



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 976 305**

⑮ Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2015** PCT/IB2015/059836

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **30.06.2016** WO16103153

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2015** E 15823805 (5)

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.02.2024** EP 3237001

⑮ Título: **Productos farmacéuticos y composiciones líquidas estables de anticuerpos IL-17**

⑩ Prioridad:

22.12.2014 US 201462095210 P

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.07.2024

⑮ Titular/es:

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

⑮ Inventor/es:

JOERG, SUSANNE y
SERNO-SCHERSCH, KATHRIN

⑮ Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

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

ES 2 976 305 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

Productos farmacéuticos y composiciones líquidas estables de anticuerpos IL-17

5 CAMPO TÉCNICO

[0001] La divulgación está dirigida a productos farmacéuticos que comprenden composiciones farmacéuticas líquidas estables del anticuerpo IL-17 AIN457 (secukinumab), y procesos de fabricación de dichos productos farmacéuticos y 10 composiciones farmacéuticas líquidas.

10 ANTECEDENTES DE LA DIVULGACIÓN

[0002] La IL-17A es la linfoquina central de un subconjunto recientemente definido de células T inflamatorias, las 15 células Th17, que son fundamentales en varios procesos autoinmunes e inflamatorios. Se espera que la neutralización de la IL-17A trate la fisiopatología subyacente de la enfermedad inmunomedida y, como consecuencia, proporcione alivio de los síntomas. Secukinumab (AIN457) es un anticuerpo monoclonal antihumano totalmente humano de alta 20 afinidad que inhibe la actividad de la IL-17A, que ha surgido como posible tratamiento para pacientes con diversas enfermedades autoinmunes, por ejemplo, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, diabetes, asma, psoriasis crónica en placas y esclerosis múltiple. Varios estudios de fase II y III han demostrado que secukinumab es superior a placebo en la consecución del PASI 75 en el tratamiento de la psoriasis crónica en placas (p. ej., secukinumab 3×150 mg y 3×75 mg fueron superiores a placebo en la consecución del PASI 75 en la semana 12 (81,5% y 57,1%, respectivamente, frente a 1,5 mg). 9,1%) en el estudio CAIN457A2220. El secukinumab se utiliza 25 actualmente en estudios globales de fase III para el tratamiento de la psoriasis crónica en placas, y ha vuelto a mostrar superioridad sobre el placebo, y recientemente también sobre el etanercept.

[0003] La solicitud de patente internacional WO2012/059598 proporciona composiciones liofilizadas de secukinumab 30 a base de sacarosa, que se reconstituyen con 1 ml de agua inmediatamente antes de su uso. Sin embargo, el documento WO2012/059598 no divulga un producto farmacéutico listo para usar o una composición farmacéutica líquida de secukinumab que tenga estabilidad a largo plazo. De hecho, la estabilidad marginal de las proteínas en 35 composiciones líquidas impide a menudo su almacenamiento a largo plazo a temperatura ambiente o en condiciones de refrigeración. Además, en solución pueden producirse diversas reacciones físicas y químicas (agregación [covalente y no covalente], desamidación, oxidación, recorte, isomerización, desnaturalización), que conducen a un aumento de los niveles de productos de degradación y/o a la pérdida de bioactividad. Una composición comercial líquida de anticuerpos lista para usar debe proporcionar suficiente estabilidad física y química del anticuerpo durante 40 el envío y la manipulación para garantizar que se cumplan las declaraciones de dosis y seguridad del producto cuando se administre la molécula a un paciente. Específicamente, una composición líquida de anticuerpos aceptable debe mejorar la estabilidad y minimizar la degradación de las proteínas, especialmente la agregación de proteínas, para evitar reacciones inmunogénicas graves. Además, la composición también debe tener una osmolalidad y un valor de pH aceptables para la aplicación subcutánea y una viscosidad baja como requisito previo para la fabricación (composición, filtración, llenado) y la jeringabilidad. Equilibrar esta miríada de requisitos es difícil, lo que convierte en 45 un reto técnico la producción de una composición biofarmacéutica acuosa comercialmente viable.

[0004] Independientemente de los desafíos técnicos descritos anteriormente, ahora hemos desarrollado con éxito 45 productos farmacéuticos y composiciones farmacéuticas líquidas novedosas y beneficiosas, listos para usar, de los anticuerpos IL-17 y los fragmentos de unión a antígeno aquí divulgados, por ejemplo, secukinumab.

BREVE RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

[0005] La invención proporciona un producto farmacéutico que comprende:

- 50 a. un recipiente que tenga un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sea inferior al 12%, y
b. Una composición farmacéutica líquida estable con un pH de 5,2 a 6,2 dispuesta dentro de dicho recipiente, que comprende dicha composición:
55 i. 20 mg/ml a 175 mg/ml de secukinumab;
ii. 2,5 a 20 mM de L-metionina, y
iii. un estabilizador no iónico, un tensioactivo seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero, y un tampón de histidina.

60 [0006] La invención proporciona además un proceso para reducir la oxidación de secukinumab, que comprende:
a. Preparar una composición líquida estable con un pH de 5,2 a 6,2 y que comprenda:

- 65 i. 20 mg/ml a 175 mg/ml de secukinumab;
ii. de 2,5 mM a 20 mM de metionina; y
iii. un estabilizador no iónico, un tensioactivo seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero, y

un tampón de histidina,

- b. disponer dicha composición líquida en un recipiente con un espacio de cabeza; y
- c. ajustar el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza a menos o igual al 12%.

5 [0007] Además, la invención proporciona una composición farmacéutica líquida estable que comprende, 25 mg/ml a 150 mg/ml de secukinumab, 10 mM a 30 mM de histidina pH 5,2-6,2, 180 mM a 300 mM de trehalosa, 0,01% a 0,04% de polisorbato 80, y 2,5 mM a 20 mM de metionina.

10 [0008] La divulgación proporciona productos farmacéuticos que incluyen un contenedor (p. ej., pluma, jeringa, vial, autoinyector) que tiene un espacio de cabeza con menos de 12% de oxígeno (p. ej., menos de aproximadamente 10% de oxígeno, menos de aproximadamente 8% de oxígeno, menos de aproximadamente 6% de oxígeno, etc.), y una composición líquida como se define en las reivindicaciones anexas dispuesta dentro del contenedor. La composición líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado, sino que es una composición líquida lista para usar e incluye secukinumab, un tampón, un tensioactivo, metionina y un estabilizador, así como subcombinaciones de los mismos. Hemos determinado que el uso combinado de estabilizantes particulares con un bajo nivel de oxígeno en el espacio de cabeza del recipiente contribuye significativamente a la estabilidad a largo plazo del producto farmacéutico líquido, y evita la oxidación del anticuerpo IL-17 (secukinumab) incluido en la composición. Estas composiciones líquidas tienen excelentes propiedades, p. ejem.:

20 tras 13 meses de almacenamiento a 25° C, formación de agregados medida por SEC de ≤ 3,5 % para 2,5 mM de metionina, ≤ 3,0 % para 5 mM; y ≤ 2,2 % para 20 mM de composiciones que contienen metionina; y

25 tras 13 meses de almacenamiento a 25° C, productos de degradación por RP-HPLC (suma de variantes antes del pico principal) de ≤ 39,4 % para 2,5 mM, ≤ 37,8 % para 5,0 mM, y ≤ 34,5 % para 20 mM de composiciones que contienen metionina.

30 [0009] En consecuencia, se divulan aquí productos farmacéuticos que comprenden: un recipiente que tiene un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior al 12%, y una composición farmacéutica líquida que tiene un pH de 5,2 a 6,2 dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición que comprende: 20 mg/ml a 175 mg/ml de secukinumab; 2,5 a 20 mM de L-metionina, donde la composición farmacéutica líquida no está reconstituida a partir de un liofilizado.

35 [0010] También se divulan en el presente documento productos farmacéuticos que comprenden: un recipiente que tiene un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior a aproximadamente 6%; y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición que comprende aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml de secukinumab, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM de histidina pH 5,8, aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM de trehalosa, aproximadamente 0,02% de polisorbato 80 y aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 20 mM de metionina, en la que la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

45 [0011] También se divulan en el presente documento procesos para reducir la oxidación de secukinumab, que comprenden: preparar una composición líquida que tenga un pH de 5,2 a 6,2 y que comprenda: aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml de secukinumab; 2,5 mM a 20 mM de metionina; disponer dicha composición líquida en un recipiente que tenga un espacio de cabeza; y ajustar el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza a menos o igual a 12%.

50 [0012] También se divulan en el presente documento composiciones farmacéuticas líquidas estables que comprenden 25 mg/ml a 150 mg/ml de secukinumab, 10 mM a 30 mM de tampón (histidina) pH 5,8, aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM de estabilizador (p. ej., trehalosa), aproximadamente 0,02% de tensioactivo (p. ej., polisorbato 80) y 2,5 mM a 20 mM de metionina.

55 [0013] Estos productos farmacéuticos y composiciones líquidas estables pueden utilizarse para el tratamiento de diversos trastornos mediados por IL-17 (p. ej., trastornos autoinmunes, como psoriasis, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica y artritis reumatoide). Pueden prepararse kits que contengan estos productos farmacéuticos y composiciones líquidas estables.

60 [0014] Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en lo método de tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

65 [0015] Las Figuras 1A-D muestran el impacto de diferentes estabilizadores antioxidantes en la estabilidad del líquido

de secukinumab 150mg/ml en jeringa: estimaciones de parámetros para partículas subvisibles de 1µm por oscurecimiento de la luz (partículas/ml) después de 8 semanas a 5°C (A) especies de picos pre-principales por RP-HPLC (%) después de 8 semanas a 25°C (B) DP-SEC (%) después de 8 semanas a 40°C (C) AP-SEC (%) después de 8 semanas a 40°C (D).

5 La **Figura 2** muestra el efecto de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad de 25 mg/ml de secukinumab a 25°C de almacenamiento: especies de picos pre-principales por RP- HPLC (%). Línea discontinua gris: ajuste lineal a los datos de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza 10mM L-metionina/ 5%; línea discontinua negra: ajuste lineal a los datos de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza 0mM L-metionina/ 5 %.

10 La **Figura 3** muestra el efecto de la L-metionina, la trehalosa y el polisorbato 80 sobre la estabilidad de 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa almacenado durante 6 meses a 25°C: especies de picos pre-principales por RP-HPLC (%).

15 Las **Figuras 4A y B** muestran el efecto de la concentración de L-metionina en 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa de estabilidad almacenado a 5°C AP-SEC (%) (A) y especies de picos pre-principales por RP-HPLC (%) (B) en presencia de 5 mM y 0 mM de L-metionina.

20 La **Figura 5** muestra el efecto de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad del líquido secukinumab 150mg/ml en jeringa tras 30 meses a 5°C y 13 meses a 25°C: AP-SEC (%) (A) y especies de picos pre-principales por RP-HPLC (%) (B).

25 Las **Figuras 6A y B** muestran el efecto de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad de 25 mg/ml de secukinumab líquido en vial (10 % de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza) tras 3 meses de almacenamiento a 40°C AP-SEC (%) (A) y suma de impurezas por CE-SDS (no reductora) (%) (B).

30 La **Figura 7** muestra el efecto del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza en 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa almacenado a 25°C: AP-SEC (%).

35 Las **Figura 8A-D** muestran el efecto del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza y el volumen de llenado sobre la AP-SEC (%) en 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa tras su almacenamiento a 25°C (A, B) y 5°C (C, D). El volumen de llenado para A y C es de 0,5 ml. El volumen de llenado para B y D es de 1,0 ml.

40 La **Figura 9** muestra el efecto del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza y el volumen de llenado sobre la estabilidad de 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa después de 6 meses a 5°C y 25°C: pureza por RP-HPLC.

45 La **Figura 10** muestra el efecto de la concentración de L-metionina y el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sobre la estabilidad de 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa tras 6 meses de almacenamiento a 25°C (A): AP-SEC (%);

50 La **Figura 11** muestra el efecto de la purga de nitrógeno y de la concentración de L-metionina sobre la estabilidad del líquido secukinumab 150mg/ml en jeringa: especies de picos pre-principales por RP-HPLC (%).

55 Las **Figuras 12A y B** muestran el efecto del pH sobre la estabilidad de 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa tras 4 semanas de almacenamiento a 40°C: estimaciones a escala/2 (efecto del aumento del pH en 0,3 unidades) para la estabilidad de las especies de picos preprincipales por RP-HPLC (% de cambio) (A) y AP-SEC (% de cambio) (B).

60 La **Figura 13A-D** muestra el efecto del pH sobre la estabilidad de 150 mg/ml de secukinumab Líquido en Jeringa tras su almacenamiento a 5°C: Turbidez (NTU) (A), Pureza por SEC (%) (B), Variantes ácidas por CEX (%) (C), AP-SEC (%) (D).

65 La **Figura 14** muestra el impacto del estabilizador en la estabilidad de 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa tras 8 semanas de almacenamiento a 25°C: estimaciones de parámetros para AP-SEC.

70 La **Figura 15** muestra el efecto del tensioactivo sobre la estabilidad del líquido secukinumab 150 mg/ml en jeringa tras agitación: Estimaciones de parámetros para partículas subvisibles $\geq 1 \mu\text{m}$ por oscurecimiento de la luz (partículas por ml).

75 La **Figura 16A-D** muestra el efecto del tipo de tampón en la estabilidad de 150 mg/ml de secukinumab líquido en jeringa: estimaciones de parámetros para AP-SEC (%) después de estrés por congelación-descongelación (A), AP-SEC (%) después de estrés por agitación (B), especies de picos pre-principales por RP-HPLC (%) después de 8 semanas de almacenamiento a 25°C (C), DP-SEC (%) después de estrés por agitación (D).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

55 **[0016]** El término "que comprende" engloba tanto "que incluye" como "que consiste en", p. ej., una composición "que comprende" X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo adicional, p. ej., X + Y.

60 **[0017]** El término "aproximadamente" en relación con un valor numérico x significa $+/-10\%$ a menos que el contexto indique lo contrario.

65 **[0018]** Por "mensual" se entiende aproximadamente cada 4 semanas (p. ej., cada 4 semanas), lo que equivale aproximadamente a cada 28 días (p. ej., cada 28 días).

