5,6, opcionalmente, i) o ii) o iii) y iii) donde:

v) de 100 mM a 250 mM de manitol;

vi) de 80 mM a 200 mM de L-arginina HCl;

vii) de 100 mM a 280 mM de glicina;

en la que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo (según corresponda) comprende:

- 5 1) una cadena variable ligera que comprende la SEQ ID NO: 7 y una cadena variable pesada que comprende SEQ ID NO:8 o una cadena pesada que comprende SEQ ID NO:11; o
- 2) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 8;
- 10 3) una región variable ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 7 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 11;
- 4) una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO:10; o
- 15 5) una cadena ligera que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que tiene al menos el 80 % de identidad o similitud, preferentemente el 90 % de identidad o similitud con la secuencia como se define en la SEQ ID NO: 10;
- 20 6) una cadena variable pesada y una cadena variable ligera, donde la cadena variable pesada comprende CDR-H1 de SEQ ID NO:1, CDR-H2 de SEQ ID NO:2 y CDR-H3 de SEQ ID NO:3 y la cadena variable ligera comprende CDR-L1 de SEQ ID NO:4, CDR-L2 de SEQ ID NO:5 y CDR-L3 de SEQ ID NO:6.

Las formulaciones farmacéuticas líquidas reconstituidas en función de la invención se administran en una cantidad terapéuticamente eficaz. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se emplea en esta memoria, se refiere a una cantidad de un agente terapéutico (es decir, un anticuerpo) necesaria para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad, trastorno o afección diana, o para exhibir un efecto terapéutico, farmacológico o preventivo detectable. Para cualquier anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, la cantidad terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, generalmente en roedores, conejos, perros, cerdos o primates. El modelo animal también se puede usar para determinar el intervalo de concentración y la vía de administración apropiados. Dicha información se puede usar a continuación para determinar dosis y vías útiles para la administración en humanos.

La cantidad terapéuticamente eficaz precisa para un sujeto humano dependerá de la gravedad del estado de enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el género del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración, la combinación o combinaciones de fármacos, las sensibilidades de reacción y la tolerancia/respuesta a la terapia. Esta cantidad se puede determinar mediante experimentación de rutina y está dentro del criterio del médico. En general, una cantidad terapéuticamente eficaz de anticuerpo será de 0,01 mg/kg a 500 mg/kg, por ejemplo, de 0,1 mg/kg a 200 mg/kg, tal como 100 mg/kg.

Para el tratamiento de las enfermedades y/o trastornos anteriores, la dosis adecuada variará dependiendo de, por ejemplo, el anticuerpo particular que se empleará, el sujeto tratado, el modo de administración y la naturaleza y gravedad de la afección que se está tratando. En una realización particular, la formulación farmacéutica líquida reconstituida de la invención se administra por vía intravenosa o subcutánea. Cuando se administra por inyección intravenosa, puede administrarse como una inyección en bolo o como una infusión continua. La formulación farmacéutica líquida reconstituida en función de cualquiera de las realizaciones de la invención también puede administrarse mediante inyección intramuscular. La formulación farmacéutica líquida reconstituida se puede inyectar usando una jeringa, un dispositivo de inyección tal como un autoinyector, un dispositivo sin aguja, un implante y un parche.

En una realización específica de la presente invención, se logra una dosificación de 400 mg administrando 4 mL de la formulación farmacéutica líquida reconstituida 1:1 que comprende 100 mg/mL de anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión al antígeno del mismo.

La formulación farmacéutica líquida de la invención se administra adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos y puede administrarse al paciente en cualquier momento desde el diagnóstico en adelante; puede administrarse como el único tratamiento o junto con otros fármacos o terapias útiles en el tratamiento de las afecciones como se describió anteriormente en la presente memoria.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo puede ser el único principio activo en la formulación farmacéutica líquida. De manera alternativa, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se puede administrar en combinación, por ejemplo, simultáneamente, secuencialmente o por separado, con uno o más de otros

ingredientes terapéuticamente activos. El ingrediente activo, tal como se emplea en esta invención, se refiere a un ingrediente con un efecto farmacológico, tal como un efecto terapéutico, a una dosis relevante. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo en la formulación farmacéutica líquida puede estar acompañado por otros ingredientes activos que incluyen otros anticuerpos o ingredientes que no son anticuerpos. Cuando el anticuerpo en la formulación farmacéutica líquida en función de la invención es un anticuerpo anti-FcRn, al sujeto se le puede administrar un ingrediente activo adicional para tratar una enfermedad inflamatoria o autoinmunitaria. En una realización, al sujeto se le administran, simultáneamente o en secuencia (antes y/o después) otros ingredientes de anticuerpos o ingredientes que no son anticuerpos tales como esteroides u otras moléculas de fármacos, en particular moléculas de fármacos cuya semivida es independiente de la unión a FcRn.

La invención se describirá ahora adicionalmente por medio de ejemplos con referencias a realizaciones ilustradas en los dibujos adjuntos

Ejemplos

Abreviaturas

DLS (Dynamic Light Scattering - dispersión dinámica de la luz); Arg (L-arginina); iCE (Imaged capillary electrophoresis - electroforesis capilar por imágenes); Mai (maltitol); Pro (L-prolina); PS80 (polisorbato 80); Raf (rafinosa); SE-UPLC (Size-exclusion Ultra Performance Liquid Chromatography - cromatografía líquida de ultra rendimiento de exclusión por tamaño); Sor (sorbitol); Sue (sacarosa); Gly (glicina); Man (manitol); Met (L-metionina); Tre (trehalosa).

Materiales

D-(-)-Sorbitol (VWR GPR Rectopur™); Polisorbato 80 (Tween 80™, Merck™); 140 mg/mL de un anticuerpo anti-FcRn como se describe en WO2014019727 (SEQ ID NO: 9 y 10) en histidina 30 mM, prolina 250 mM, PS80 al 0,03 %, pH 5,6 (UCB Celltech Ltd); manitol (Roquette™); todo lo siguiente de (Sigma™): D-(+)-Rafinosa pentahidratada, monoclóhidrato de L-arginina, L-histidina, L-prolina, maltitol, glicina, sacarosa, L-metionina y trehalosa deshidratada.

Ejemplo 1

Preparación de formulación liofilizada

Formulaciones de liofilización que comprenden 100 mg/mL y 80 mg/mL de un anticuerpo anti-FcRn como se describe en WO2014019727 (SEQ ID NO: 9 y 10) se prepararon añadiendo una composición que comprende 140 mg/mL de dicho anticuerpo en histidina 30 mM, pH 5,6, prolina 250 mM, PS80 al 0,03 % (formulación de referencia) con las soluciones A-I tal como se indica en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2

Ref	Conc (mg/mL)	Formulación	Conc (mg/mL)	Formulación	
		Pico inicial (100:40) con		Final	
A	N/A	Histidina 30 mM pH 5,6, PS80 al 0,03 %, sacarosa al 17,5 %	100	30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 5 % de sacarosa	100-Suc5
B		Histidina 30 mM pH 5,6, PS80 al 0,03 %, sacarosa al 24,5 %		30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 7 % de sacarosa	100-Suc7
C		30 mM histidina pH 5,6, 0,03 % PS80, 14 % sorbitol		30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 4 % de sorbitol	100-Sor4
D		30 mM histidina pH 5,6, 0,03 % PS80, 24,5 % maltitol		30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 7 % de maltitol	100-Mai7
E		30 mM histidina pH 5,6, 0,03 % PS80, 35 % rafinosa		30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 10 % de rafinosa	100-Raf10
F		30 mM de histidina pH 5,6, 0,03 % de PS80, 630 mM de L-arginina		30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 180 mM de L-arginina	100-Arg180
G		30 mM de histidina pH 5,6, 0,03 % de PS80, 250 mM de prolina		30 mM de histidina pH 5,6, 250 mM de prolina, 0,03 % PS80	100-Pro250

Ref	Conc (mg/mL)	Formulación	Conc (mg/mL)	Formulación	
		Pico (80:60) con		Final	
H	N/A	Histidina 30 mM pH 5,6, PS80 al 0,03 %, sacarosa al 16,5 %	80	30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 7 % de sacarosa	80-Suc7
I		Histidina 30 mM pH 5,6, PS80 al 0,03 %, sacarosa al 21 %		30 mM de histidina pH 5,6, 180 mM de prolina, 0,03 % de PS80, 9 % de sacarosa	80-Suc9

Se rellenaron viales de aproximadamente 3 mL (Schott Topline Fiolax™ transparente) con 1 mL de formulación de liofilización. La liofilización se realizó con un liofilizador Martin-Christ Epsilon 2-6D™. Un ciclo de liofilización consistió en congelación a -40 °C, recocido a -10 °C, sublimación a -20 °C y secado secundario a 25 °C (Tabla 3). Al final del ciclo de liofilización, los viales se llenaron con aproximadamente 400 mbar de N₂ y se cerraron con tapones de ventilación única (Westar™, West Pharmaceuticals™). Los liofilizados se almacenaron a 2-8 °C hasta el análisis o el inicio de los estudios de estabilidad.