70 **[0019]** El término "anticuerpo" al que se hace referencia aquí incluye anticuerpos enteros y cualquier fragmento de unión a antígeno o cadenas simples de los mismos. Un "anticuerpo" natural es una glicoproteína que comprende al

menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada se compone de una región variable de cadena pesada (abreviada aquí como V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de la cadena pesada se compone de tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera se compone de una región variable de cadena ligera (abreviada aquí como V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de la cadena ligera consta de un dominio, CL. Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse a su vez en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones hipervariables o regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones de entramado (FR). Cada V_H y V_L se compone de tres CDR y cuatro FR dispuestas desde el amino-terminal al carboxi-terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar la unión de la inmunoglobulina a tejidos o factores del huésped, incluidas diversas células del sistema inmunitario (p. ej., células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema clásico del complemento. En los métodos, regímenes, kits, procesos, usos y composiciones divulgados, secukinumab se emplea como anticuerpo frente a IL-17.

[0020] Un "anticuerpo aislado", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigenicas (p. ej., un anticuerpo aislado que se une específicamente a IL-17 está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos de IL-17). Lo término "anticuerpo monoclonal" o "composición de anticuerpo monoclonal" utilizados en el presente documento se refieren a una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única. El término "anticuerpo humano", tal y como se utiliza aquí, pretende incluir anticuerpos que tengan regiones variables en las que tanto de entramado como las CDR deriven de secuencias de origen humano. No es necesario que un "anticuerpo humano" sea producido por un ser humano, un tejido humano o una célula humana. Los anticuerpos humanos de la divulgación pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias humanas (p. ej., mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro*, por adición de nucleótidos N en uniones *in vivo* durante la recombinación de genes de anticuerpos, o por mutación somática *in vivo*).

[0021] El término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo, tal como se utiliza aquí, se refiere a fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (p. ej., IL-17). Se ha demostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede ser desempeñada por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Ejemplos de fragmentos de unión englobados dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen un fragmento Fab, un fragmento monovalente formado por los dominios V_L , V_H , CL y CH1; un fragmento F(ab)2, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; un fragmento Fd que consiste en los dominios V_H y CH1; un fragmento Fv que consiste en los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo; un fragmento dAb (Ward et al., 1989 *Nature* 341:544-546), que consiste en un dominio V_H y un CDR aislado. Los sitios de unión a antígenos ejemplares incluyen las CDR de secukinumab tal y como se establecen en SEQ ID N.º: 1-6 y 11-13 (**Tabla 1**), preferentemente la CDR3 de la cadena pesada. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, V_L y V_H , están codificados por genes separados, pueden unirse, utilizando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que permite fabricarlos como una única cadena proteica en la que las regiones V_L y V_H se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena única (scFv); véanse, por ejemplo, Bird et al., 1988 *Science* 242:423-426; y Huston et al., 1988 *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:5879-5883). Dichos anticuerpos de cadena simple también se incluyen en el término "anticuerpo". Los anticuerpos de cadena simple y los fragmentos de unión a antígeno se obtienen mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia.

[0022] El término "producto farmacéutico" se refiere a un recipiente (p. ej., pluma, jeringa, bolsa, bomba, etc.) que contiene una composición farmacéutica. Por "recipiente" se entiende cualquier medio para contener una composición farmacéutica líquida, por ejemplo, una pluma, una jeringa, un vial, un autoinyector, un parche, etc. Cada recipiente tiene un "espacio libre", es decir, un área dentro del recipiente que no contiene la composición farmacéutica líquida. Este espacio de cabeza contiene gas, por ejemplo, una mezcla de oxígeno y otros gases que normalmente se encuentran en el aire. El nivel de oxígeno en el espacio de cabeza puede regularse, por ejemplo, introduciendo un gas inerte (nitrógeno, argón, etc.) en el espacio de cabeza en lugar de oxígeno. Esto puede lograrse de forma activa, por ejemplo, purgando, o pasiva, por ejemplo, colocando un recipiente en un sistema y eliminando el oxígeno (p. ej., por vacío, etc.). La purga, por ejemplo, utilizando un gas inerte, preferiblemente nitrógeno, puede producirse antes del llenado de la composición en el recipiente, durante el llenado, o antes y durante la colocación del tapón. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "contenido de oxígeno en el espacio de cabeza" se refiere al porcentaje de oxígeno que se encuentra en el espacio de cabeza de un recipiente determinado.

[0023] Una composición "estable" es aquella en la que la proteína que contiene conserva esencialmente su estabilidad (p. ej., su actividad física, química y/o biológica) tras el almacenamiento. Se dispone de varias técnicas analíticas para medir la estabilidad de las proteínas y se revisan en Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) y Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10:29-90 (1993). La estabilidad puede medirse a una temperatura seleccionada durante un periodo de tiempo seleccionado. Una composición líquida de anticuerpos "estable" es una composición líquida de anticuerpos sin cambios significativos observados a temperatura refrigerada (2-8° C) durante al menos 6 meses, 12 meses, preferiblemente 2 años, y más preferiblemente 3 años; o a temperatura ambiente (23-27° C) durante al menos 3 meses, preferiblemente 6 meses, y más

preferiblemente 1 año; o en condiciones estresadas (~40°C) durante al menos 1 mes, preferiblemente 3 meses, y más preferiblemente 6 meses. Pueden emplearse diversos criterios de estabilidad, por ejemplo, que no se degrade más del 10%, preferiblemente el 5%, del monómero del anticuerpo (p. ej., medido por pureza SEC, pureza RP-HPLC, pureza CEX, pureza CE-SDS (no reductora), etc.). Alternativamente, la estabilidad puede demostrarse si la solución permanece de transparente a ligeramente opalescente mediante análisis visual o utilizando nefelometría. Alternativamente, la estabilidad puede demostrarse si la concentración, el pH y la osmolalidad de la composición no tienen más de +/-10% de variación durante un período de tiempo determinado, por ejemplo, al menos 3 meses, preferiblemente 6 meses, y más preferiblemente 1 año. Alternativamente, la estabilidad puede demostrarse si la potencia (p. ej., medida por la actividad biológica en un ensayo de inhibición o CEX, etc.) está dentro del 70-130% (p. ej., al menos 70%, al menos 75%, al menos 76%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 95%), preferiblemente 80-120% de un control durante un período de tiempo dado, p. ej., al menos 3 meses, preferiblemente 6 meses, y más preferiblemente 1 año. Alternativamente, la estabilidad puede demostrarse si no se observa más de un 10%, preferiblemente un 5% de recorte del anticuerpo (p. ej., medido por DP-SEC, etc.) durante un período de tiempo determinado, por ejemplo, al menos 3 meses, preferiblemente 6 meses, y más preferiblemente 1 año. Alternativamente, la estabilidad puede demostrarse si se forman menos del 10%, preferiblemente menos del 5% de agregados (p. ej., medidos por AP-SEC, etc.) durante un período de tiempo determinado, p. ej., al menos 3 meses, preferiblemente 6 meses, y más preferiblemente 1 año. Alternativamente, la estabilidad puede demostrarse si, tras 13 meses de almacenamiento a 25°C, la formación de agregados medida por SEC es ≤ aproximadamente 3,5 %, ≤ aproximadamente 3,0 %; o ≤ aproximadamente 2,2 %. Alternativamente, puede demostrarse la estabilidad si, tras 13 meses de almacenamiento a 25 °C, la formación de productos de degradación (medida por RP-HPLC (especies de pico preprincipal)) es ≤ aproximadamente 39,4 %, ≤ aproximadamente 37,8 %, o ≤ aproximadamente 34,5 %.

[0024] Un anticuerpo conserva su estabilidad física en una composición farmacéutica si no muestra un aumento significativo de agregación, precipitación y/o desnaturización al examinar visualmente el color y/o la claridad (turbidez), o medido por dispersión de luz UV, cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) y dispersión dinámica de luz (DLS). Además, la conformación de la proteína no debe alterarse significativamente, por ejemplo, según lo evaluado por espectroscopia de fluorescencia (determina la estructura terciaria de la proteína) o por espectroscopia FTIR (determina la estructura secundaria de la proteína).

[0025] Un anticuerpo conserva su estabilidad química en una composición farmacéutica si no muestra ninguna alteración química significativa. La estabilidad química puede evaluarse detectando y cuantificando formas químicamente alteradas de la proteína. Los procesos de degradación que suelen alterar la estructura química de la proteína incluyen la hidrólisis o el recorte (evaluados por métodos como la cromatografía de exclusión por tamaño [SEC] y SDS-PAGE), la oxidación (evaluada por métodos como el mapeo peptídico junto con la espectroscopia de masas o MALDI/TOF/MS), desamidación (evaluada por métodos como la cromatografía de intercambio catiónico (CEX), el enfoque isoeléctrico capilar, el mapeo peptídico, la medición del ácido isoaspártico), e isomerización (evaluada mediante la medición del contenido de ácido isoaspártico, el mapeo peptídico, etc.).

[0026] Un anticuerpo conserva su actividad biológica en una composición farmacéutica, si la actividad biológica de la proteína/anticuerpo en un momento dado está dentro de un rango predeterminado de la actividad biológica exhibida en el momento en que se preparó la composición farmacéutica. La actividad biológica de un anticuerpo puede determinarse, por ejemplo, mediante un ensayo ELISA de unión a antígeno, un ensayo de potencia (p. ej., evaluando la capacidad de un anticuerpo IL-17 (p. ej., secukinumab) para unirse a IL-17 e inhibir la liberación de IL-6 de los condrocitos), o la derivatización cisteamina-CEX.

[0027] Tal como se utiliza aquí, "pureza por RP-HPLC" se refiere al porcentaje de pico principal en RP-HPLC y puede utilizarse para evaluar la estabilidad de secukinumab. La RP-HPLC se utiliza para separar el secukinumab y sus variantes en función de su hidrofobicidad. Las especies anteriores al pico principal por RP-HPLC son la suma porcentual de los picos que eluyen antes del pico principal, que pueden contener especies fragmentadas, isomerizadas y oxidadas del anticuerpo.

[0028] Tal como se utiliza aquí, "pureza por CEX" se refiere al porcentaje de pico principal en CEX y puede utilizarse para evaluar la estabilidad del anticuerpo secukinumab. CEX se utiliza para evaluar la heterogeneidad de carga de secukinumab midiendo el porcentaje de variantes ácidas y básicas.

[0029] Tal como se utiliza aquí, "pureza por SEC" se refiere al porcentaje de monómero en SEC y puede utilizarse para evaluar la estabilidad de secukinumab. SEC se utiliza para separar el secukinumab monomérico de los agregados y fragmentos en función de su tamaño en condiciones no desnaturizantes. La suma de los picos que eluyen antes del pico principal se indica como porcentaje de productos de agregación (AP-SEC), la suma de los picos que eluyen después del pico principal como porcentaje de productos de degradación (DP-SEC).

[0030] Tal como se utiliza aquí, "pureza por CE-SDS" se refiere al porcentaje de anticuerpo intacto en CE-SDS y puede utilizarse para evaluar la estabilidad de secukinumab. El CE-SDS se utiliza para separar los productos secundarios y de degradación del secukinumab intacto según su tamaño molecular en condiciones no reductoras. La suma de los picos separados del pico principal se indica como porcentaje de impurezas.

5 [0031] La frase "composición farmacéutica líquida", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una composición acuosa que no está reconstituida a partir de un liofilizado y que contiene al menos un anticuerpo IL-17 o fragmento de unión a antígeno del mismo (p. ej., secukinumab) y al menos un excipiente adicional (p. ej., un tampón). La composición farmacéutica líquida puede incluir excipientes adicionales (estabilizantes, tensioactivos) y principios activos adicionales. Este tipo de formulación también se denomina "lista para usar".

10 15 [0032] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "liofilizado" se refiere a composiciones farmacéuticas secas (p. ej., liofilizadas) desprovistas en gran medida de agua. Las técnicas de liofilización de anticuerpos son bien conocidas en la técnica, por ejemplo, véase Rey & May (2004) Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical & Biological Products ISBN 0824748689. Los liofilizados se reconstituyen para obtener composiciones acuosas, normalmente para uso inmediato (p. ej., en un plazo de 1 a 10 días), ya que los liofilizados reconstituidos tienden a tener una vida útil limitada.

20 25 [0033] El término "alta concentración" se refiere a una composición que contiene más de 50 mg/ml de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En realizaciones preferidas, una composición líquida de alta concentración contiene \geq aproximadamente 50 mg/ml, \geq aproximadamente 75 mg/ml, \geq aproximadamente 100 mg/ml, \geq aproximadamente 125 mg/ml, \geq aproximadamente 150 mg/ml, \geq aproximadamente 175 mg/ml, \geq aproximadamente 200 mg/ml, o \geq aproximadamente 225 mg/ml.

30 35 [0034] El término "IL-17" se refiere a la IL-17A, anteriormente conocida como CTLA8, e incluye la IL-17A de tipo salvaje de varias especies (p. ej., humana, de ratón y de mono), las variantes polimórficas de la IL-17A y los equivalentes funcionales de la IL-17A. Los equivalentes funcionales de IL-17A según la presente divulgación tienen preferentemente al menos un 65%, 75%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98%, o incluso un 99% de identidad de secuencia global con una IL-17A de tipo salvaje (p. ej., IL-17A humana), y retienen sustancialmente la capacidad de inducir la producción de IL-6 por fibroblastos dérmicos humanos.

40 45 [0035] El término " K_D " se refiere a la tasa de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular. El término " K_D ", tal como se utiliza en el presente documento, hace referencia a la constante de disociación, que se obtiene a partir de la relación entre K_d y K_a (es decir, K_d/K_a) y se expresa como concentración molar (M). Los valores de K_D para los anticuerpos pueden determinarse utilizando métodos bien establecidos en la técnica. Un método para determinar la K_D de un anticuerpo es utilizando la resonancia de plasmón superficial, o utilizando un sistema biosensor como un sistema Biacore®. En algunas realizaciones, el anticuerpo IL-17 se une a la IL-17 humana con una K_D de aproximadamente 100-250 pM (medida por Biacore®).

50 55 [0036] El término "afinidad" se refiere a la fuerza de interacción entre el anticuerpo y el antígeno en sitios antigenéticos únicos. Dentro de cada sitio antigenético, la región variable del "brazo" del anticuerpo interactúa mediante fuerzas no covalentes débiles con el antígeno en numerosos sitios; cuantas más interacciones, mayor afinidad. Los ensayos estándar para evaluar la afinidad de unión de los anticuerpos hacia la IL-17 de varias especies son conocidos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, ELISAs, western blots y RIAs. La cinética de unión (p. ej., la afinidad de unión) de los anticuerpos también puede evaluarse mediante ensayos estándar conocidos en la técnica, como el análisis Biacore®.

60 65 [0037] Tal como se utilizan aquí, los términos "sujeto" y "paciente" incluyen cualquier animal humano o no humano. El término "animal no humano" incluye a todos los vertebrados, por ejemplo, mamíferos y no mamíferos, como primates no humanos, ovejas, perros, gatos, caballos, vacas, pollos, anfibios, reptiles, etc.

70 75 [0038] Se entenderá que un anticuerpo que "inhibe" una o más de estas propiedades funcionales de la IL-17 (p. ej., actividades bioquímicas, inmunoquímicas, celulares, fisiológicas u otras actividades biológicas, o similares) según se determine de acuerdo con metodologías conocidas en la técnica y descritas en el presente documento, se refiere a una disminución estadísticamente significativa de la actividad particular en relación con la observada en ausencia del anticuerpo (o cuando está presente un anticuerpo de control de especificidad irrelevante). Un anticuerpo que inhibe la actividad de IL-17 afecta a una disminución estadísticamente significativa, por ejemplo, en al menos aproximadamente el 10% del parámetro medido, en al menos el 50%, 80% o 90%, y en ciertas realizaciones de los métodos, usos, procesos, kits y composiciones divulgados, el anticuerpo de IL-17 utilizado puede inhibir más del 95%, 98% o 99% de la actividad funcional de IL-17.

80 85 [0039] "Inhibir la IL-6", tal como se utiliza aquí, se refiere a la capacidad de un anticuerpo IL-17 (p. ej., secukinumab) para disminuir la producción de IL-6 de los condrocitos. La actividad biológica del anticuerpo IL-17 o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, secukinumab, puede medirse en función de su capacidad para inhibir la liberación de IL-6 inducida por IL-17 a partir de una línea celular de condrocitos humanos inmortalizados, por ejemplo, C-20/A4. En resumen, el primer día del ensayo, las células C-20/A4 se siembran en placas de 96 pocillos, se dejan adherir y luego se incuban durante la noche en presencia de una concentración fija submáxima de IL-17 (p. ej., a aproximadamente 20-200 ng/ml, p. ej., aproximadamente 80 ng/ml, en el medio de cultivo) y varias concentraciones de anticuerpo (p. ej., a aproximadamente 0,01 ug/ml - aproximadamente 4 ug/ml, p. ej., aproximadamente 0,5 μ g/ml - aproximadamente 2 μ g/ml, en la placa de ensayo). Se incluye TNFalfa, que facilita la producción de IL-6 inducida por IL-17 (p. ej., a aproximadamente 0,01 ng/ml - aproximadamente 1 ng/ml, por ejemplo, aproximadamente 0,5 ng/ml, en

el medio de cultivo) para aumentar el rango dinámico del ensayo. El segundo día, la concentración de IL-6 en los sobrenadantes celulares se cuantifica mediante ELISA. La cantidad de IL-6 en los sobrenadantes celulares es inversamente proporcional a la actividad del anticuerpo IL-17 presente en la muestra. La actividad biológica de una muestra de prueba de anticuerpos se cuantifica comparando su capacidad de inhibir la liberación de IL-6 dependiente de IL-17 con la de un estándar de referencia de anticuerpos. Las muestras y el patrón se normalizan en función del contenido de proteínas. La potencia relativa se calcula utilizando un ensayo de línea paralela según la Farmacopea Europea. El resultado final se expresa como potencia relativa (en porcentaje) de una muestra en comparación con el patrón de referencia.

5 **[0040]** El término "derivado", a menos que se indique lo contrario, se utiliza para definir variantes de secuencia de aminoácidos, y modificaciones covalentes (p. ej., pegilación, desamidación, hidroxilación, fosforilación, metilación, etc.) de un anticuerpo IL-17 o fragmento de unión a antígeno del mismo, p. ej., secukinumab, según la presente divulgación, p. ej., de una secuencia especificada (p. ej., un dominio variable). Un "derivado funcional" incluye una

10 molécula que tiene una actividad biológica cualitativa en común con los anticuerpos IL-17 divulgados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Un derivado funcional incluye fragmentos y análogos peptídicos de un anticuerpo IL-17 o de un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como se describe en el presente documento. Los fragmentos

15 comprenden regiones dentro de la secuencia de un polipéptido según la presente divulgación, por ejemplo, de una secuencia especificada. Los derivados funcionales de los anticuerpos IL-17 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos divulgados en el presente documento (p. ej., derivados funcionales de secukinumab) comprenden preferentemente dominios V_H y/o V_L que tienen al menos aproximadamente 65%, 75%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98%, o incluso 99% de identidad de secuencia global con las secuencias V_H y/o V_L de las moléculas de unión a IL-17

20 divulgadas en el presente documento (p. ej., las secuencias V_H y/o V_L de la **Tabla 1**), y conservan sustancialmente la capacidad de unirse a la IL-17 humana o, por ejemplo, de inhibir la producción de IL-6 de fibroblastos dérmicos humanos inducidos por IL-17.

25 **[0041]** La frase "sustancialmente idéntica" significa que la secuencia de aminoácidos o nucleótidos pertinente (p. ej., el dominio V_H o V_L) será idéntica o tendrá diferencias insustanciales (p. ej., a través de sustituciones de aminoácidos conservados) en comparación con una secuencia de referencia particular. Las diferencias insustanciales incluyen cambios menores de aminoácidos, como 1 o 2 sustituciones en una secuencia de 5 aminoácidos de una región específica (p. ej., el dominio V_H o V_L). En el caso de los anticuerpos, el segundo anticuerpo tiene la misma especificidad y tiene al menos el 50% de la afinidad del mismo. La identidad de secuencia de un anticuerpo IL-17 derivado (p. ej., un derivado de secukinumab, p. ej., un anticuerpo biosimilar de secukinumab) puede ser de aproximadamente el 90% o superior, p. ej., 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o superior en relación con las secuencias divulgadas.

30 **[0042]** La "identidad" con respecto a un polipéptido nativo y su derivado funcional se define aquí como el porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia candidata que son idénticos a los residuos de un polipéptido nativo correspondiente, después de alinear las secuencias e introducir espacios, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad, y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia.

35 Ni las extensiones ni las inserciones N- o C-terminales se interpretarán como una reducción de la identidad. Los métodos y programas informáticos para la alineación son bien conocidos. El porcentaje de identidad puede determinarse mediante algoritmos de alineación estándar, por ejemplo, el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) descrito por Altschul et al. ((1990) *J. Mol. Biol.*, 215: 403-410); el algoritmo de Needleman et al. ((1970) *J. Mol. Biol.*, 48: 444-453); o el algoritmo de Meyers et al. ((1988) *Comput. y Pub. Biosci.*, 4: 11-17). Un conjunto de parámetros puede ser la matriz de puntuación de Blosum 62 con una penalización de espacio de 12, una penalización de extensión de espacio de 4 y una penalización de espacio de desplazamiento de cuadro de 5. El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o nucleótidos también puede determinarse utilizando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller ((1989) CABIOS, 4:11-17) que ha sido incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de espacio de 12 y una penalización de espacio de 4.

40 **[0043]** "Aminoácido(s)" se refiere a todos los L- α -aminoácidos naturales, por ejemplo, e incluye los D-aminoácidos. La frase "variante de secuencia de aminoácidos" se refiere a moléculas con algunas diferencias en sus secuencias de aminoácidos en comparación con las secuencias según la presente divulgación. Las variantes de secuencia de aminoácidos de un polipéptido según la presente divulgación, por ejemplo, de una secuencia especificada, siguen teniendo la capacidad de unirse a la IL-17 humana o, por ejemplo, de inhibir la producción de IL-6 de fibroblastos dérmicos humanos inducidos por IL-17. Las variantes de secuencia de aminoácidos incluyen variantes sustitucionales (aquellas que tienen al menos un residuo de aminoácido eliminado y un aminoácido diferente insertado en su lugar en la misma posición en un polipéptido según la presente divulgación), variantes insercionales (aquellas con uno o más aminoácidos insertados inmediatamente adyacentes a un aminoácido en una posición particular en un polipéptido según la presente divulgación) y variantes delecionales (aquellas con uno o más aminoácidos eliminados en un polipéptido según la presente divulgación).

45 **[0044]** El término "farmacéuticamente aceptable" significa un material no tóxico que no interfiere con la eficacia de la actividad biológica del ingrediente o ingredientes activos.

50 **[0045]** El término "administrar" en relación con un compuesto, por ejemplo, una molécula de unión a IL-17 u otro

agente, se utiliza para referirse a la entrega de ese compuesto a un paciente por cualquier vía.

[0046] Tal como se utiliza en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un anticuerpo IL-17 o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, secukinumab, que es eficaz, tras la administración de una dosis única o múltiple a un paciente (como un ser humano) para tratar, prevenir, evitar la aparición de, curar, retrasar, reducir la gravedad de, mejorar al menos un síntoma de un trastorno o trastorno recurrente, o prolongar la supervivencia del paciente más allá de lo esperado en ausencia de dicho tratamiento. Cuando se aplica a un principio activo individual (p. ej., un anticuerpo IL-17, por ejemplo, secukinumab) administrado solo, el término se refiere a ese principio solo. Cuando se aplica a una combinación, el término se refiere a las cantidades combinadas de los principios activos que dan lugar al efecto terapéutico, ya se administren en combinación, en serie o simultáneamente.

[0047] Los términos "tratamiento" o "tratar" se refieren tanto al tratamiento profiláctico o preventivo como al tratamiento curativo o modificador de la enfermedad, incluido el tratamiento de un paciente con riesgo de contraer la enfermedad o que se sospecha que la ha contraído, así como de pacientes enfermos o a los que se les ha diagnosticado una enfermedad o afección médica, e incluye la supresión de la recaída clínica. El tratamiento puede administrarse a un paciente que padezca un trastorno médico o que, en última instancia, pueda adquirir el trastorno, con el fin de prevenir, curar, retrasar la aparición, reducir la gravedad o mejorar uno o más síntomas de un trastorno o trastorno recurrente, o con el fin de prolongar la supervivencia de un paciente más allá de lo esperado en ausencia de dicho tratamiento.

[0048] La frase "medios para administrar" se utiliza para indicar cualquier implemento disponible para administrar sistémicamente un fármaco a un paciente, incluyendo, pero sin limitarse a, una jeringa precargada, un vial y una jeringa, una pluma de inyección, un autoinyector, un gooteo i.v. y una bolsa, una bomba, una bomba de parche, etc. Con estos artículos, un paciente puede autoadministrarse el medicamento (es decir, administrárselo por su cuenta) o puede administrárselo un médico. Normalmente, las dosis dadas en "mg/kg" se administran por vía i.v., y las dosis dadas en "mg" se administran mediante inyecciones i.m. o s.c.. En algunas realizaciones de los métodos, kits, regímenes y usos divulgados, el secukinumab se administra al paciente por vía i.v.. En algunas realizaciones de los métodos, kits, regímenes y usos divulgados, el secukinumab se administra al paciente por vía s.c..

30 **Anticuerpos IL-17 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos**

[0049] Los productos farmacéuticos, composiciones, composiciones líquidas, regímenes, procesos, usos, métodos y kits divulgados contienen o utilizan secukinumab como anticuerpo IL-17.

[0050] El secukinumab comprende un dominio V_H de inmunoglobulina con la secuencia de aminoácidos SEQ ID N.º: 8 y un dominio V_L de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID N.º: 10.

[0051] Para facilitar la referencia, las secuencias de aminoácidos de las regiones hipervariables del anticuerpo monoclonal secukinumab, basadas en la definición de Kabat y determinadas por el análisis de rayos X y utilizando el enfoque de Chothia y colaboradores, se proporcionan en la **Tabla 1**, a continuación.

Tabla 1: Secuencias de aminoácidos de las regiones hipervariables de los anticuerpos monoclonales secukinumab.

Cadena Ligera			
CDR1 ⁺	Kabat	R-A-S-Q-S-V-S-S-Y-L-A	(SEQ ID NO: 4)
	Chothia	R-A-S-Q-S-V-S-S-Y-L-A	(SEQ ID NO: 4)
CDR2 ⁺	Kabat	G-A-S-S-R-A-T	(SEQ ID NO: 5)
	Chothia	G-A-S-S-R-A-T	(SEQ ID NO: 5)
CDR2 ⁺	Kabat	Q-Q-Y-G-S-S-P-C-T	(SEQ ID NO: 6)
	Chothia	Q-Q-Y-G-S-S-P-C-T	(SEQ ID NO: 6)

60

65

(Continuación)

Cadena Pesada		
5	CDR1	Kabat N-Y-W-M-N (SEQ ID NO:1)
10	CDR1-X	Chothia G-F-T-F-S-N-Y-W-M-N (SEQ ID NO:11)
15	CDR2	Kabat A-I-N-Q-D-G-S-S-K-Y-Y-V-G-S-V-K-G (SEQ ID NO:2)
20	CDR2-X	Chothia A-I-N-Q-D-G-S-E-K-Y-Y (SEQ ID NO:12)
25	CDR3	Kabat D-Y-Y-D-I-L-T-D-Y-Y-I-H-Y-W-Y-F-D-L (SEQ ID NO:3)
	CDR3-X	Chothia C-V-R-D-Y-Y-D-I-L-T-D-Y-Y-I-H-Y-W-Y-F-D-L-W-G (SEQ ID NO:13)

30 [0052] El ADN que codifica el VL de secukinumab se establece en SEQ ID N.º 9. El ADN que codifica la VH de secukinumab se establece en SEQ ID N.º 7.

35 [0053] Secukinumab comprende las tres CDR de SEQ ID N.º 10 y las tres CDR de SEQ ID N.º 8. Las CDR de SEQ ID N.º 8 y SEQ ID N.º 10, según las definiciones de Chothia y Kabat, se pueden encontrar en la **Tabla 1**.

40 [0054] Secukinumab comprende la cadena ligera de SEQ ID N.º 14 y la cadena pesada de SEQ ID N.º 15. Secukinumab comprende las tres CDR de la SEQ ID N.º 14 y las tres CDR de la SEQ ID N.º 15. Las CDR de SEQ ID N.º 14 y SEQ ID N.º 15, según las definiciones de Chothia y Kabat, pueden consultarse en la **Tabla 1**.