Tabla 3

etapa	t(h)	rampa (°C/min)	mantener (min)	T(°C)	p (mbar)
1	0,00		0	5	1000
2	1,50	0,50		-40	1000
3	2,50		60	-40	1000
4	3,50	0,50		-10	1000
5	5,50		120	-10	1000
6	6,50	0,50		-40	1000
7	8,50		120	-40	1000
8	9,00		30	-40	0,28
9	9,67	0,50		-20	0,28
10	33,67		1440	-20	0,28
11	35,17	0,50		25	0,28
12	41,17		360	25	0,28
13	41,50	1,00		5	0,28
14	50,00		0	5	0,28

Los estudios de estabilidad llevados a cabo en estos experimentos consistieron en un estudio de estabilidad acelerada durante 3 y 6 meses a 30 °C, y estudios de estabilidad estresada durante 4 semanas y 3 meses a 40 °C).

1. Reconstitución

Los liofilizados se reconstituyeron con 0.9 mL de agua Milli-Q a una concentración de 80 o 100 mg/mL respectivamente. Se registró el tiempo para que la torta se disolviera completamente en una solución transparente (con posiblemente un borde de espuma en la parte superior). La apariencia del liofilizado y la solución reconstituida se evaluó visualmente.

Los tiempos de reconstitución se muestran en la Figura 1. El tiempo de reconstitución se muestra en el eje y en minutos para cada una de las formulaciones según la Tabla 2. Las mediciones se realizaron en una formulación reconstituida justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t₀); después de la reconstitución de la composición farmacéutica liofilizada después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t_{3m}, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t_{6m}, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t_{4w}, 40 °C) y después de 3 meses a 40 °C (t_{3m}, 40 °C).

Los tiempos de reconstitución estuvieron dentro de los 10 minutos para las formulaciones que contienen sacarosa y para la formulación con L-arginina 180 mM (Figura 1). Formulación que comprende 80 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn reconstituido significativamente más rápido que aquellas formulaciones que comprenden 100 mg/mL. Las formulaciones que comprenden 100 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en sacarosa al 7 % o en L-arginina 180 mM mostraron tiempos de reconstitución aceptables de menos de 10 min en todos los puntos de tiempo de los estudios

de estabilidad.

Agregación

La concentración de anticuerpo anti-FcRn se determinó mediante absorbancia UV a 280 nm sin diluir utilizando una extensión SoloVPE™ (CE Technologies™) conectada a un espectrofotómetro UV-visible Cary50™ (Varian™), o después de la dilución en agua a 1 mg/mL con un lector de placas Spectramax™ M5 (Molecular Devices™), $\epsilon = 1.34 \text{ mL} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

La cantidad de agregación de proteínas se determinó mediante UPLC de exclusión por tamaño (SE-UPLC) utilizando dos columnas Acquity™ BEH200 SEC (Waters) 1.7 μm , 4.6x150mm en serie y 0.1 M Na-fosfato, 0.3 M NaCl, pH 7,0 tampón de corrida (0,3mL/min). La detección y cuantificación se realizaron por fluorescencia (ex 280nm, em 345nm).

La agregación de proteínas también se evaluó mediante dispersión dinámica de luz (DLS) utilizando un DynaPro Plate Reader™ (Wyatt™). Se midieron alícuotas de muestra diluidas a 10 mg/mL en histidina 30 mM pH 5,6 (10 adquisiciones de 5 s). Los datos se analizaron con el ajuste de regularización Dynamics™ 7.1.4 para la distribución multimodal de partículas (Wyatt™).

Los datos se muestran en la Figura 2 como el porcentaje total de agregados determinado por SE UPLC para cada formulación. También se investigó la formulación de referencia (140 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en histidina 30 mM, pH 5,6, prolina 250 mM, PS80 al 0,03 %; no liofilizado) (Ref en la Figura 2. Las mediciones se realizaron en una formulación reconstituida justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t0); después de la reconstitución de las composiciones farmacéuticas liofilizadas después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t3m, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t6m, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t4w, 40 °C) y después de 3 meses a 40 °C (t3m, 40 °C).

A excepción de la formulación de prolina (100-Pro250), todas las formulaciones mostraron una mayor estabilidad frente a la agregación en comparación con la formulación de referencia (Figura 2). En particular, las formulaciones que contenían >7 % de sacarosa mostraron una buena estabilidad frente a la agregación tanto como formación absoluta de agregados por cada estudio de estabilidad como una tasa de formación de agregados sobre los estudios realizados a 30 °C y 40 °C. Una formulación que comprende 100 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en histidina 30 mM pH 5,6, prolina 180 mM, sacarosa al 7 %, PS80 al 0,03 % mostró un aumento en los agregados de solo 0,2 %/mes a 30 °C y 0,4 %/mes a 40 °C (Tabla 4).

Tabla 4

	agr (% área)					tasa de agr (%área/mes)	
	a	t3m 30 °C	t6m 30 °C	t4w 40 °C	t3m 40 °C	30°C	40°C
Ref	3,7	7,0	7,6	8,0	13,5	0,9	3,8
100-Suc5	3,6	4,6	4,8	4,6	5,4	0,3	0,8
100-Suc7	3,6	4,3	4,4	4,2	4,8	0,2	0,5
100-Sor4	3,6	4,9	5,4	5,3	6,9	0,4	1,4
100-Mal7	3,6	4,2	4,2	4,1	4,7	0,1	0,5
100-Raf10	3,6	4,5	4,7	4,5	5,2	0,2	0,7
100-Arg180	3,5	4,6	4,9	4,6	5,6	0,3	0,9
100-Pro250	3,9	7,1	8,3	7,4	11,1	1,0	3,1
80-Suc7	3,5	4,0	4,0	3,9	4,3	0,1	0,3
80-Suc9	3,5	3,8	3,7	3,8	4,1	0,1	0,2

El maltitol también mostró una formación de agregados aceptable, en línea con lo observado con ≥ 7 % de sacarosa. Si bien la arginina y el maltitol mostraron resultados razonables en el tiempo de reconstitución y la formación de agregados, respectivamente, no proporcionaron resultados aceptables en ambas pruebas, a diferencia de ≥ 7 % de sacarosa que proporcionó un tiempo de reconstitución bajo, baja formación de agregados y tasa de formación.

Los agregados no detectados por SE UPLC fueron investigados por DLS. El porcentaje de agregados determinado por DSL usando la distribución de tamaño de intensidad porcentual se muestra para cada una de las composiciones liofilizadas, antes de la liofilización y en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t0); después de la reconstitución de las composiciones farmacéuticas liofilizadas después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t3m, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t6m, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t4w, 40 °C) y después de 3 meses a 40 °C (t3m, 40 °C).

También se investigó la formulación de referencia (140 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en histidina 30 mM, pH 5,6,

prolina 250 mM, PS80 al 0,03 %; no liofilizado). Ni la referencia (Ref) ni las formulaciones liofilizadas mostraron una cantidad significativa de agregados de HMW. DLS no observó ningún cambio significativo en los agregados grandes o HMW tras la estabilidad (Figura 3), ya que las variaciones medidas en la intensidad no son significativas e inherentes a la técnica de medición.

5 **Variantes de carga**

Las variantes de carga se determinaron mediante electroforesis capilar con imágenes (iCE con iCE3 (Protein Simple™). Las mediciones se realizaron en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t0); después de la reconstitución de las composiciones farmacéuticas liofilizadas después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t3m, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t6m, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t4w, 40 °C) y después de 3 meses a 40 °C (t3m, 40 °C).

Se observó un aumento en las especies ácidas (Figura 4A) para la formulación de referencia (140 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en histidina 30 mM, pH 5,6, prolina 250 mM, PS80 al 0,03 %; no liofilizado). La formulación que contenía prolina 250 mM mostró una disminución de las especies ácidas, pero también mostró un aumento significativo de las especies básicas (Figura 4B). La formulación que comprende 4 % de sorbitol también mostró un marcado aumento en las especies básicas. Las formulaciones de congelación restantes mostraron solo un aumento menor en las especies básicas y ningún cambio significativo en las especies ácidas (Figura 4A y 4B). Las formulaciones que comprenden ≥7 % de sacarosa no mostraron cambios significativos en las variantes de carga.