45 El entramado de cadena pesada del anticuerpo secukinumab consta en secuencia de las regiones FR1 (aminoácido 1 a 30 de SEQ ID N.º 8), FR2 (aminoácido 36 a 49 de SEQ ID N.º 8), FR3 (aminoácido 67 a 98 de SEQ ID N.º 8) y FR4 (aminoácido 117 a 127 de SEQ ID N.º 8). Teniendo en cuenta las regiones hipervariables determinadas de secukinumab mediante análisis de rayos X, el entramado de la cadena pesada consta en secuencia de las regiones FR1-x (aminoácido 1 a 25 de SEQ ID N.º 8), FR2-x (aminoácido 36 a 49 de SEQ ID N.º 8), FR3-x (aminoácido 61 a 95 de SEQ ID N.º 8) y FR4 (aminoácido 119 a 127 de SEQ ID N.º 8). De manera similar, el entramado de la cadena ligera consiste, en secuencia, en FR1' (aminoácido 1 a 23 de SEQ ID N.º 10), FR2' (aminoácido 36 a 50 de SEQ ID N.º 10), regiones FR3' (aminoácido 58 a 89 de SEQ ID N.º 10) y FR4' (aminoácido 99 a 109 de SEQ ID N.º 10).

50 [0055] La inhibición de la unión de la IL-17 a su receptor puede probarse convenientemente en diversos ensayos, incluidos los descritos en el documento WO 2006/013107. Por el término "en la misma medida" se entiende que la molécula de referencia y la molécula derivada presentan, sobre una base estadística, una actividad inhibidora de la IL-17 esencialmente idéntica en uno de los ensayos mencionados en el presente documento (véase el Ejemplo 1 del documento WO 2006/013107). Por ejemplo, el anticuerpo IL-17 o el fragmento de unión a antígeno del mismo aquí divulgados tienen típicamente I_{C50} para la inhibición de IL-17 humana sobre la producción de IL-6 inducida por IL-17 humana en fibroblastos dérmicos humanos que están por debajo de aproximadamente 10 nM, más preferiblemente aproximadamente 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o aproximadamente 1 nM de la de, preferiblemente sustancialmente la misma que, la I_{C50} de la molécula de referencia correspondiente cuando se ensaya como se describe en el Ejemplo 1 de WO 2006/013107. Alternativamente, el ensayo utilizado puede ser un ensayo de inhibición competitiva de la unión de IL-17 por receptores solubles de IL-17 (p. ej., las construcciones R/Fc de IL-17 humana del Ejemplo 1 del documento WO 2006/013107) y los anticuerpos de IL-17 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la divulgación.

60 [0056] Secukinumab se une a un epítopo de un homodímero de IL-17 que tiene dos cadenas humanas maduras de IL-17, dicho epítopo comprende Leu74, Tyr85, His86, Met87, Asn88, Val124, Thr125, Pro126, Ile127, Val128, His129 en una cadena y Tyr43, Tyr44, Arg46, Ala79, Asp80 en la otra cadena. El esquema de numeración de residuos utilizado para definir estos epítopos se basa en que el residuo uno es el primer aminoácido de la proteína madura (es decir, la IL-17A carece del péptido señal N-terminal de 23 aminoácidos y comienza con Glicina). La secuencia de la IL-17A inmadura figura en la entrada Swiss-Prot Q16552. En algunas realizaciones, el anticuerpo IL-17 tiene una K_D de aproximadamente 100-200 pM, p. ej., medida por Biacore®. En algunas realizaciones, el anticuerpo IL-17 tiene una

IC₅₀ de aproximadamente 0,4 nM para la neutralización *in vitro* de la actividad biológica de aproximadamente 0,67 nM de IL-17A humana. En algunas realizaciones, la biodisponibilidad absoluta del anticuerpo IL-17 administrado por vía subcutánea (s.c.) tiene un rango de aproximadamente 60 - aproximadamente 80%, por ejemplo, aproximadamente 76%. En algunas realizaciones, secukinumab tiene una semivida de eliminación de aproximadamente 4 semanas (p. ej., de aproximadamente 23 a aproximadamente 35 días, de aproximadamente 23 a aproximadamente 30 días, por ejemplo, aproximadamente 30 días). En algunas realizaciones, secukinumab tiene una T_{max} de aproximadamente 7-8 días.

[0057] Secukinumab se describe en los Ejemplos 1 y 2 del documento WO 2006/013107 (US 7,807,155). Secukinumab es un anticuerpo monoclonal recombinante de alta afinidad, totalmente humano, contra la interleucina-17A (IL-17A, IL-17) del isotipo IgG1/kappa que se encuentra actualmente en ensayos clínicos para el tratamiento de afecciones inflamatorias inmunomediadas. El secukinumab (véanse, p. ej., los documentos WO2006/013107 y WO2007/117749) tiene una afinidad muy alta por la IL-17, es decir, una K_D de aproximadamente 100-200 pM (p. ej., medida por Biacore[®]) y una IC₅₀ para la neutralización *in vitro* de la actividad biológica de aproximadamente 0,67 nM de IL-17A humana de aproximadamente 0,4 nM. Así, secukinumab inhibe el antígeno en una proporción molar de aproximadamente 1:1. Esta elevada afinidad de unión hace que el anticuerpo secukinumab sea especialmente adecuado para aplicaciones terapéuticas. Además, se ha determinado que el secukinumab tiene una semivida muy larga, es decir, de unas 4 semanas, lo que permite períodos prolongados entre administraciones, una propiedad excepcional cuando se tratan trastornos crónicos de por vida, como la psoriasis.

20 Productos farmacéuticos que incluyen anticuerpos IL-17

[0058] La divulgación proporciona en general un producto farmacéutico que incluye un recipiente que tiene un espacio de cabeza con menos del 12% de oxígeno en el espacio de cabeza, y una composición líquida dispuesta dentro del recipiente, en la que dicha composición líquida comprende secukinumab.

Recipientes

[0059] Los productos farmacéuticos de la divulgación emplean envases primarios, es decir, recipientes, para almacenar, transportar y mantener las composiciones líquidas divulgadas. Los recipientes farmacéuticamente aceptables para su uso como parte de los productos farmacéuticos divulgados incluyen jeringas (p. ej., disponibles en Beckton Dickinson, Nuova Ompi, etc.), viales con tapón, cartuchos, autoinyectores, bombas de parche y plumas inyectoras.

35 Oxígeno en el espacio de cabeza

[0060] Hemos determinado que la estabilidad del secukinumab en la composición líquida divulgada puede mejorarse incluyendo un estabilizador particular (p. ej., metionina) y sustituyendo al mismo tiempo el oxígeno en el espacio de cabeza del recipiente del producto farmacéutico por un gas inerte (p. ej., argón, helio, nitrógeno), preferiblemente N₂. Específicamente, hemos determinado que los productos farmacéuticos que tienen un recipiente que ha sido purgado de oxígeno, es decir, que tiene menos de aproximadamente 12% de oxígeno en el espacio de cabeza, tienen una estabilidad mejorada en relación con los productos no purgados, por ejemplo, según lo medido por SEC y RP-HPLC.

[0061] La modificación del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza mediante una purga (p. ej., purga de nitrógeno) puede lograrse durante la etapa de llenado o durante la etapa de taponado (o ambas). La purga (p. ej., purga de nitrógeno) puede lograrse introduciendo activamente el gas inerte (p. ej., utilizando una aguja) o durante el taponado.

[0062] El contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior al 12% (p. ej., inferior a aproximadamente el 10%, inferior a aproximadamente el 8%, inferior a aproximadamente el 6%, etc.). En algunas realizaciones, el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior al 6% aproximadamente. El contenido de oxígeno en el espacio de cabeza puede controlarse mediante espectroscopía de absorción de luz láser o enfriamiento por fluorescencia o cromatografía de gases. Se entenderá que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza de un recipiente dado puede aumentar con el tiempo, por ejemplo, debido a fugas. Así, tal como se utiliza en el presente documento, la frase "el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza" se refiere al nivel inicial de oxígeno en el espacio de cabeza de un recipiente inmediatamente después del cierre (p. ej., taponado) del producto.

Composiciones Líquidas

[0063] Una composición líquida de la divulgación comprende secukinumab, y al menos un excipiente adicional, por ejemplo, tampón, tensioactivo, y estabilizador(es), etc. En algunas realizaciones, la composición líquida comprende al menos dos excipientes adicionales, por ejemplo, un tampón y un estabilizador. En algunas realizaciones, la composición líquida comprende un tampón, al menos un estabilizador y un tensioactivo.

[0064] En general, una composición farmacéutica se formulará con excipientes que sean compatibles con la vía de administración prevista (p. ej., las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un portador

comestible). Ejemplos de vías de administración son la parenteral (p. ej., intravenosa), intradérmica, subcutánea, oral (p. ej., por boca o inhalación), transdérmica (tópica), transmucosa y rectal. Las composiciones líquidas de anticuerpos de la presente divulgación son adecuadas para la administración parenteral, como la inyección intravenosa, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea; particularmente adecuadas para la inyección subcutánea.

5 [0065] En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 86% de pureza por RP-HPLC tras almacenamiento a 2-8°C durante 6 meses, al menos un 76% de pureza por RP-HPLC tras almacenamiento a 25°C/60% HR durante 6 meses (preferentemente al menos un 76%), y/o al menos un 60% de pureza por RP-HPLC tras almacenamiento a 30°C/75% HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 84% de pureza por RP-HPLC tras su almacenamiento a 2-8°C durante 24 meses.

10 [0066] En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 77% de pureza por CEX tras el almacenamiento a 2-8°C durante 6 meses, al menos un 62% de pureza por CEX tras el almacenamiento a 25°C/60% HR durante 6 meses, y/o al menos un 50% de pureza por CEX tras el almacenamiento a 30°C/75% HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 73% de pureza por CEX tras su almacenamiento a 2-8°C durante 24 meses.

15 [0067] En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 98% de pureza por SEC tras el almacenamiento a 2-8°C durante 6 meses, al menos un 96% de pureza por SEC tras el almacenamiento a 25°C/60% HR durante 6 meses, y/o al menos un 94% de pureza por SEC tras el almacenamiento a 30°C/75% HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 97% de pureza por SEC tras su almacenamiento a 2-8°C durante 24 meses.

20 [0068] En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 97% de pureza por CE-SDS (condiciones no reductoras) tras almacenamiento a 2-8°C durante 6 meses, al menos un 95% de pureza por CE-SDS (condiciones no reductoras) tras almacenamiento a 25°C/60% HR durante 6 meses, y/o al menos un 94% (preferentemente al menos un 92%) de pureza por CE-SDS (condiciones no reductoras) tras almacenamiento a 30°C/75% HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 97% de pureza por CE-SDS (condiciones no reductoras) tras su almacenamiento a 2-8°C durante 24 meses.

25 [0069] En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene menos de aproximadamente 0,57% de impureza por SDS-PAGE (condiciones reductoras) tras el almacenamiento a 2-8°C durante 6 meses, menos de aproximadamente 1,1% de impureza por SDS-PAGE (condiciones reductoras) tras el almacenamiento a 25°C/60% HR durante 6 meses, y/o menos de aproximadamente 1,9% de impureza por SDS-PAGE (condiciones reductoras) tras el almacenamiento a 30°C/75% HR durante 6 meses. En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene menos de aproximadamente 0,91% de impureza por SDS-PAGE (condiciones reductoras) tras el almacenamiento a 2-8°C durante 24 meses.

30 [0070] En algunas realizaciones, una composición líquida de la divulgación mantiene al menos un 88% de actividad biológica relativa por inhibición de la liberación de IL-6 de condrocitos C-20/A4 tras almacenamiento a 2-8°C durante 24 meses, al menos un 94% de actividad biológica relativa por inhibición de la liberación de IL-6 de condrocitos tras almacenamiento a 25°C/60% HR durante 6 meses, y/o al menos un 85% de actividad biológica relativa por inhibición de la liberación de IL-6 de condrocitos tras almacenamiento a 30°C/75% HR durante 6 meses.

45 Concentración de anticuerpos

50 [0071] El anticuerpo IL-17 secukinumab utilizado en las composiciones líquidas divulgadas se describe *supra*. Hemos determinado que, al menos dentro del intervalo de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, la concentración de anticuerpo no tuvo un efecto significativo sobre la estabilidad de la composición. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el anticuerpo en la composición líquida está presente en una concentración de al menos 25 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml). En algunas realizaciones, la concentración del anticuerpo en la composición líquida es una concentración alta de al menos aproximadamente 25 mg/ml, al menos aproximadamente 50 mg/ml, al menos aproximadamente 75 mg/ml, al menos aproximadamente 100 mg/ml, o al menos aproximadamente 150 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración del anticuerpo en la composición líquida es una concentración alta de aproximadamente 25 mg/ml - aproximadamente 150 mg/ml. En una realización, la concentración de secukinumab en la composición líquida es de aproximadamente 25 mg/ml. En una realización, la concentración de secukinumab en la composición líquida es de aproximadamente 150 mg/ml.

60 Tampones y pH

65 [0072] Los agentes tampón adecuados para su uso con las composiciones líquidas divulgadas incluyen, entre otros, un tampón de gluconato, un tampón de histidina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato [por ejemplo, sodio o potasio], un tampón de succinato [por ejemplo, sodio], un tampón de acetato, un tampón de Tris, glicina, arginina y combinaciones de los mismos. Hemos determinado que no hubo ningún impacto beneficioso del tampón succinato o acetato en la estabilidad de las composiciones líquidas de secukinumab. El tampón citrato se evaluó como beneficioso

en las composiciones con respecto a los productos de degradación por SEC, CEX-ácido y productos de agregación por RP HPLC. En general, el tampón de histidina mostró ventajas en los productos de agregación y degradación por SEC, CEX ácido y RP-B. Así, el tampón de histidina es un tampón preferido para las composiciones líquidas estables de secukinumab divulgadas.

5 [0073] Un tampón de histidina (p. ej., a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 50 mM, por ejemplo, aproximadamente 20 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 15 mM, aproximadamente 20 mM, aproximadamente 25 mM, aproximadamente 30 mM, aproximadamente 35 mM, aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, aproximadamente 50 mM) es particularmente útil. En una realización, la composición líquida estable comprende un tampón de histidina de aproximadamente 20 mM a aproximadamente 50 mM. El pH de la composición líquida está en el intervalo 5,2-6,2 p.ej., 5,2 a cerca de 5,8, p.ej., 5,2, cerca de 5,3, cerca de 5,4, cerca de 5,5, cerca de 5,6, cerca de 5,7, cerca de 5,8, cerca de 5,9, cerca de 6,6,2. Hemos determinado que al aumentar el pH de 5,2 a 5,8, se observó una tendencia positiva en la estabilidad (SEC-AP, DLS, SEC-DP, ALP-DP, CEX basic, RP-HPLC). Las pruebas generales indicaron que el pH de composición ideal de las composiciones líquidas divulgadas es de 5,8. Así, en una realización, el pH de la composición líquida estable de anticuerpos es de aproximadamente 5,8.

Tensioactivos

20 [0074] Los tensioactivos adecuados para su uso con las composiciones líquidas divulgadas incluyen, entre otros, tensioactivos no iónicos, tensioactivos iónicos, tensioactivos zwitteriónicos y combinaciones de los mismos. Los tensioactivos típicos para la invención incluyen, entre otros, ésteres de ácidos grasos de sorbitán (p. ej., monocaprilato de sorbitán, monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán), trioleato de sorbitán, ésteres de ácidos grasos de glicerina (p. ej., monocaprilato de glicerina, monomiristato de glicerina, monoestearato de glicerina), monocaprilato de glicerina, monomiristato de glicerina, monoestearato de glicerina), ésteres de ácidos grasos de poliglicerina (p. ej., monoestearato de decaglicerilo, diestearato de decaglicerilo, monolinoleato de decaglicerilo), ésteres de ácidos grasos de sorbitán polioxietilenados (p. ej., monolaurato de sorbitán polioxietilenado, monooleato de sorbitán polioxietilenado, monoestearato de sorbitán polioxietilenado, monopalmitato de sorbitán polioxietilenado, trioleato de sorbitán polioxietilenado, tristearato de sorbitán polioxietilenado), ésteres de ácidos grasos de sorbitol polioxietilenado (p. ej., tetrastearato de polioxietileno sorbitol, tetraoleato de polioxietileno sorbitol), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno glicerina (p. ej., monoestearato de polioxietileno glicerilo), ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (p. ej., diestearato de polietilenglicol), éteres alquílicos de polioxietileno (p. ej., polioxietileno lauril éter), polioxietileno polioxipropileno alquil éteres (p. ej., polioxipropileno glicol, polioxipropileno propil éter, polioxipropileno cetil éter), polioxietileno alquilfenil éteres (p. ej., polioxietileno nonilfenil éter), aceites de ricino hidrogenados polioxietilenados (p. ej., aceite de ricino polioxietilenado, aceite de ricino hidrogenado polioxietilenado), derivados de cera de abeja polioxietilenados (p. ej., cera de abeja polioxietilenada con sorbitol), derivados de lanolina polioxietilenados (p. ej., lanolina polioxietilenada) y amidas de ácidos grasos polioxietilenados (p. ej., amida de ácido esteárico polioxietilenada); sulfatos de alquilo C10-C18 (p. ej., cetyl sulfato sódico, lauril sulfato sódico, oleil sulfato sódico), éter sulfato de alquilo C10-C18 polioxietilenado con una media de 2 a 4 moles de unidades de óxido de etileno añadidas (p. ej., lauril sulfato sódico polioxietilenado), y sales de ésteres de alquil sulfosuccinato C1-C18 (p. ej., éster de lauril sulfosuccinato sódico); y tensioactivos naturales como lecitina, glicerofosfolípidos, esfingofosfolípidos (p. ej., esfingomielina) y ésteres sacáricos de ácidos grasos C12-C18. Una composición puede incluir uno o más de estos tensioactivos. Los tensioactivos preferidos son poloxámero (p. ej., poloxámero 188) o ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán, por ejemplo, polisorbato 20, 40, 60 u 80. El polisorbato 80 (Tween 80) (p. ej., a una concentración de aproximadamente 0,01% - aproximadamente 0,1% (p/v), por ejemplo, aproximadamente 0,01% a aproximadamente 0,04% (p/v), por ejemplo, aproximadamente 0,01%, aproximadamente 0,02%, aproximadamente 0,04%, aproximadamente 0,06%, aproximadamente 0,08%, aproximadamente 0,1%) es particularmente útil. En una realización, la composición líquida estable comprende aproximadamente un 0,02% (p/v) de polisorbato 80. En una realización, la composición líquida estable comprende aproximadamente un 0,02% (p/v) de polisorbato 20.

50 [0075] Hemos determinado que se produce un aumento significativo de la turbidez, así como un aumento de la cantidad de partículas visibles, en las composiciones líquidas que carecen de tensioactivo. Sin embargo, no se detectó ninguna ventaja del Poloxamer 188 en comparación con el Polisorbato 20 y 80, salvo un aumento de la ALP-DP y la RP. Los polisorbatos 20 y 80 mostraron una eficacia comparable en la prevención del aumento de la turbidez y de las partículas subvisibles y visibles. Así, los polisorbatos 20 y 80 son tensioactivos preferidos para su uso en las composiciones líquidas estables divulgadas.

Estabilizadores

60 [0076] Los estabilizantes ayudan a prevenir la oxidación y la agregación de proteínas en composiciones farmacéuticas, particularmente composiciones farmacéuticas líquidas, que tienen una vida útil más corta debido a la tendencia de las proteínas a oxidarse y/o agregarse mientras están en soluciones acuosas. Se pueden utilizar varios métodos analíticos para evaluar la estabilidad de una composición dada, por ejemplo, RP-HPLC puede utilizarse para ensayar el nivel de productos de oxidación (picos pre-principales) en las composiciones líquidas aquí divulgadas, mientras que SEC puede utilizarse para ensayar el nivel de agregación en las composiciones líquidas aquí divulgadas.

5 [0077] Los estabilizantes adecuados para su uso en las composiciones líquidas divulgadas incluyen estabilizantes iónicos y no iónicos (y combinaciones de los mismos), por ejemplo, azúcares, glicina, cloruro sódico, arginina, EDTA, ascorbato sódico, cisteína, bisulfato sódico, citrato sódico, metionina y alcohol bencílico. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida contendrá al menos un estabilizante del grupo 1 (p. ej., azúcares [p. ej., trehalosa, manitol], aminoácidos [p. ej., glicina, arginina] y cloruro sódico). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida contendrá al menos un estabilizador del grupo 2 (EDTA, ascorbato sódico, cisteína, bisulfato sódico, citrato sódico, metionina y alcohol bencílico). Los estabilizantes del grupo 2 suelen tener propiedades antioxidantes, que pueden reducir la oxidación de los residuos en los anticuerpos IL-17. En realizaciones preferidas, una composición farmacéutica líquida contendrá dos estabilizantes - uno del grupo 1 y otro del grupo 2.

10 10 [0078] Para un estabilizante del grupo 1, se prefieren los estabilizantes no iónicos. Los estabilizantes no iónicos adecuados incluyen monosacáridos, disacáridos y trisacáridos, por ejemplo, trehalosa, rafinosa, maltosa, sorbitol o manitol. El azúcar puede ser un alcohol de azúcar o un aminoazúcar. La concentración del estabilizante del grupo 1 puede ser de aproximadamente 175 mM a aproximadamente 350 mM, por ejemplo, de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM, por ejemplo, de aproximadamente 250 mM a aproximadamente 270 mM, por ejemplo, de aproximadamente 180 a aproximadamente 300 mM, de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM, de aproximadamente 175 mM, de aproximadamente 180 mM, de aproximadamente 185 mM, de aproximadamente 190 mM, de aproximadamente 195 mM, de aproximadamente 200 mM, de aproximadamente 225 mM, de aproximadamente 250 mM, de aproximadamente 270 mM, de aproximadamente 275 mM, de aproximadamente 300 mM. Son particularmente útiles el manitol a una concentración de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM (p. ej., de aproximadamente 250 mM a aproximadamente 270 mM), la trehalosa a una concentración de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 300 mM, por ejemplo, de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM, el cloruro sódico a una concentración de aproximadamente 130 mM a aproximadamente 150 mM, la arginina a una concentración de aproximadamente 160 mM, la glicina a una concentración de aproximadamente 270 mM.

15 25 [0079] Hemos determinado que la glicina como estabilizante (grupo 1) era ligeramente ventajosa con respecto a SEC-AP y DLS, pero se observó un aumento de casi todos los productos de degradación. El NaCl como estabilizador (grupo 1) provocó un aumento de los productos de degradación y agregación por las variantes básicas SEC y CEX. La trehalosa y el manitol actuaron como estabilizadores beneficiosos comparables, confirmado con casi todos los análisis, pero el manitol mostró un efecto ligeramente inferior (SEC-AP, DLS), además de una solubilidad acuosa inferior en comparación con la trehalosa. Así, la trehalosa es el estabilizante preferido del grupo 1 debido a sus efectos positivos sobre los productos de degradación. En una realización, la composición líquida comprende entre 200 mM y 225 mM de trehalosa. En una realización, la composición líquida comprende aproximadamente 200 mM de trehalosa. En una realización, la composición líquida comprende aproximadamente 225 mM de trehalosa.

30 35 [0080] Hemos determinado que existe un impacto significativo del grupo 2 en la estabilidad de las composiciones líquidas de secukinumab. Nuestros experimentos mostraron que el uso de ningún estabilizador del grupo 2 era inferior (SEC-AP, DLS, turbidez, RP-B), en comparación con las composiciones que contenían un estabilizador del grupo 2. 40 El EDTA tetrasódico y la cisteína mostraron un aumento de la agregación y del producto de degradación en los respectivos métodos analíticos. La adición de cisteína como estabilizador del grupo 2 dio lugar a composiciones turbias tras el estrés de congelación-descongelación y a la precipitación en 4 semanas a 40°C de almacenamiento. Sin embargo, determinamos que la metionina es ventajosa en todas las composiciones con respecto a la analítica. Por lo tanto, para un estabilizador del grupo 2, se prefiere la metionina, que también tiene propiedades antioxidantes. La concentración del estabilizante del grupo 2 (p. ej., metionina) puede ser de 2,5 a 20 mM (p. ej., 2,5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o 20 mM). En realizaciones preferidas, una composición farmacéutica líquida contendrá al menos un estabilizante del grupo 1 y metionina. En algunas realizaciones, las composiciones líquidas divulgadas incluyen aproximadamente 5 mM de metionina.

50 Otros excipientes

55 [0081] Las composiciones líquidas de anticuerpos de la divulgación pueden incluir excipientes adicionales, por ejemplo, tampones adicionales, sales (p. ej., cloruro de sodio, succinato de sodio, sulfato de sodio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio y cloruro de calcio), agentes estabilizantes adicionales, modificadores de la tonicidad (p. ej., sales y aminoácidos [por ejemplo, prolina, alanina, L-arginina, asparagina, ácido L-aspártico, glicina, serina, lisina e histidina]), glicerol, albúmina, alcoholes, conservantes, tensioactivos adicionales, antioxidantes, etc. En Gennaro (2000) Remington se ofrece un análisis exhaustivo de estos ingredientes farmacéuticos adicionales: Ciencia y práctica de la farmacia. 20^a edición, ISBN: 0683306472.

60 Agentes Activos Adicionales

65 [0082] Los productos farmacéuticos y las composiciones líquidas estables de la divulgación pueden contener, además de secukinumab uno o más agentes activos (p. ej., agentes para la psoriasis, agentes para la artritis psoriásica, agentes para la espondilitis anquilosante, agentes para la artritis reumatoide). Dichos factores y/o agentes adicionales pueden incluirse en la composición farmacéutica para producir un efecto sinérgico con secukinumab o para minimizar los efectos secundarios causados por secukinumab.

[0083] Algunos ejemplos de agentes psoriásicos que pueden coformularse con secukinumab son ciclosporina, metotrexato, micofenolato mofetilo, ácido micofenólico, sulfasalazina, 6-tioguanina, fumaratos (por ej.p. ej., dimetilfumarato y ésteres de ácido fumárico), azatioprina, corticosteroides, leflunomida, tacrolimus, bloqueantes de células T (como Amevive® (alefacept) y Raptiva® (efalizumab), bloqueantes del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) (como Enbrel® (etanercept), Humira® (adalimumab), Remicade® (infliximab) y Simponi® (golimumab)) y bloqueantes de la interleucina 12/23 (como Stelara® (ustekinumab), tasocitinib y briakinumab).

[0084] Otros agentes para la psoriasis que pueden coformularse con secukinumab para el tratamiento de la psoriasis son apremilast, mometasone, voclosporina, ketokonazol, Neuroskin Forte interleucina-10 humana recombinante, voclosporina, MK-3222, tofacitinib, VX-765, MED-I545, decanoato de flufenazina, acetomuinophn, crema de bimosiamosa, doxiciclina, vancomicina, AbCm168, vitamina D3, RO5310074, fludarabina Calcipotriol e hidrocortisona (LEO 80190), Focetria (vacuna monovalente coadyuvante MF59, vector de terapia génica tgAAC94, Capsaicina, Psirelax, ABT-874 (anti IL-12), IDEC-114, MEDI-522, LE29102, BMS 587101, CD 2027, CRx-191, 8-metoxipsoraleno o 5-metoxipsoraleno, Bicilina L-A, LY2525623, INCB018424, LY2439821, CEP-701, CC-10004, certolizumab (CZP), GW786034 (pazopanib), doxiciclina Complejo C3 de curcuminoïdes, NYC 0462, RG3421, hOKT3gamma 1(Ala-Ala), BT061, teplizumab, condroitín sulfato, CNTO 1275, anticuerpo monoclonal frente a las subunidades IL-12p40 e IL-23 p40, BMS-582949, MK0873, MEDI-507, M518101, ABT-874, AMG 827, AN2728, AMG714, AMG 139, PTH (1-34), Espuma U0267, CNTO 1275, QRX-101, CNTO 1959, LEO 22811, Imiquimod, CTLA4Ig, Alga Dunaliella Bardawil, pioglitazona, pimecrolimus, ranibizumab, Zidovudina CDP870 (Cerolizumab pegol), Onercept (r-hTBP-1), ACT-128800, 4,4-dimetil-benziso-2H-selenazina, CRx-191, CRx-197, doxercalciferol, LAS 41004, WBI-1001, tacrolimus, RAD001, rapamicina, rosiglitazona, pioglitazona, ABT-874, Aminopterin, AN2728, CD2027, ACT-128800, furoato de mometasona, CT 327, clobetasol + LCD, BTT1023, E6201, vitamina B12 tópica, IP10.C8, BFH772, LEO 22811, Flufenazina, MM-093, Clobex, SCH 527123, CF101, SRT2104, BIRT2584, CC10004, Tetratiomolibdato, CP-690,550, U0267, ASP015K, VB-201, Acitretin (también llamado U0279), RWJ-445380, propionato de clobetasol, toxina botulínica tipo A, alefacept, erlotinib, BCT194, Roflumilast, CNTO 1275, halobetasol, ILV-094, crema CTA018, COL-121, MEDI-507, AEB071.