Viscosidad

La viscosidad del producto reconstituido se midió con un viscosímetro ViscoPro2000™ (Cambridge Viscosity). Las mediciones se realizaron en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento) a 22 ± 1 °C.

La viscosidad aumentó con el aumento de la concentración de azúcar/alcohol de azúcar o con el aumento del peso molecular del azúcar/alcohol de azúcar (Figura 5). La viscosidad para la formulación que comprende 80 y 100 mg/mL en la formulación de liofilización de sacarosa fue aceptable. La formulación que comprende 100 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en combinación con L-arginina 180 mM también mostró una viscosidad aceptable. La arginina es un excipiente reconocido que se añade comúnmente a las composiciones farmacéuticas para reducir la viscosidad. Su efecto fue comparable a la formulación que comprende sacarosa.

Osmolalidad

La osmolalidad de las formulaciones reconstituidas se midió con un osmómetro de presión de vapor Vapro™ 5520 (Wescor™). Las mediciones se realizaron en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento).

La mayoría de las formulaciones mostraron una osmolalidad de alrededor de 500 mOsm/kg (Figura 6). La formulación que comprende 100 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en la formulación de L-arginina 180 mM mostró la osmolalidad más alta (570 mOsm/kg), mientras que la formulación que comprende 100 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en la formulación de prolina 250 mM mostró la osmolalidad más baja (330 mOsm/kg). La formulación que comprende sacarosa mostró una osmolalidad aceptable.

Ejemplo 2

Las formulaciones de liofilización (Tabla 5), excepto para la formulación de referencia, se prepararon a partir de 60 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn en histidina 30 mM, sorbitol 250 mM, pH 5,6 mediante intercambio de tampón utilizando dispositivos de filtro/concentración centrífuga Amicon™ Ultra-15 30K (Millipore™) para volúmenes de hasta 15 mL con al menos 4 ciclos de dilución/concentración utilizando en total un diavolumen de al menos 7 veces el volumen de la muestra original a las composiciones finales en función de la Tabla 5 a pH 5,6. Se añadió polisorbato 20 (PS20) después del intercambio de tampón de una solución madre de PS20 al 3 % filtrada a una concentración final de 0,03 %. La formulación B del Ejemplo 1 (100 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn, sacarosa al 7 %, histidina 30 mM, prolina 180 mM y PS80 al 0,03 %, pH 5,6) se eligió como la formulación de referencia para los experimentos del Ejemplo 2.

Los viales (3 mL; Topline Fiolac Clear, Schott™) se rellenaron con 1 mL de formulación que comprende 100 mg/mL o 140 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn (indicado por * son formulaciones probadas a ambas concentraciones de 100 mg/mL y 140 mg/mL) (Tabla 5). La liofilización se realizó como para el Ejemplo 1.

Tabla 5

Formulación										
		% p/v	mM		% p/v	mM		%p/v		mM
Referencia	Sacarosa	7	204	L-prolina		180	PS80	0,03	histidina	30
Suc7		7	204		N/A	N/A				
Suc10*		10	292		N/A	N/A				
Suc13		13	380		N/A	N/A				
Suc5Man4		5	146	Manitol	4	220				
Suc6Man3*		6	175		3	165				
Suc7Man2		7	204		2	110				
Suc5Arg4		5	146	L-argininaHCl	4	190				
Suc6Arg3*		6	175		3	142				
Suc7Arg2		7	204		2	95	PS20	0,03	histidina	30
Suc5Gly2		5	146	Glicina	2	266				
Suc6Gly1.5*		6	175		1,5	200				
Suc7Gly1		7	204		1	133				
Suc5Met3		5	146	L-metionina	3	201				
Suc6Met2.25*		6	175		2,25	151				
Suc7Met1.5		7	204		1,5	100				
Tre10*	Trehalosa (dihidrato)	10	264		N/A	N/A				

Reconstitución

La reconstitución se llevó a cabo como en el Ejemplo 1. Las mediciones se realizaron en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t0); después de la reconstitución de las composiciones farmacéuticas liofilizadas después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t3m, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t6m, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t4w, 40 °C) y después de 3 meses a 40 °C (t3m, 40 °C). Se logró una reconstitución relativamente rápida para las formulaciones de sacarosa, sacarosa-glicina y sacarosa-arginina, ambas a 100 mg/mL y 140 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn (Figuras 7A, Figura 7B). Las formulaciones de sacarosa-manitol no se reconstituyeron comparativamente rápido, mientras que las formulaciones de metionina y la formulación de trehalosa requirieron mucho tiempo para reconstituirse (ver diferente escala de eje y en la figura 7A). La diferencia entre la formulación de sacarosa al 10 % y la de trehalosa al 10 % es sorprendente y sugiere una interacción específica entre la sacarosa y el anticuerpo anti-FcRn que ayuda a la reconstitución. La influencia negativa de la metionina en la reconstitución podría deberse al cambio en la estructura de la torta liofilizada, pero también a los cambios moleculares del anticuerpo anti-FcRn (más evidente en el análisis de agregación a continuación).

Agregación

La agregación se investigó en función del procedimiento del Ejemplo 1. Las mediciones se realizaron en formulaciones antes de la liofilización, en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t0); después de la reconstitución de las composiciones farmacéuticas liofilizadas después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t3m, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t6m, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t4w, 40 °C) y después de 3 meses a 40 °C (t3m, 40 °C). Todas las formulaciones, excepto la formulación que contiene metionina, a ambas concentraciones (100 mg/mL y 140 mg/mL) del anticuerpo anti-FcRn, mostraron una buena estabilidad frente a la agregación (Figuras 8A y 8B). Las formulaciones que muestran la mayor estabilidad hacia la agregación incluyeron las formulaciones de sacarosa al 10 % y 13 %, las formulaciones de sacarosa al 6 % -manitol al 3 % y sacarosa al 7 % -manitol al 2 %, todas las formulaciones que contienen arginina y la formulación de referencia (que contiene sacarosa y prolina al 7 %). Los niveles de agregación para la formulación que contenía 140 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn fueron similares a los que contenían 100 mg/mL. Las formulaciones que contienen metionina mostraron un alto grado de formación de agregados en ambas concentraciones del anticuerpo anti-FcRn.

También se investigaron los agregados de alto peso molecular (HMW). El porcentaje de agregados determinado por DSL usando la distribución de tamaño de masa porcentual se mostró para cada una de las formulaciones liofilizadas, antes de la liofilización y en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t0); después de la reconstitución de las composiciones farmacéuticas liofilizadas después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t3m, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t6m, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t4w, 40 °C) y

después de 3 meses a 40 °C (t3m, 40 °C). Los resultados se presentan en las

Figuras 9A y 9B. A excepción de las formulaciones que contienen metionina, no se observó un aumento significativo en los agregados de alto peso molecular (HMW), medido por DLS. El aumento en los agregados de HMW para las formulaciones de metionina se correlaciona bien con los datos de SE-UPLC. La agregación parece ser inducida por estrés térmico y no por liofilización.

Variantes de carga

El análisis de las variantes de carga se llevó a cabo como en el Ejemplo 1. Las mediciones se realizaron en composiciones farmacéuticas antes de la liofilización, en formulaciones reconstituidas justo después de la liofilización (sin almacenamiento; t0); después de la reconstitución de las composiciones farmacéuticas liofilizadas después del almacenamiento durante 3 meses a 30 °C (t3m, 30 °C); después de 6 meses a 30 °C (t6m, 30 °C); después de 4 semanas a 40 °C (t4w, 40 °C) y después de 3 meses a 40 °C (t3m, 40 °C). Para las formulaciones que comprenden 100 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn, se observó una disminución en las especies ácidas y un aumento en las especies básicas para las formulaciones de metionina después del almacenamiento a 30 °C y 40 °C (Figuras 10A y 10B). Se confirmó un comportamiento similar para las formulaciones que comprenden 140 mg/mL del anticuerpo anti-FcRn y metionina (Figuras 11A y 11B). Esto sugiere cambios químicos inducidos térmicamente en el anticuerpo anti-FcRn debido a la presencia de metionina, que también puede ser la razón del comportamiento de agregación del anticuerpo anti-FcRn. Para todas las demás formulaciones no se observaron cambios significativos en las variantes de carga.