[0085] Otros agentes para la psoriasis que pueden coformularse con secukinumab incluyen antagonistas de IL-6, antagonistas de CD20, antagonistas de CTLA4, antagonistas de IL-17, antagonistas de IL-8, antagonistas de IL-21, antagonistas de IL-22, antagonistas de VGEF, antagonistas de CXCL, antagonistas de MMP, antagonistas de defensina, antagonistas de IL-1beta y antagonistas de IL-23 (p. ej., señuelos de receptor, anticuerpos antagonistas, etc.). Los fármacos preferidos para la psoriasis que pueden coformularse con secukinumab son los DMARD (p. ej., MTX y ciclosporina), los antagonistas de IL-12/23 (p. ej., ustekinumab), los antagonistas de CTLA-4 (p. ej., CTLA4-Ig) y los antagonistas de TNF-alfa.

[0086] En términos generales, los agentes para la artritis reumatoide, la artritis psoriásica y la espondilitis anquilosante que pueden coformularse con secukinumab pueden ser, entre otros, un agente inmunosupresor, un DMARD, un fármaco para el control del dolor, un esteroide, un antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un antagonista de las citocinas, un anabolizante óseo, un antirresortivo óseo y combinaciones de los mismos. Los agentes representativos incluyen ciclosporina, retinoides, corticosteroides, derivados del ácido propiónico, derivados del ácido acético, derivados del ácido enólico, derivados del ácido fenámico, inhibidores de Cox-2, lumiracoxib, ibuprofeno, salicilato de colina y magnesio, fenoprofeno, salsalato, difunisal, tolmetina, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, indometacina, sulindaco, etodolaco, ketorolaco, nabumetona, naproxeno, valdecoxib, etoricoxib, MK0966; rofecoxib, acetominofeno, celecoxib, diclofenaco, tramadol, piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam, isoxicam, ácido mefanámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, tolfenámico, valdecoxib, parecoxib, etodolac, indometacina, aspirina, ibuprofeno, firocoxib, metotrexato (MTX), fármacos antipalúdicos (por ejemplo, hidroxicloroquina y cloroquina), sulfasalazina, Leflunomida, azatioprina, ciclosporina, sales de oro, minociclina, clorambucilo, antagonistas del TNF alfa (p. ej., antagonistas del TNF alfa o antagonistas de los receptores del TNF alfa), por ejemplo, ADALIMUMAB (Humira®), ETANERCEPT (Enbrel®), INFILXIMAB (Remicade®; TA-650), CERTOLIZUMAB PEGOL (Cimzia®; CDP870), GOLIMUMAB (Simpom®; CNTO148), ANAKINRA (Kineret®), RITUXIMAB (Rituxan®; MabThera®), ABATACEPT (Orencia®), TOCILIZUMAB (RoActemra /Actemra®), antagonistas de la integrina (TYSABRI® (natalizumab)), antagonistas de la IL-1 (ACZ885 (Ilaris)), Anakinra (Kineret®)), antagonistas del CD4, antagonistas de la IL-23, antagonistas de la IL-20, antagonistas de la IL-6, antagonistas de la BLyS (por ej., Atacicept, Benlysta®/LymphoStat-B® (belimumab)), inhibidores de p38, antagonistas de CD20 (Ocrelizumab, Ofatumumab (Arzerra®)), antagonistas del interferón gamma (Fontolizumab), prednisolona, Prednisona, dexametasona, cortisol, cortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, fludrocortisona, desoxicorticosterona, aldosterona, SB-681323, Rob 803, AZD5672, AD 452, SMP 114, HZT-501, CP-195,543, Doxiciclina, vancomicina, CRx-102, AMG108, pioglitazona, SBI-087, SCIO-469, Cura-100, Oncoxin + Viusid, TwHF, PF-04171327, AZD5672, Methoxsalen, ARRY-438162, Vitamina D - ergocalciferol, Milnacipran, Paclitaxel, GW406381, rosiglitazona, SC12267 (4SC-101); LY2439821, BTT-1023, ERB-041, ERB-041, KB003, CF101, ADL5859, MP-435, ILV-094, GSK706769, GW856553, ASK8007, MOR103, HE3286, CP-690,550 (tasocitinib), REGN88 (SAR153191), TRU-015, BMS-582949, SBI-087, LY2127399, E-551S-551, H-551, GSK3152314A, RWJ-445380, Tacrolimus (Prograf®), RAD001, rapamune, rapamicina, fostamatinib, Fentanyl, XOMA 052, CNTO 136, JNJ 38518168, Imatinib, ATN-103, ISIS 104838, ácido fólico, folato, TNFa kinoid, MM-093, colágeno tipo II, VX-509, AMG 827 70, masitinib (AB1010), LY2127399,

ciclosporina, SB-681323, MK0663, NNC 0151-0000-0000, ATN-103, CCX 354-C, CAM3001, LX3305, Cetrorelix, MDX-1342, TMI-005, MK0873, CDP870, Tranilast, CF101, ácido micofenólico (y sus ésteres), VX-702, GLPG0259, SB-681323, BG9924, ART621, LX3305, T-614, Fostamatinib disódico (R935788), CCI-779, ARRY-371797, CDP6038, AMG719, BMS-582949, GW856553, rosiglitazona, CH-4051, CE-224.535, GSK1827771, GW274150, BG9924, PLX3397, TAK-783, INCB028050, LY2127399, LY3009104, R788, curcumina (Longvida™), rosuvastatina, PRO283698, AMG 714, MTRX1011A, maraviroc, MED1-522, MK0663, mesilato de STA 5326, CE-224.535, AMG108, BG00012 (BG-12; Biogen), ramipril, VX-702, CRx-102, LY2189102, SBI-087, SB-681323, CDP870, Milnacipran, PD 0360324, PH-797804, AK106-001616, PG-760564, PLA-695, MK0812, ALD518, cobiprostona, somatropina, vector de terapia génica tgAAC94, MK0359, GW856553, esomeprazol, everolimus, trastuzumab, anabolizantes óseos y antiinflamatorios óseos (p. ej., PTH, bifosfonatos (p. ej., ácido zoledrónico), inhibidores de JAK1 y JAK2, inhibidores pan JAK, por ejemplo, piridona tetracíclica 6 (P6), 325, PF-956980, antagonistas de la esclerostina (p. ej., divulgados en WO09047356, WO2000/32773, WO2006102070, US20080227138, US20100028335, US 20030229041, WO2005003158, WO2009039175 WO2009079471, WO03106657, WO2006119062, WO08115732, WO2005/014650, WO2005/003158, WO2006/119107, WO2008/061013, WO2008/133722, WO2008/115732, US7592429, US7879322, US7744874 [anticuerpos antiesclerostina preferidos y porciones de unión a antígeno de los mismos para su uso en los métodos divulgados, composiciones farmacéuticas, kits y usos se encuentran en WO09047356 (equivalente a US7879322), WO06119107 (equivalente a US7872106 y US 7592429) y WO08115732 (equivalente a US7744874]), denosumab, antagonistas de IL-6, antagonistas de CD20, antagonistas de CTLA4, antagonistas de IL-8 antagonistas de la IL-21, antagonistas de la IL-22, antagonistas de la integrina (Tysabri® (natalizumab)), antagonistas del VEGF, antagonistas del CXCL, antagonistas de la MMP, antagonistas de la defensina, antagonistas de la IL-1 (incluidos los antagonistas de la IL-1 beta) y antagonistas de la IL-23 (p. ej., señuelos receptores, anticuerpos antagonistas, etc.). Los agentes preferidos para la artritis reumatoide que pueden coformularse con secukinumab son los DMARD, como el metotrexato, y los antagonistas del TNF alfa. Los agentes preferidos para la espondilitis anquilosante que pueden coformularse con secukinumab son los AINE, los DMARDs, como la sulfasalazina, y los antagonistas del TNF alfa. Los agentes preferidos para la artritis psoriásica que pueden coformularse con secukinumab son los DMARDs, como la ciclosporina, los bloqueantes de CTLA-4 (p. ej., CLTA4-Ig), el alefacept y los antagonistas del TNF alfa.

[0087] Un artesano experto será capaz de discernir las dosis apropiadas de los agentes anteriores para la composición con secukinumab.

[0088] Se divultan en el presente documento composiciones farmacéuticas líquidas estables que comprenden 20 mg/ml a 175 mg/ml (p. ej., aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de secukinumab, aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM de tampón (histidina) pH 5,2 - aproximadamente 6,0, aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM de estabilizador (p. ej., trehalosa), aproximadamente 0,02% de tensioactivo (p. ej., polisorbato 80), y 2,5 mM a 20 mM de metionina.

[0089] En algunas realizaciones, la concentración de metionina en la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado es de 2,5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o 20 mM, preferiblemente aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones, el pH de la composición farmacéutica líquida es de aproximadamente 5,8. En algunas realizaciones, la concentración de secukinumab de la composición divulgada es de aproximadamente 25 mg/ml o aproximadamente 150 mg/ml. La composición farmacéutica líquida comprende un tampón de histidina. También se divulga aquí una composición farmacéutica líquida que comprende un tampón seleccionado del grupo que consiste en un tampón de histidina, un tampón de citrato, un tampón de acetato y un tampón de succinato. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida emplea un tampón de histidina a una concentración de aproximadamente 20mM. La composición farmacéutica líquida comprende un tensioactivo seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende además un tensioactivo seleccionado entre polisorbato 80, polisorbato 20 y poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende polisorbato 80 en una concentración de aproximadamente 0,01% (p/v) a aproximadamente 0,04% (p/v), preferentemente en aproximadamente 0,02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende polisorbato 20 a una concentración de aproximadamente 0,02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende un estabilizador seleccionado del grupo que consiste en manitol, cloruro sódico, trehalosa, arginina HCL y glicina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida comprende trehalosa a una concentración de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 300 mM, preferiblemente a aproximadamente 200 mM o aproximadamente 225 mM.

[0090] Se divultan aquí productos farmacéuticos que comprenden: un recipiente que tiene un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior al 12%, y una composición farmacéutica líquida que tiene un pH de 5,2 a 6,2 dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición que comprende: 20 mg/ml a 175 mg/ml (p. ej., aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de secukinumab; 2,5 a 20 mM de L-metionina, en la que la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

[0091] En algunas realizaciones, la concentración de metionina en la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado es de 2,5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o 20 mM, preferiblemente aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones, el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del producto

farmacéutico divulgado es inferior a aproximadamente el 10%, por ejemplo, inferior a aproximadamente el 8%, preferiblemente inferior a aproximadamente el 6%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado tiene un pH de aproximadamente 5,8. En algunas realizaciones, la concentración de secukinumab del producto farmacéutico divulgado es de aproximadamente 25 mg/ml o aproximadamente 150 mg/ml.

5 La composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado comprende además un tampón de histidina. También se divulga aquí una composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado que comprende además un tampón seleccionado del grupo que consiste en un tampón de histidina, un tampón de citrato, un tampón de acetato y un tampón de succinato. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado emplea un tampón a una concentración de aproximadamente 10 mM a aproximadamente 30 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado emplea un tampón de histidina a una concentración de aproximadamente 20mM. La composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado comprende además un tensioactivo seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado comprende además un tensioactivo seleccionado entre polisorbato 80, polisorbato 20 y poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado comprende además polisorbato 80 en una concentración de aproximadamente 0,01% (p/v) a aproximadamente 0,04% (p/v), preferentemente en aproximadamente 0,02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado comprende además polisorbato 20 en una concentración de aproximadamente 0,02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado comprende además un estabilizador seleccionado del grupo que consiste en manitol, cloruro de sodio, trehalosa, arginina HCl y glicina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica líquida del producto farmacéutico divulgado comprende además trehalosa en una concentración de aproximadamente 180 mM a aproximadamente 300 mM, preferentemente en aproximadamente 200 mM o aproximadamente 225 mM. En algunas realizaciones, el recipiente del producto farmacéutico divulgado es un cartucho, una jeringa, una pluma o un vial.

25 **[0092]** Se divulgan aquí productos farmacéuticos que comprenden: un recipiente que tiene un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior a aproximadamente 6%; y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición que comprende 20 mg/ml a 175 mg/ml (p. ej., aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de secukinumab, 10 mM a 30 mM de histidina pH 30 5,8, aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM de trehalosa, aproximadamente 0,02% de polisorbato 80, y 2,5 mM a 20 mM de metionina, en la que la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

35 **[0093]** En algunas realizaciones, el producto farmacéutico comprende aproximadamente 25 mg/ml de secukinumab y aproximadamente 225 mM de trehalosa. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico comprende aproximadamente 150 mg/ml de secukinumab y aproximadamente 200 mM de trehalosa. En algunas realizaciones, el recipiente del producto farmacéutico divulgado es un cartucho, una jeringa, una pluma o un vial.

40 **[0094]** En algunas realizaciones, el producto farmacéutico tiene una cantidad suficiente de secukinumab para permitir la administración de al menos aproximadamente 75 mg - aproximadamente 300 mg de secukinumab por dosis unitaria. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico tiene una cantidad suficiente de secukinumab para permitir la administración de al menos aproximadamente 10 mg/kg por dosis unitaria. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico se formula a una dosis para permitir la administración intravenosa de aproximadamente 10 mg/kg de secukinumab por dosis unitaria. En algunas realizaciones, el producto farmacéutico se formula a una dosis para permitir la administración subcutánea de aproximadamente 75 mg - aproximadamente 300 mg de secukinumab por dosis unitaria.