Viscosidad

La viscosidad del producto reconstituido se midió con un viscosímetro ViscoPro2000™ (Cambridge Viscosity™). Las mediciones se realizaron en la formulación reconstituida justo después de la liofilización (sin almacenamiento). La viscosidad fue muy baja (< 6cP) para las formulaciones que contienen arginina, incluso a 140 mg/mL (Figura 12). Para todas las demás formulaciones, la viscosidad fue superior a > 8cP.

Osmolalidad

La osmolalidad de las formulaciones reconstituidas se midió con un osmómetro de presión de vapor Vapro™ 5520 (Wescor™). Las mediciones se realizaron en la formulación reconstituida justo después de la liofilización (sin almacenamiento). Todas las formulaciones con buenas características de estabilidad y reconstitución, tales como las formulaciones que comprenden ≥7 % de sacarosa, mostraron una osmolalidad aceptable. Sorprendentemente, las formulaciones que contienen metionina mostraron una osmolalidad muy baja.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende:

a. un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que comprende una región variable ligera como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada como se define en la SEQ ID NO: 8;

b. de 1 % a 20 % p/v de sacarosa;

c. un aminoácido o una mezcla de aminoácidos;

d. un tensioactivo; y

e. un pH de 4,0 a 7,5.

2. La composición farmacéutica según la reivindicación 1, donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo está a una concentración de 1 a 200 mg/mL, preferentemente de 50 a 150 mg/mL, más preferentemente de 80 a 140 mg/mL.

3. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende de 5 % a 13 % p/v de sacarosa, preferentemente de 7 % a 10 % p/v de sacarosa, más preferentemente 7 % p/v de sacarosa.

4. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde:

a. el aminoácido es histidina o prolina; o

b. la mezcla de aminoácidos comprende histidina y prolina.

5. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende del 0,01 al 1,0 % p/v, preferentemente del 0,01 % al 0,5 % p/v del tensioactivo.

6. La composición farmacéutica según la reivindicación 5, donde el tensioactivo es polisorbato 80.

7. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende de 1 mg/mL a 200 mg/mL de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, de 10 mM a 50 mM de histidina, de 10 a 300 mM de prolina, del 1 % al 20 % p/v de sacarosa, del 0,01 % al 1,0 % p/v de polisorbato 80, a pH 5,6; preferentemente, la composición comprende de 50 mg/mL a 150 mg/mL de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, de 20 mM a 40 mM de histidina, de 50 a 280 mM de prolina, del 5 % al 13 % p/v de sacarosa, del 0,01 % al 0,5 % p/v de polisorbato 80, a pH 5,6; más preferentemente, la composición comprende de 80 mg/mL a 140 mg/mL de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, 30 mM de histidina, 180 mM de prolina, 7 % p/v de sacarosa, 0,03 % p/v de polisorbato 80, a pH 5,6; e incluso más preferentemente, la composición comprende 100 mg/mL de anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, 30 mM de histidina, 180 mM de prolina, 7 % p/v de sacarosa, 0,03 % p/v de polisorbato 80, a pH 5,6.

8. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende además manitol y/o arginina y/o glicina.

9. Una formulación liofilizada que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno que comprende una región variable ligera como se define en la SEQ ID NO: 7 y una región variable pesada como se define en la SEQ ID NO: 8 y de 10 % a 40 % p/p de sacarosa.

10. La formulación liofilizada según la reivindicación 9, donde la formulación comprende además un aminoácido o una mezcla de aminoácidos, y opcionalmente un tensioactivo.

11. Una formulación farmacéutica líquida que comprende la formulación liofilizada según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 y un disolvente.

12. Un recipiente que comprende la formulación liofilizada según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 o la formulación farmacéutica líquida según la reivindicación 11.

13. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, la formulación liofilizada según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10 o la formulación farmacéutica líquida según la reivindicación 11 para su uso en terapia.

Fig. 1

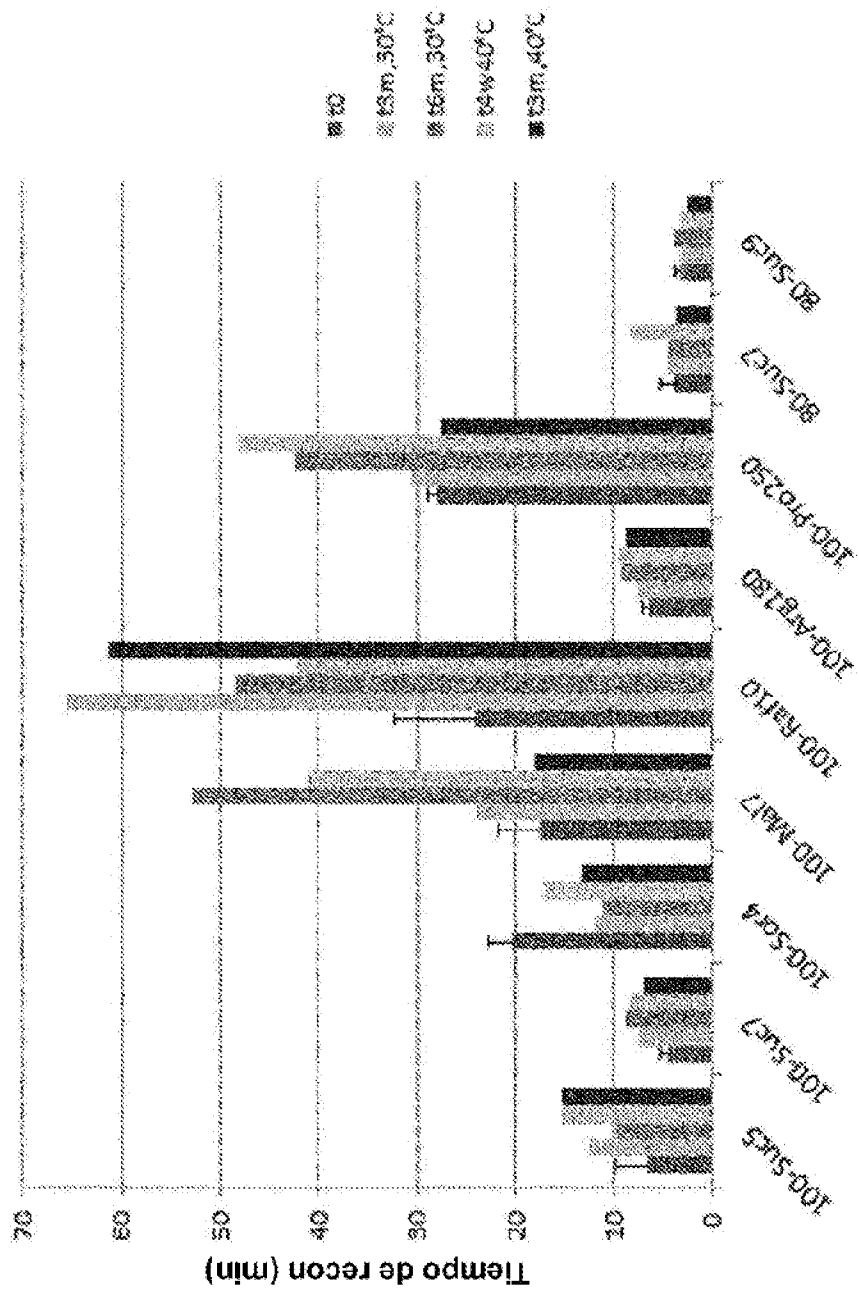


Fig. 2

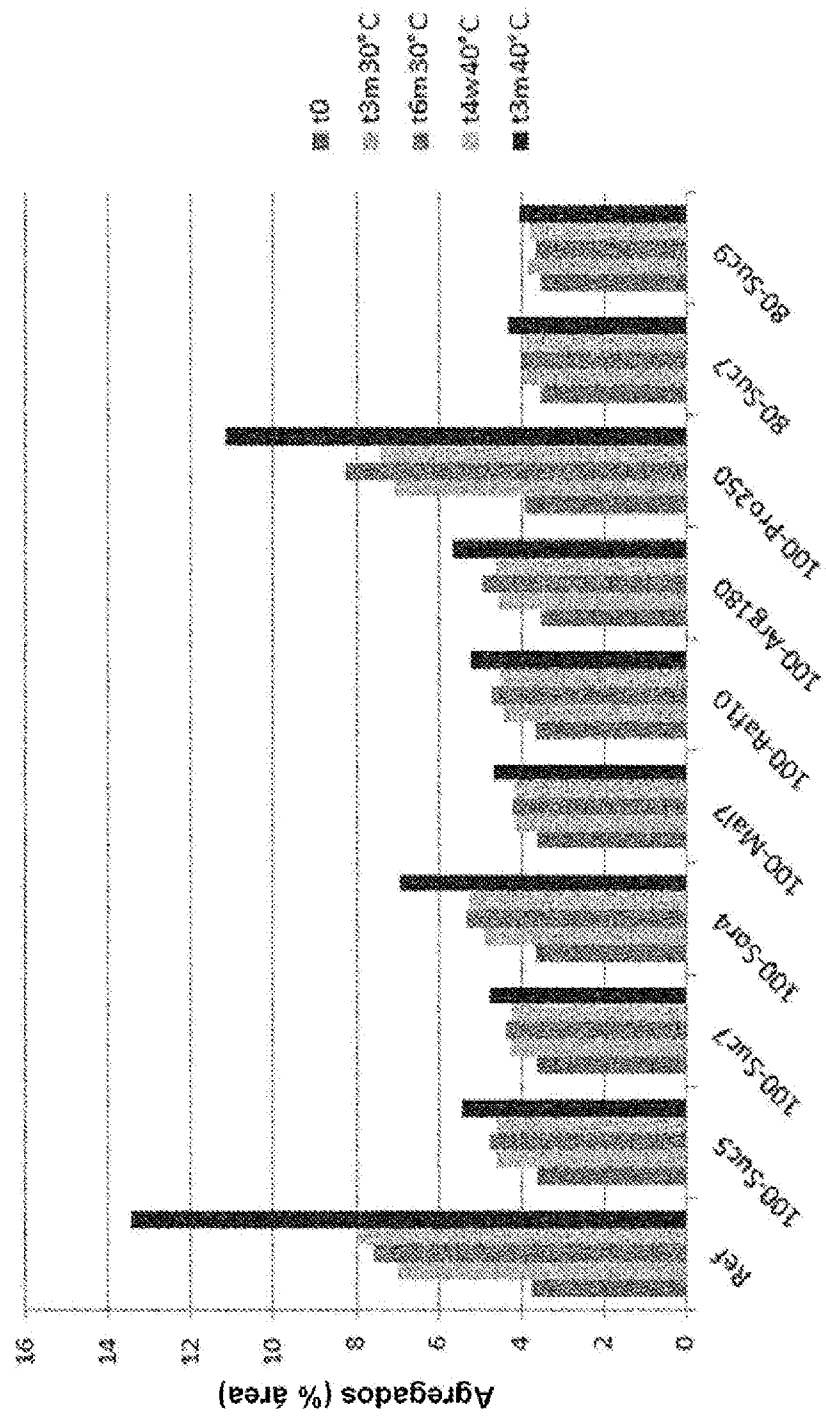


Fig. 3

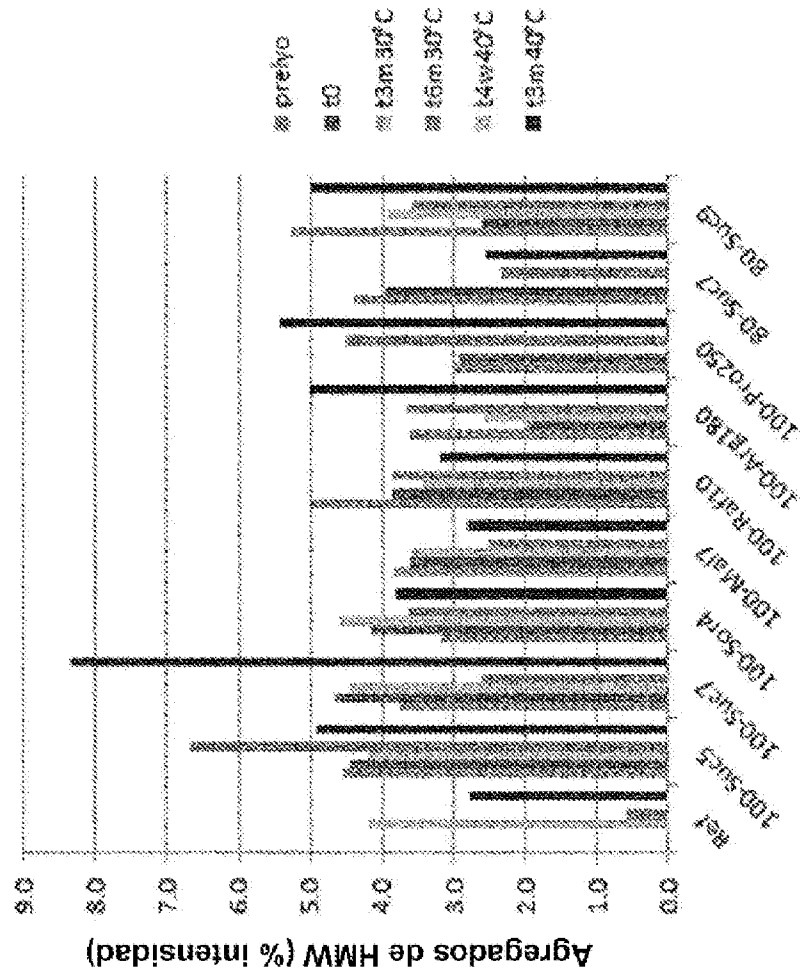


Fig. 4