Procesos de elaboración de composiciones líquidas y productos farmacéuticos

50 **[0095]** También se describen en el presente documento procesos de fabricación de los productos farmacéuticos y composiciones líquidas de la divulgación. Estos procesos ayudan a reducir la oxidación de los anticuerpos IL-17 divulgados. En resumen, se prepara una composición líquida combinando los excipientes deseados (p. ej., estabilizante del grupo 1 (p. ej., trehalosa), estabilizante del grupo 2 (metionina), tensioactivo (p. ej., PS80), tampón (p. ej., histidina)) con secukinumab a las concentraciones deseadas (p. ej., aproximadamente 25 a aproximadamente 150 mg/ml de secukinumab, aproximadamente 20 mM de histidina pH 5,8, aproximadamente 200 mM a aproximadamente 225 mM de trehalosa, aproximadamente 0,02% de polisorbato 80, y 2,5 mM a 20 mM de metionina) y pH (p. ej., aproximadamente pH 5,8). A continuación, esta composición líquida se dispone en el recipiente elegido (p. ej., vial, jeringa, cartucho [por ejemplo, para su uso con un autoinyector]). El contenido de oxígeno en el espacio de cabeza se ajusta al nivel deseado (p. ej., menos del 12%, menos del 10%, menos de aproximadamente el 8%, menos de aproximadamente el 6%, etc.), lo que puede ocurrir antes de llenar el recipiente con la composición líquida, durante el llenado del recipiente con la composición líquida o durante el taponado/sellado del recipiente.

65 **[0096]** Se divulgan aquí procesos para reducir la oxidación de secukinumab, que comprenden: preparar una composición líquida que tenga un pH de 5,2 a 6,2 y que comprenda: 20 mg/ml a 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de secukinumab; y de 2,5mM a 20 mM de metionina; disponiendo dicha composición líquida en un recipiente que tenga un espacio de cabeza; y ajustando el contenido de oxígeno en el

espacio de cabeza a menos o igual al 12%.

[0097] En algunas realizaciones de los procesos divulgados, el paso de ajuste c) se realiza purgando el espacio de cabeza utilizando un gas inerte. En algunas realizaciones de los procesos divulgados, el gas inerte es nitrógeno o argón. En algunas realizaciones de los procesos divulgados, la concentración de metionina en la composición líquida es de 2,5 mM, aproximadamente 5 mM, aproximadamente 10 mM o 20 mM, preferiblemente aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones de los procesos divulgados, el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza se ajusta a menos de aproximadamente 10%, por ejemplo, menos de aproximadamente 8%, preferiblemente menos de aproximadamente 6%. En algunas realizaciones de los procesos divulgados, la composición líquida tiene un pH de aproximadamente 5,8. En algunas realizaciones de los procesos divulgados, la concentración de secukinumab en la composición líquida es de aproximadamente 25 mg/ml o aproximadamente 150 mg/ml. En algunas realizaciones de los procedimientos divulgados, el recipiente es un cartucho, una jeringa, una pluma o un vial.

Métodos de Utilización de Productos Farmacéuticos y Composiciones Líquidas

[0098] Los productos farmacéuticos y composiciones líquidas divulgados se utilizarán para el tratamiento de pacientes, por ejemplo, con enfermedades autoinmunes (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, etc.). La dosis adecuada de secukinumab variará, por supuesto, en función, por ejemplo, del huésped, el modo de administración y la naturaleza y gravedad de la afección tratada, así como de la naturaleza de los tratamientos previos a los que se haya sometido el paciente. En última instancia, el profesional sanitario que le atienda decidirá la cantidad de anticuerpo IL-17 con la que tratar a cada paciente. En algunos casos, el médico puede administrar dosis bajas del anticuerpo IL-17 y observar la respuesta del paciente. En otras realizaciones, la(s) dosis inicial(es) de anticuerpo IL-17 administrada(s) a un paciente es(son) alta(s), y luego se titula(n) a la baja hasta que aparecen signos de recaída. Pueden administrarse dosis mayores del anticuerpo IL-17 hasta que se obtenga el efecto terapéutico óptimo para el paciente, y la dosis no suele aumentarse más.

[0099] El momento de la dosificación se mide generalmente a partir del día de la primera dosis del compuesto activo (p. ej., secukinumab), que también se conoce como "línea de base". Sin embargo, los distintos proveedores de asistencia sanitaria utilizan diferentes convenciones de nomenclatura, como se muestra en **el cuadro 2**, a continuación.

Tabla 2 - Convenciones comunes de denominación de los regímenes de dosificación. Los elementos en negrita se refieren a la convención de nomenclatura utilizada en el presente documento.

Semana	0/1	1/2	2/3	3/4	4/5	5/6	6/7	7/8	8/9	Etc.
1.º día	0/1	7/8	14/15	21/22	28/29	35/36	42/43	49/50	56/57	Etc.

[0100] Notablemente, la semana cero puede ser referida como semana 1 por algunos proveedores de salud, mientras que el día cero puede ser referido como día uno por algunos proveedores de salud. Por lo tanto, es posible que diferentes médicos designen, por ejemplo, una dosis como administrada durante la semana 3 / el día 21, durante la semana 3 / el día 22, durante la semana 4 / el día 21, durante la semana 4 / el día 22, refiriéndose al mismo programa de dosificación. En aras de la coherencia, la primera semana de dosificación se denominará en el presente documento semana 0, mientras que el primer día de dosificación se denominará día 1. Sin embargo, un experto entenderá que esta nomenclatura se utiliza simplemente por coherencia y no debe interpretarse como limitativa, es decir, la dosificación semanal es el suministro de una dosis semanal de secukinumab, independientemente de que el médico se refiera a una semana concreta como "semana 1" o "semana 2". Como ejemplo de denominación utilizando la convención designada en el presente documento, pueden proporcionarse cinco dosis de secukinumab administradas semanalmente durante la semana 0 (p. ej., aproximadamente el día 1), durante la semana 1 (p. ej., aproximadamente el día 8), durante la semana 2 (p. ej., aproximadamente el día 15), durante la semana 3 (p. ej., aproximadamente el día 22) y durante la semana 4 (p. ej., aproximadamente el día 29). Se entenderá que no es necesario suministrar una dosis en un momento exacto, por ejemplo, podría suministrarse una dosis prevista aproximadamente para el día 29, por ejemplo, del día 24 al día 34, por ejemplo, el día 30, siempre que se suministre en la semana apropiada.

[0101] En algunas realizaciones, los métodos y usos divulgados emplean un régimen inicial (a veces denominado "inducción") que dura 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 semanas. En algunas realizaciones, el régimen inicial utiliza la dosificación durante las semanas 0, 1, 2 y 3. En otras realizaciones, el régimen inicial utiliza la dosificación durante las semanas 0, 1, 2, 3, 4, 8 y 12. En algunas realizaciones, el régimen inicial comprende la administración de varias (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, preferiblemente 4 o 5) dosis de aproximadamente 150 mg - 300 mg, por ejemplo, aproximadamente cuatro o cinco dosis de 150 mg o 300 mg (preferiblemente cinco dosis de aproximadamente 150 mg - aproximadamente 300 mg) de secukinumab. En otras realizaciones, las dosis iniciales se administran semanalmente, quincenalmente, cada dos semanas o mensualmente [cada 4 semanas], preferiblemente semanalmente. En algunas realizaciones, se administran 150 mg o 300 mg de secukinumab mediante inyección subcutánea, con una dosificación inicial en las semanas 0, 1 y 2.

5 [0102] Para un régimen de mantenimiento, puede suministrarse una dosis cada mes (también llamada dosificación "mensual") (es decir, cada 4 semanas, es decir, aproximadamente cada 28 días), cada dos meses (es decir, cada 8 semanas, es decir, aproximadamente cada 56 días), o cada tres meses (es decir, cada 12 semanas, es decir, aproximadamente cada 84 días). En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento comienza después de la semana 12. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento comienza después de la semana 3. Se administrará una primera dosis de un régimen de mantenimiento en una fecha generalmente medida a partir de la dosis final del régimen de inducción. Así, por ejemplo, si la dosis final del régimen de inducción se administra durante la semana 12, entonces la primera dosis como parte de un régimen de mantenimiento mensual [cada 4 semanas] se administrará durante la semana 16, la primera dosis como parte de un régimen de mantenimiento cada dos meses se administrará durante la semana 20, la primera dosis como parte de un régimen de mantenimiento cada tres meses se administrará durante la semana 24, etc. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento comprende la administración de una dosis de secukinumab semanal, quincenal, mensual [cada 4 semanas], cada dos meses, trimestral, bianual o anual. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento emplea una dosificación mensual (cada 4 semanas). En algunas realizaciones, la primera dosis del régimen de mantenimiento se administra durante la semana 4 o durante la 16. En algunas realizaciones, el régimen de mantenimiento comprende la administración de una dosis de aproximadamente 150 mg - 300 mg, por ejemplo, aproximadamente 150 mg o aproximadamente 300 mg de secukinumab.

10 20 [0103] La administración de secukinumab durante un régimen de carga, un régimen de inducción y/o un régimen de mantenimiento puede realizarse por vía subcutánea, p. ej., administración de dosis de aproximadamente 75 mg - aproximadamente 300 mg (p. ej., aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 225 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 275 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 325 mg), por vía intravenosa, p. ej., administración de dosis de aproximadamente 1 mg/kg, - aproximadamente 50 mg/kg (p. ej., aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg, etc.), o cualquier otra vía de administración (p. ej., intramuscular, i.m.). En realizaciones preferidas, la dosis de secukinumab se administra s.c.

15 25 30 35 [0104] En las realizaciones preferidas, se administra al paciente una dosis de aproximadamente 150 mg - aproximadamente 300 mg (p. ej., aproximadamente 150 mg o aproximadamente 300 mg) de secukinumab mediante inyección subcutánea, con una dosificación inicial en las semanas 0, 1, 2 y 3, seguida de una dosificación de mantenimiento mensual, a partir de la cuarta semana. En este régimen, la dosificación tiene lugar durante cada una de las semanas 0, 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20, etc. Una dosis de 300 mg puede administrarse en dos inyecciones subcutáneas de 150 mg.

40 45 [0105] En el presente documento se describen métodos de tratamiento de una enfermedad autoinmune (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica), que comprenden la administración a un paciente que lo necesite de una dosis de aproximadamente 150 mg - aproximadamente 300 mg (p. ej., aproximadamente 150 mg o aproximadamente 300 mg) de secukinumab mediante inyección subcutánea, con dosificación inicial en las semanas 0, 1, 2 y 3, seguida de dosificación de mantenimiento mensual, a partir de la semana 4, en la que secukinumab se proporciona como parte de una composición farmacéutica que comprende: 20 mg/ml a 175 mg/ml (p. ej., aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de secukinumab; un tampón con un pH de 5,2 a 6,2; y de 2,5 a 20 mM de metionina, en el que la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

50 55 [0106] Se divulga en el presente documento el uso de secukinumab para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmune (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica) en un paciente, en el que el medicamento está formulado para comprender contenedores, cada contenedor tiene un espacio de cabeza con un contenido de oxígeno de menos del 12% (p. ej., menos de aproximadamente 10%, menos de aproximadamente 8%, menos de aproximadamente 7%, menos de aproximadamente 6%, etc.) y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición comprende: 20 mg/ml a 175 mg/ml (p. ej., de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de secukinumab; un tampón con un pH de 5,2 a 6,2; y de 2,5 a 20 mM de metionina, en el que la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado.

Kits de productos farmacéuticos y composiciones líquidas

60 65 [0107] Pueden prepararse kits para el tratamiento de diversas enfermedades autoinmunes (p. ej., psoriasis). Dichos kits incluyen al menos uno de los productos farmacéuticos o composiciones líquidas divulgados e instrucciones de uso. Las instrucciones revelarán técnicas apropiadas para el suministro de la composición líquida estable al paciente como parte de un régimen de dosificación. Estos kits también pueden contener agentes adicionales (descritos *supra*) para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, por ejemplo, la psoriasis, para su administración en combinación con (es decir, simultánea o secuencialmente [antes o después]) la composición líquida incluida.

[0108] Los kits pueden usarse para el tratamiento de un paciente que tiene una enfermedad autoinmune (p. ej.,

psoriasis), comprendiendo dichos kits: a) un recipiente que tiene un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior al 12% (p. ej., inferior a aproximadamente el 10%, inferior a aproximadamente el 8%, inferior a aproximadamente el 7%, inferior a aproximadamente el 6%, etc.), b) una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho recipiente, comprendiendo dicha composición: i) aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml (p. ej., aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml) de secukinumab; ii) un tampón con un pH de 5,2 a 6,2; y iii) de 2,5 a 20 mM de metionina, en la que la composición farmacéutica líquida no se reconstituye a partir de un liofilizado; y c) instrucciones para administrar la composición farmacéutica líquida al paciente. En algunas realizaciones, el recipiente es una pluma, una jeringa precargada, un autoinyector o un vial.

10 General

[0109] Los detalles de una o más realizaciones de la divulgación se exponen en la descripción adjunta. Otras características, objetos y ventajas de la divulgación se desprenderán de la descripción y de las reivindicaciones. En la especificación y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la materia a la que pertenece esta divulgación. Los siguientes Ejemplos se presentan para ilustrar mejor las realizaciones preferidas de la divulgación.

20 EJEMPLOS:

[0110] Se entiende que los ejemplos y realizaciones descritos en el presente documento tienen únicamente fines ilustrativos y que se sugerirán diversas modificaciones y cambios a la luz de los mismos a los expertos en la materia, que se incluirán dentro del espíritu y ámbito de esta solicitud y del alcance de las reivindicaciones modificadas.

[0111] Estos ejemplos describen el desarrollo de composiciones líquidas estables de secukinumab. Los datos muestran que el pH de la composición y la elección del estabilizante del grupo 2 tuvieron un gran efecto sobre la estabilidad de la composición líquida. Los datos también muestran que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza influye en la estabilidad de la composición líquida. La concentración de anticuerpos, la elección del tensioactivo, la elección del estabilizador del grupo 1 y la elección del sistema tampón tuvieron una influencia menor en la estabilidad. Por lo tanto, al considerar las variables que tienen mayor influencia en la estabilidad, los productos farmacéuticos divulgados comprenden un recipiente (p. ej., PFS o vial) que tiene un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior a aproximadamente 12%, y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición tiene un pH de aproximadamente 5,2 a aproximadamente 6,2 y comprende secukinumab en una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a 175 mg/ml y de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 20 mM de L-metionina. Al considerar las variables que tienen impactos grandes y pequeños en la estabilidad, los productos farmacéuticos divulgados comprenden un recipiente (p. ej., PFS o vial) que tiene un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior a aproximadamente 12%, y una composición farmacéutica líquida dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición tiene un pH de aproximadamente 5,2 a aproximadamente 6,2 y comprende secukinumab; un tampón; un tensioactivo, un estabilizador, y aproximadamente 2,5 a aproximadamente 20 mM de L-metionina.