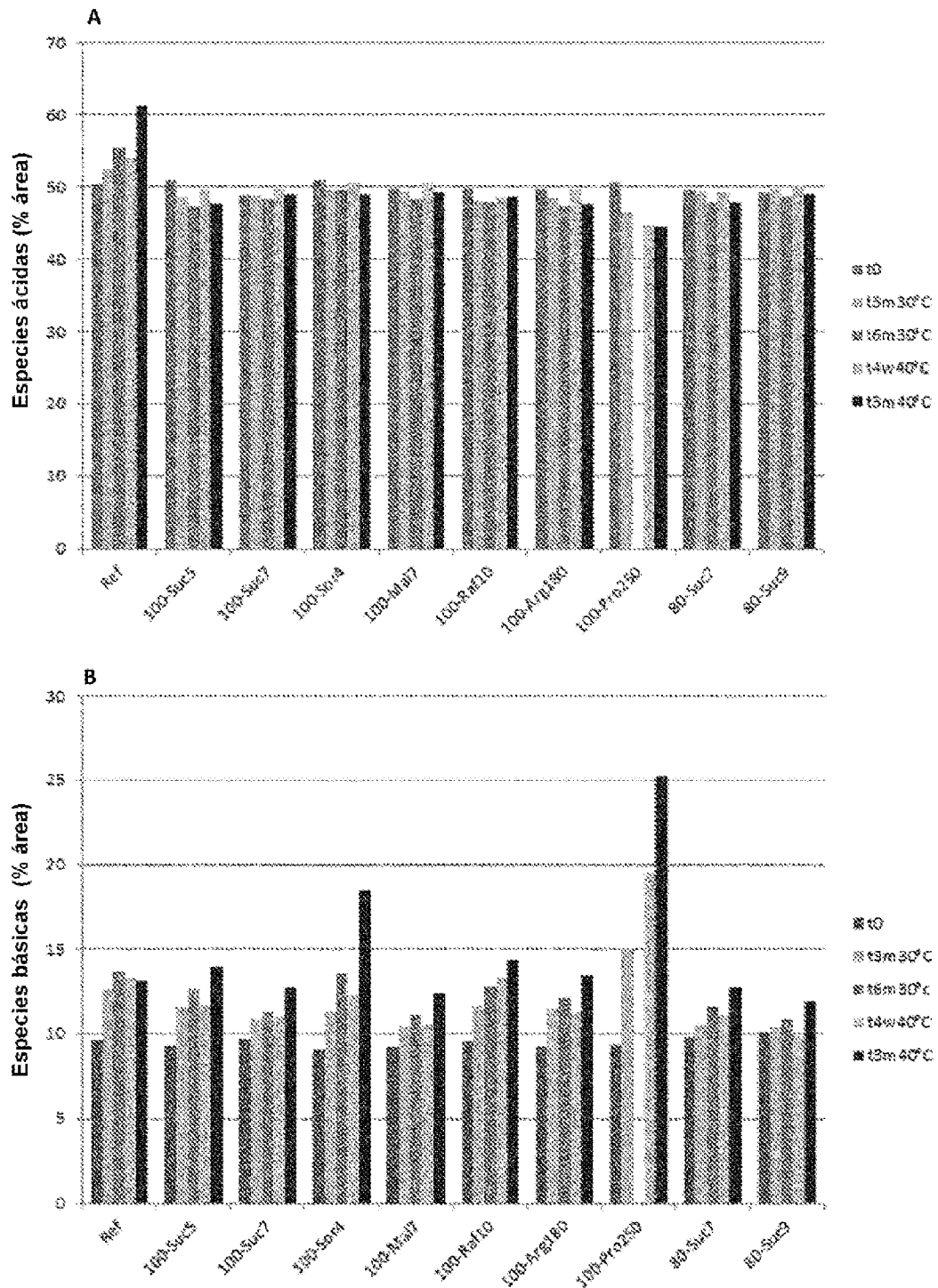


Fig. 5

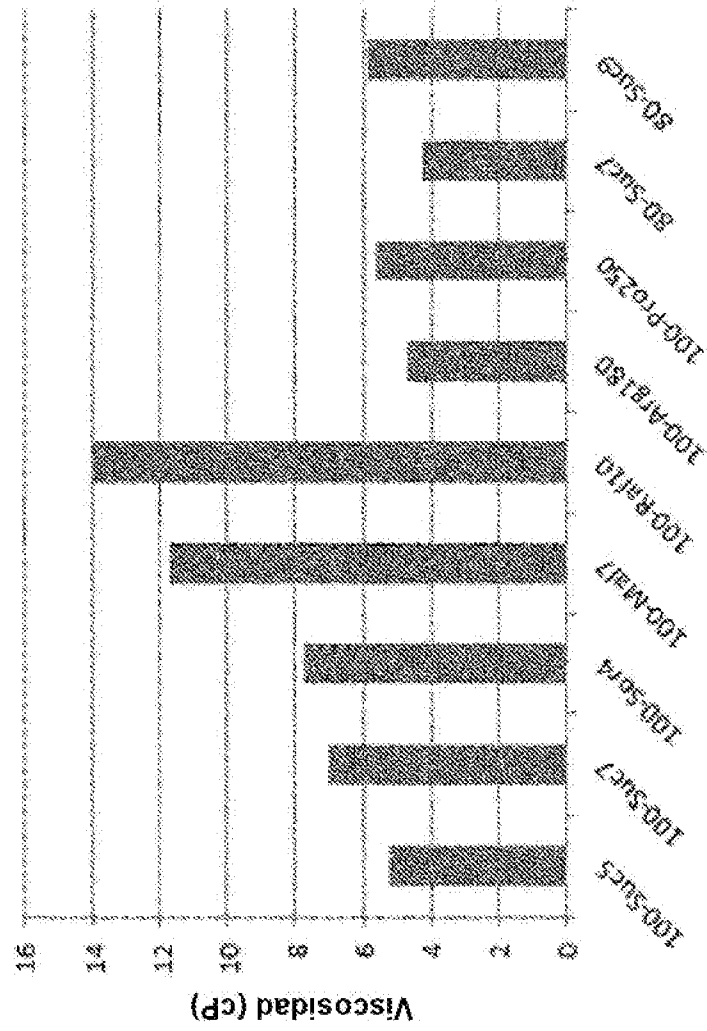


Fig. 6

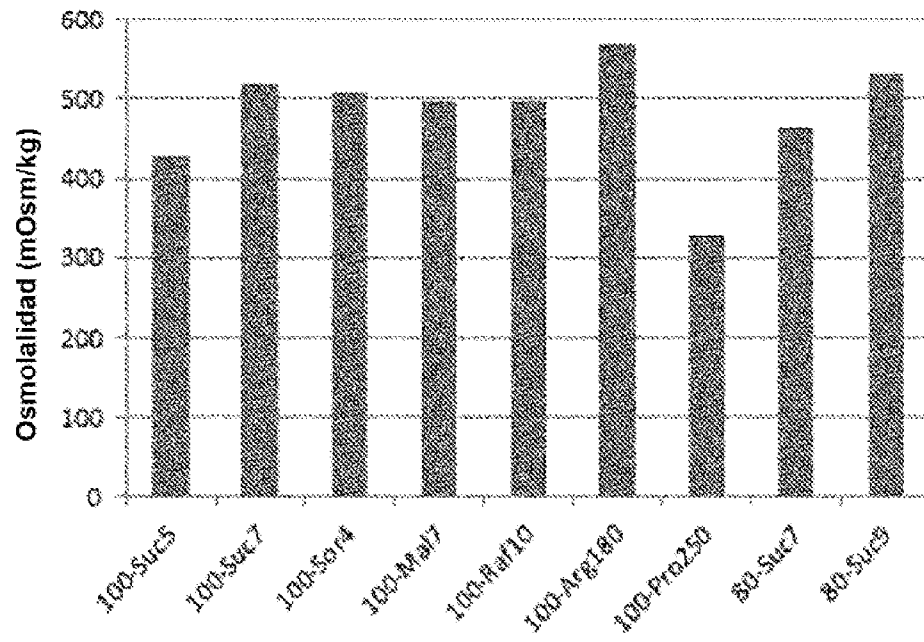


Fig. 7

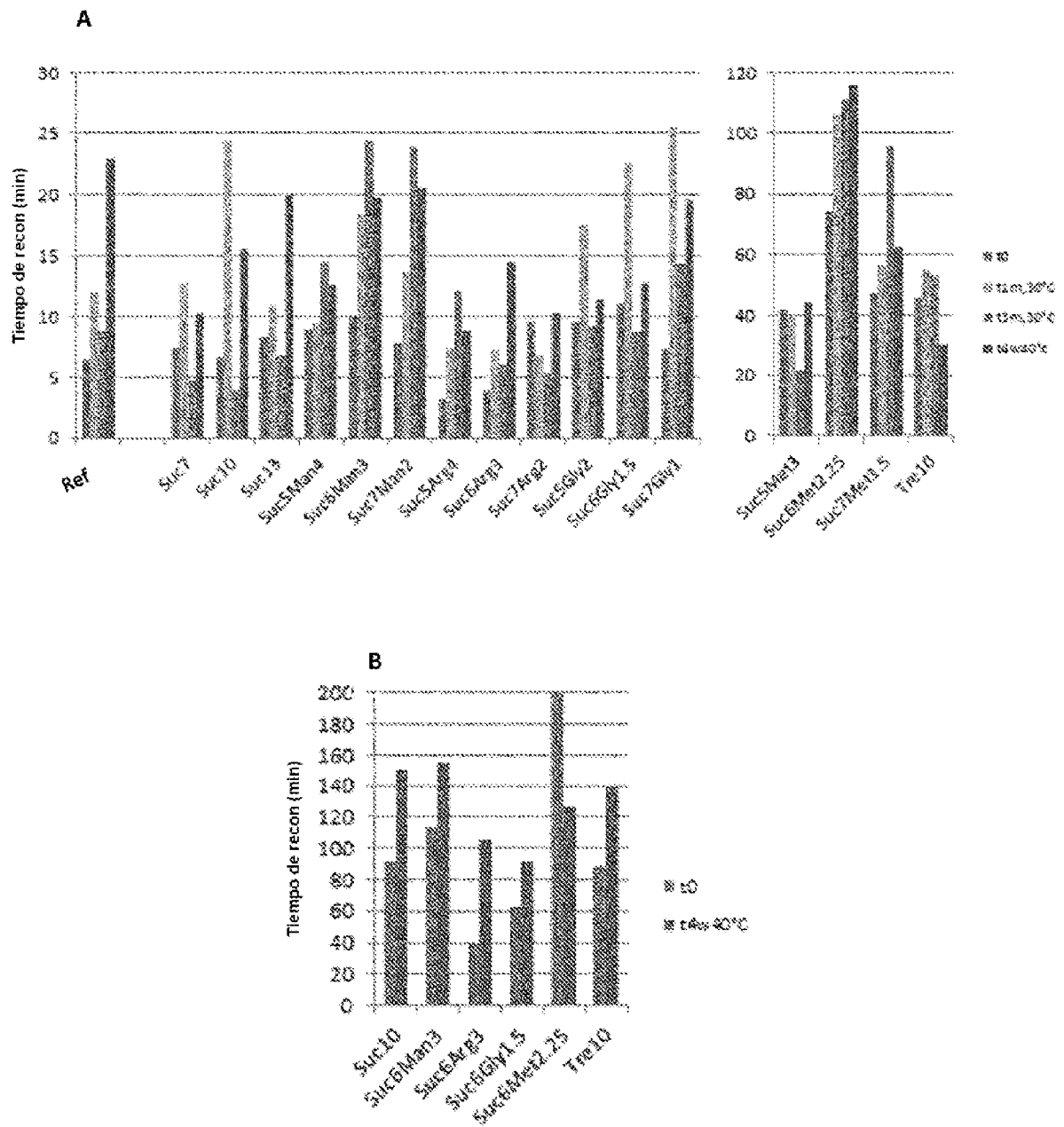


Fig. 8

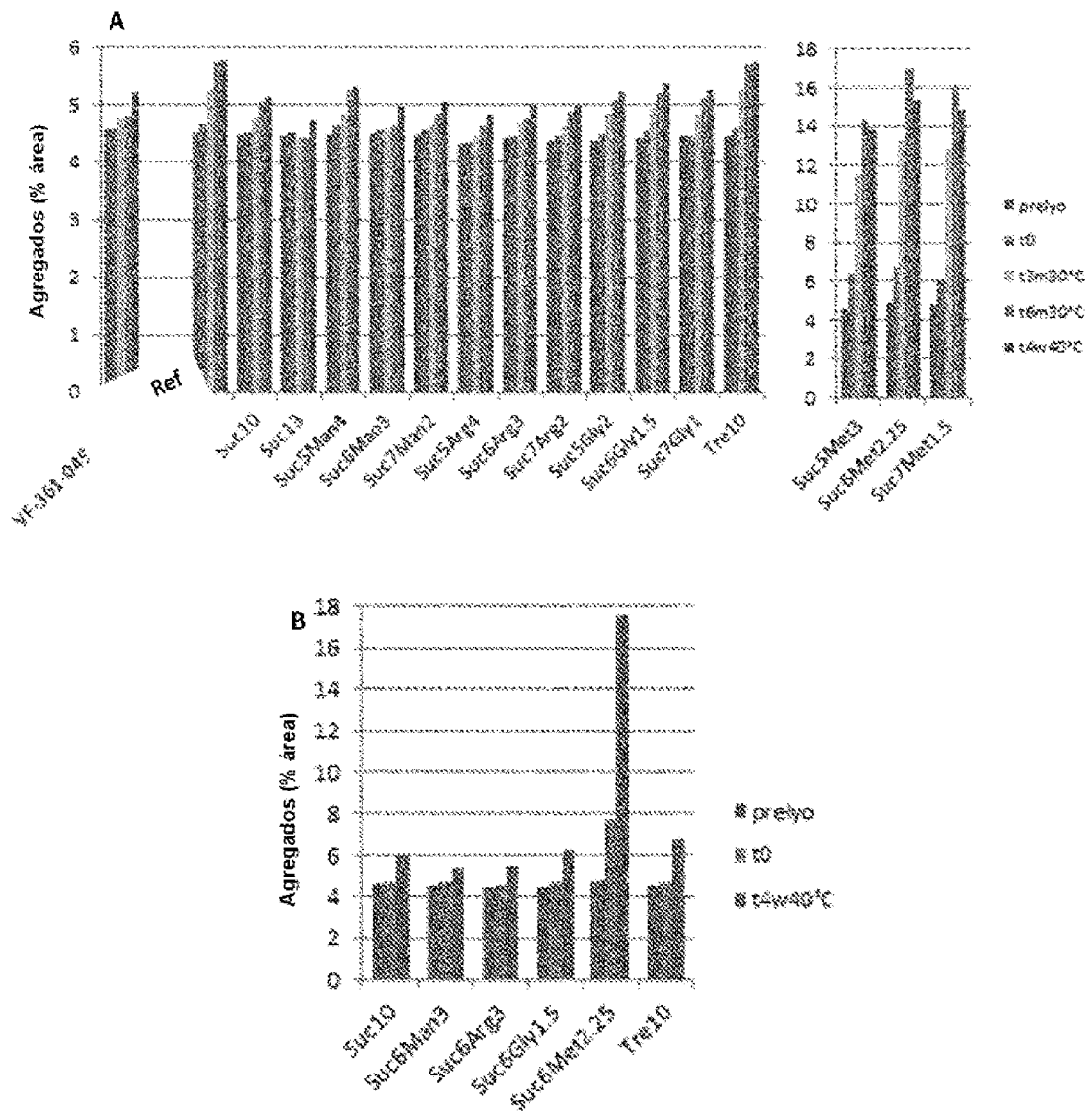


Fig. 9

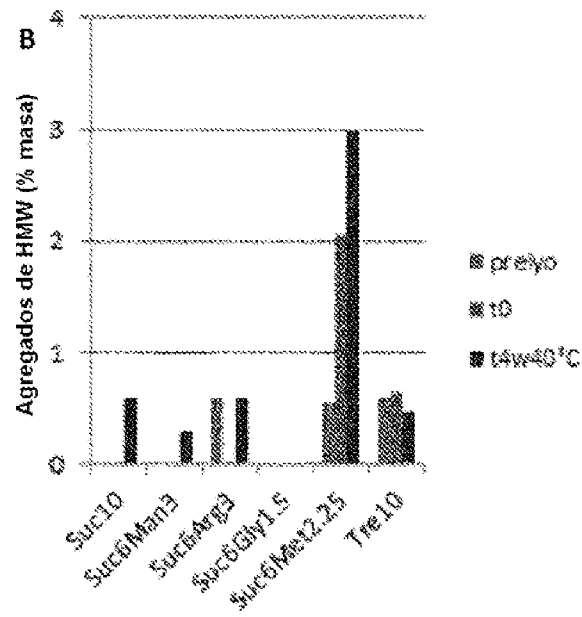
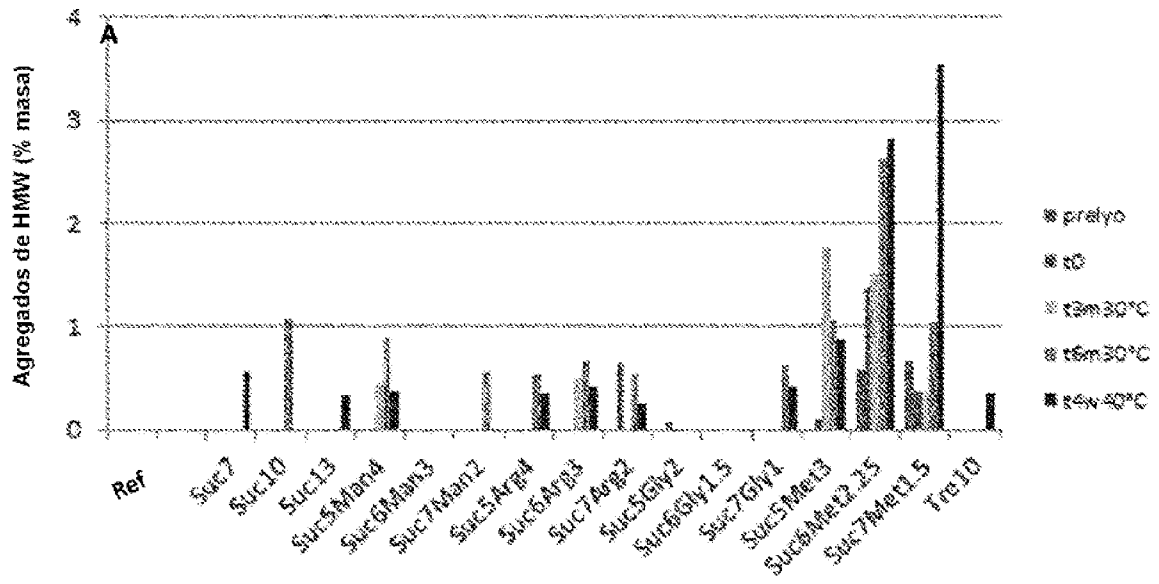


Fig. 10

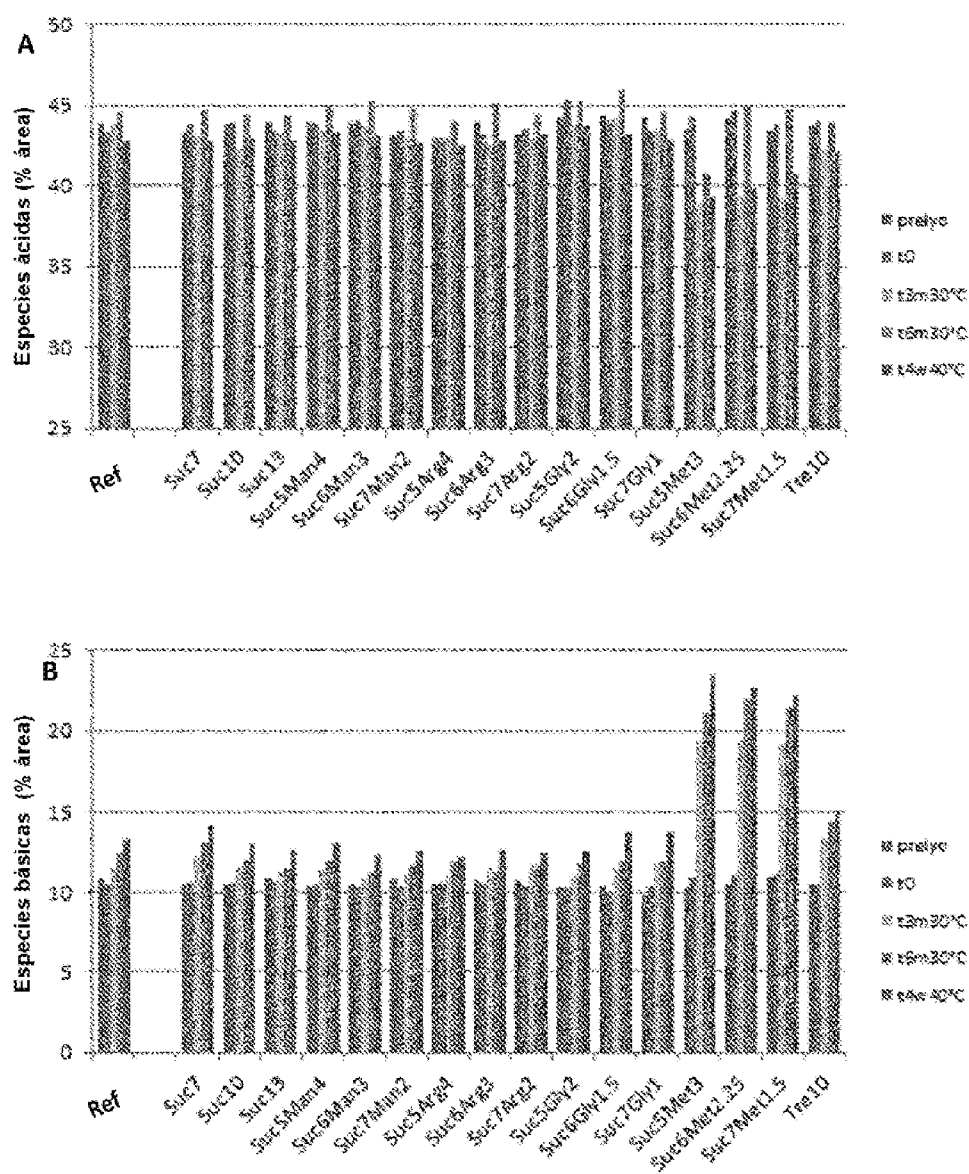


Fig. 11

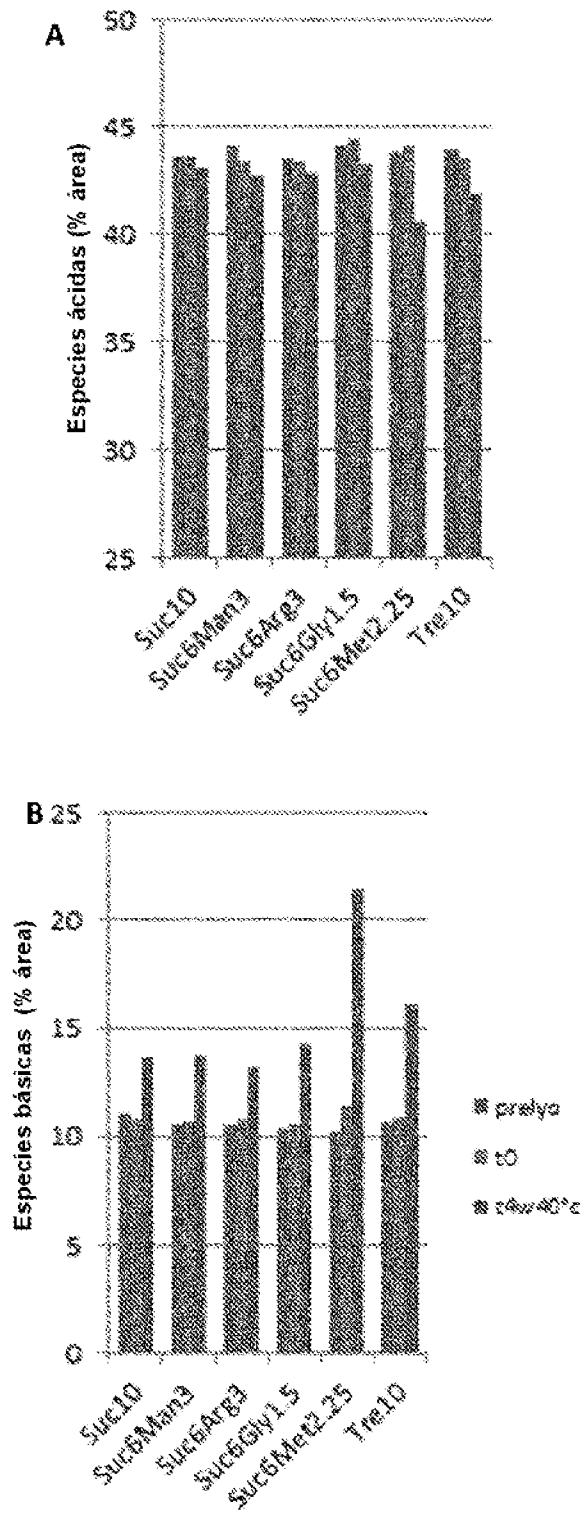


Fig. 12

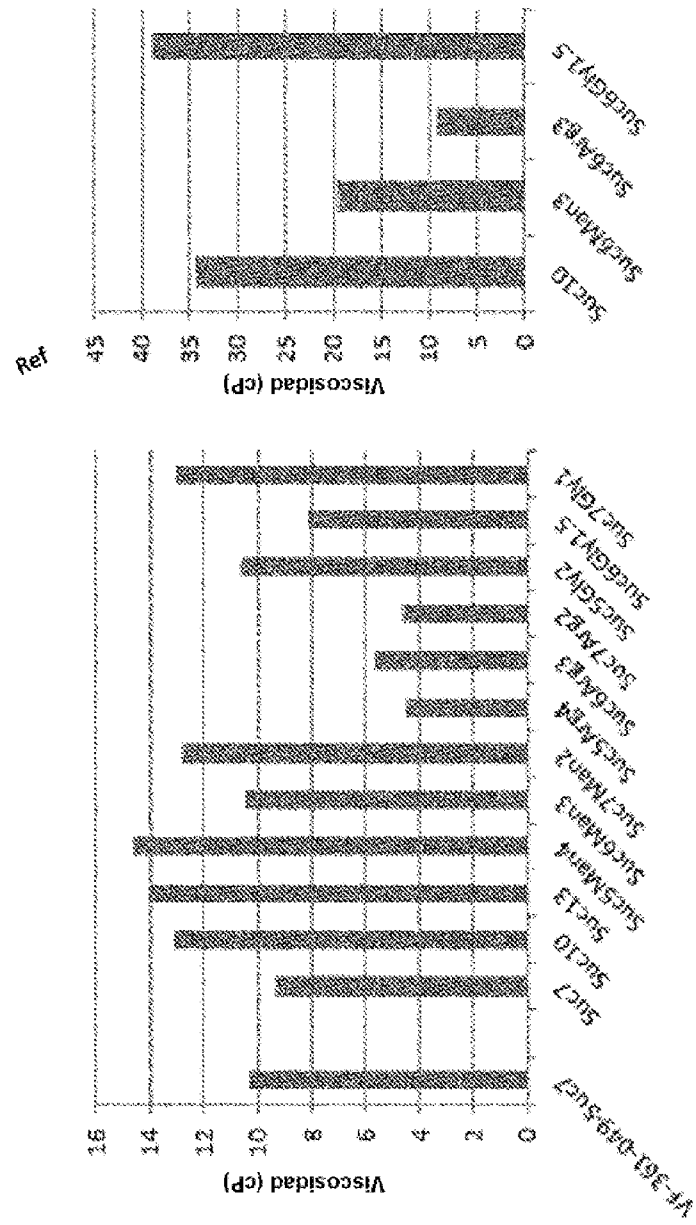


Fig. 13