[0112] Basándose en los datos divulgados a continuación, las composiciones líquidas preferidas comprenden aproximadamente 25 mg/ml - aproximadamente 165 mg/ml de secukinumab, aproximadamente 185 mM - aproximadamente 225 mM de trehalosa, aproximadamente 0,01 % - aproximadamente 0,03 % de polisorbato 80, aproximadamente 2,5 mM - aproximadamente 20 mM de L-metionina y aproximadamente 10-30 mM de tampón de histidina (p. ej., aproximadamente 20 mM de tampón de histidina) a un pH de aproximadamente 5,8.

[0113] Una composición líquida preferida I comprende aproximadamente 150 mg/ml de secukinumab, aproximadamente 200 mM de trehalosa, aproximadamente 0,02 % de polisorbato 80, aproximadamente 5 mM de L-metionina, y aproximadamente 20 mM de tampón de histidina a un pH de aproximadamente 5,8. Un producto farmacéutico preferido I comprende la mencionada composición líquida 1 dispuesta en una jeringa precargada (PFS).

[0114] Otra composición líquida preferida II comprende aproximadamente 25 mg/ml de secukinumab, aproximadamente 225 mM de trehalosa, aproximadamente 0,02 % de polisorbato 80, aproximadamente 5 mM de L-metionina, y aproximadamente 20 mM de tampón de histidina a un pH de aproximadamente 5,8. Un producto farmacéutico preferido II comprende la mencionada composición líquida II dispuesta en un vial.

60

65

5
Tabla 3: Abreviaturas utilizadas en los ejemplos

	Abreviatura	Definición
10	CE-SDS	Electroforesis capilar (dodecilsulfato de sodio)
15	CEX	Cromatografía de intercambio catiónico
20	Cys-CEX	Cromatografía de intercambio catiónico para cistamina
25	DLS	Dispersión dinámica de la luz
30	DoE	Diseño del experimento
35	HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
40	LLS	Dispersión de luz láser
45	RH	Humedad relativa
50	RP-HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa
55	SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato de sodio
60	SEC	Cromatografía de exclusión por tamaños
65	AP-SEC	Productos de agregación según SEC
	DP-SEC	Productos de degradación según SEC

Tabla 4: Analítica utilizada en Ejemplos.

5	Ensayo analítico
10	UV: Ensayos de la proteína según la absorción UV
15	SEC: Pureza según SEC, AP-SEC, DP-SEC
20	SDS-PAGE: pureza según SDS-PAGE (no reductora), pureza según SDS-PAGE (reductora), impurezas según SDS-PAGE (reductora)
25	CE-SDS: Pureza según CE-SDS (no reductora), impurezas según CE-SDS (no reductora)
30	LLS: peso molecular medio según LLS
35	DLS: polidispersidad según DLS, radio hidrodinámico según DLS
40	Turbidez
45	Partículas subvisibles mediante el oscurecimiento de la luz
50	Partículas visibles
55	RP-HPLC: pureza según RP-HPLC y especies previas al pico principal según RP-HPLC
60	CEX: pureza según CEX, variantes ácidas según CEX, variantes básicas según CEX
65	Color
70	actividad según Cys-CEX
75	Grupos SH libres (prueba de Ellmans)
80	actividad biológica

1.1 Parte I - Análisis detallado de las variables con mayor influencia en la estabilidad en estado líquido de secukinumab (oxígeno en el espacio de cabeza, pH y L-metionina)

55 1.1.1 Ejemplo 1: L-metionina

[0115] El efecto de varios estabilizadores antioxidantes sobre la estabilidad de secukinumab se caracterizó utilizando un amplio conjunto de técnicas analíticas.

60 [0116] En los primeros estudios, se evaluó una gama de estabilizadores antioxidantes, que comprendían ascorbato de sodio tetra EDTA, cisteína, bisulfito de sodio y citrato de sodio. Aunque ninguno de ellos estabilizó adecuadamente la molécula, se ha observado un pequeño efecto estabilizador sobre los productos de agregación mediante SEC de EDTA tetra sódico y citrato sódico en comparación con las composiciones que no contienen estabilizadores antioxidantes (datos no mostrados).

65 [0117] En estudios adicionales, se evaluaron los estabilizadores cisteína, tetra EDTA sódico y L-metionina a una

concentración de 10 mM y se compararon con ningún estabilizador utilizando una concentración de secukinumab de 150 mg/ml con un enfoque DoE. Las composiciones se envasaron en PFS y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones a largo plazo (5°C), aceleradas (25°C) y estresadas (40°C) y se evaluaron con respecto a la estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles por oscurecimiento de la luz), estabilidad química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) e indicadores de actividad biológica (actividad por Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y estrés por agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones envasadas en viales de 2 ml.

[0118] La L-metionina resultó ser el mejor estabilizador del grupo 2 para el secukinumab. Esto quedó demostrado por los mayores niveles de pureza, medidos por CEX y RP-HPLC, y los menores niveles de turbidez y recuentos de partículas visibles. Se demostró una estabilidad significativamente mejor en presencia de L-metionina en comparación con una composición sin estabilizador. Las composiciones con L-metionina presentaban niveles más bajos de AP-SEC, datos DLS más consistentes, menor turbidez y menores cantidades de especies de picos pre-principales por RP-HPLC tras 8 semanas de estabilidad en condiciones aceleradas de 25 °C y 40 °C. El EDTA resultó desventajoso debido a los aumentos de AP-SEC, DLS, variantes básicas por CEX y especies de picos preprincipales por RP-HPLC. La cisteína provoca aumentos en casi todos los productos de agregación y degradación, como indican diversos métodos analíticos.

[0119] La **Figura 1** enumera los atributos de calidad seleccionados tras el almacenamiento en diferentes condiciones. Sólo se observó que la L-metionina tuviera un efecto estabilizador constante sobre secukinumab. El efecto estabilizador se observó especialmente en las especies de picos pre-principales por RP-HPLC (**Figura 1 B**) y AP-SEC (**Figura 1 D**). También se observaron otros efectos en la turbidez y el radio hidrodinámico mediante DLS. En estudios posteriores se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de L-metionina en los atributos de calidad de secukinumab.

[0120] La **Figura 2** muestra el cambio en las especies de picos pre-principales por RP-HPLC durante el almacenamiento a 25 °C a una concentración de secukinumab de 25 mg/ml y una concentración de trehalosa de 225 mM y una concentración de polisorbato 80 de 0,02 % en tampón de histidina pH 5,8 en presencia y ausencia de L-metionina. Las composiciones se introdujeron en viales de 2 ml y se almacenaron hasta 3 meses en condiciones de estrés. La línea negra discontinua representa un ajuste lineal a los valores obtenidos para la composición que contiene 0 mM de L-metionina, la línea gris discontinua representa un ajuste lineal a los valores obtenidos para la composición que contiene 10 mM de L-metionina. Claramente, se observó una cinética de degradación reducida en presencia de L-metionina.

[0121] También se observó un efecto dependiente de la concentración para las composiciones que contenían 150 mg/ml de secukinumab. Se realizó un estudio con composiciones que contenían trehalosa en concentraciones entre 200 mM y 300 mM, polisorbato 80 entre 0,01 % y 0,04 %, así como L-metionina de 0 mM a 10 mM. Las composiciones se envasaron en PFS de 1ml y se almacenaron durante un máximo de tres meses en condiciones aceleradas y estresadas a largo plazo. Se controló la estabilidad física (AP-SEC, DLS, partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz y partículas visibles, turbidez) y química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) de secukinumab, así como su actividad biológica.

[0122] La **Figura 3** muestra las especies de picos pre-principales por RP-HPLC después de 6 meses de almacenamiento a 25 °C. Mientras que el efecto de la trehalosa y el polisorbato 80 sobre la degradación fue insignificante, se observaron niveles de degradación claramente reducidos en presencia de L-metionina. Este efecto fue más pronunciado al comparar la estabilidad de secukinumab con y sin L-metionina, pero también se observó una dependencia de la concentración en el intervalo de 2,5 - 10 mM de L-metionina.

[0123] Se observó el mismo efecto estabilizador de la L-metionina tras el almacenamiento a largo plazo (hasta 30 meses) en composiciones que contenían 150 mg/ml de secukinumab, 200 mM de trehalosa, 0,02% de polisorbato 80 en un tampón de histidina de pH 5,8 envasado en 1 ml de PFS. La **figura 4** muestra AP-SEC (A) y especies de picos pre-principales por RP-HPLC (B) durante hasta 30 meses de almacenamiento a 5 °C. La línea negra discontinua representa un ajuste lineal a los valores obtenidos para la composición que contiene 5 mM de L-metionina, la línea gris discontinua representa un ajuste lineal a los valores obtenidos para la composición que contiene 0 mM de L-metionina. Claramente, se observó una cinética de degradación reducida en presencia de L-metionina.

[0124] La dependencia de la concentración se confirmó aún más en un estudio que evaluó el impacto de la concentración de L-metionina (0 - 20 mM) en la estabilidad de secukinumab (150 mg/ml, trehalosa 200 mM, polisorbato 80 0,02 %, tampón de histidina pH 5,8). Las diferentes composiciones se envasaron en PFS y se almacenaron en condiciones aceleradas y a largo plazo durante 13 y 30 meses (sólo a 5 °C). La estabilidad de secukinumab se evaluó mediante un conjunto de técnicas analíticas seleccionadas que se observó que indicaban estabilidad en estudios anteriores (pureza por RP-HPLC, pureza por SEC, turbidez). No se pudo concluir ninguna tendencia clara a partir de las mediciones de turbidez. Sin embargo, el AP- SEC y las especies de picos pre-principales por RP-HPLC mostraron una clara dependencia de la concentración de L-metionina. Este efecto fue pequeño en condiciones de almacenamiento en tiempo real, pero se observaron diferencias claras a 25 °C (**Figura 5**).

[0125] Tras 13 meses de almacenamiento a 25°C, los niveles de agregados por SEC en la composición sin L-metionina aumentaron un 4,5 % a partir de un nivel inicial de < 1 % en t0. Con la adición de L-metionina en la composición, este aumento en la formación de agregados se redujo al 3,5 % para 2,5 mM, al 3,0 % para 5 mM y al 2,2 % para 20 mM de L-metionina. A 5 °C, la diferencia entre la composición sin L-metionina y la composición con 20 mM de L-metionina era sólo del 0,3 %. La especie de pico pre-principal por RP-HPLC aumentó del 9,1 % al 42,7 % durante 13 meses de almacenamiento a 25°C en la muestra que contenía 0 mM de L-metionina. Este aumento de las especies de picos pre-principales por RP-HPLC se redujo al 39,4 % para 2,5 mM, al 37,8 % para 5,0 mM y al 34,5 % para 20 mM de muestras que contenían L-metionina. En resumen, se observó una reducción de los niveles de AP-SEC y de las especies anteriores al pico principal por RP-HPLC en presencia de L-metionina durante el almacenamiento a 5°C y 25°C en PFS. Se observó que las diferencias eran más claras tras el almacenamiento a 25°C, pero también eran detectables tras el almacenamiento a 5°C.

[0126] Ya a un nivel de 2,5 mM de L-metionina, las tasas de degradación se redujeron claramente en comparación con las composiciones sin L-metionina. Esto también se confirmó en otro estudio en el que se comparó la estabilidad de secukinumab en presencia de 0, 2,5 y 5,0 mM de L-metionina. No se observaron diferencias entre la composición que contenía 2,5 mM y 5,0 mM de L-metionina en cuanto a pureza por RP-HPLC, pureza por SEC y turbidez tras 24 meses de almacenamiento en las condiciones previstas.

[0127] La adición de L-metionina a las composiciones líquidas de anticuerpos en viales también disminuyó AP-SEC e impurezas por CE-SDS (no reductor) (**Figura 6**). Curiosamente, se observó una menor dependencia de la concentración de L-metionina para las composiciones líquidas de anticuerpo en viales que tenían 25 mg/ml de secukinumab (**Figura 6**), lo que sugiere que una menor concentración de L-metionina es suficiente para mantener la integridad y estabilidad del anticuerpo en composiciones que tienen una menor concentración de anticuerpo.

[0128] En base a los datos combinados de los experimentos anteriores, una concentración de metionina de al menos 2,5 mM (preferiblemente alrededor de 5 mM) es ideal para composiciones líquidas de secukinumab, y es superior a otros estabilizantes del grupo 2.

1.1.2 Ejemplo 2: Contenido de oxígeno en el espacio de cabeza

1.1.2.1 Envase Primario - PFS:

[0129] El efecto del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sobre la estabilidad de secukinumab se evaluó a una concentración de 150 mg/ml de secukinumab y en una composición con 200 mM de trehalosa, 5 mM de L-metionina, 0,02 % de polisorbato 80 en un tampón de histidina con pH 5,8. Las composiciones se envasaron en 1 ml de PFS de varios proveedores de PFS. El contenido de oxígeno en el espacio de cabeza se midió entre el 13 % y el 15 % (volumen de llenado de 0,5 ml) o entre el 3-4 % (volumen de llenado de 0,5 ml) / 7-8 % (volumen de llenado de 1,0 ml), respectivamente. Las muestras se almacenaron hasta seis meses en condiciones aceleradas y estresadas a largo plazo. Las composiciones seleccionadas se almacenaron hasta 24 meses en condiciones de larga duración. La estabilidad del secukinumab se controló mediante pureza por SEC, pureza por RP-HPLC, pureza por CEX, pureza por CE-SDS (no reductora), turbidez, color, grupos SH libres, actividad biológica, subvisibilidad por oscurecimiento de la luz y partículas visibles.

[0130] Se observó un impacto del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sobre las especies de picos preprincipales mediante RP-HPLC y AP-SEC en condiciones a largo plazo, aceleradas y estresadas. La **figura 7** muestra el AP-SEC durante un almacenamiento de hasta 9 meses a 25 °C. Claramente, los PFS con un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza de entre el 13 y el 15 % mostraron una mayor agregación a 25 °C. Sin embargo, hubo poca diferencia absoluta en el nivel de agregados en relación con el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza en condiciones de almacenamiento de 2-8°C (datos de 6 meses) (datos no mostrados).

[0131] El impacto de diferentes niveles de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza, que van del 6% al 21% (es decir, sin purgar), sobre los atributos de calidad del secukinumab (turbidez, pureza por SEC, pureza por RP-HPLC, pureza por CE-SDS (no reductora), grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz, partículas visibles, color) se evaluó adicionalmente durante el almacenamiento a 5°C durante 12 meses, así como en condiciones aceleradas (25°C) durante 6 meses y en condiciones estresadas (40°C) durante 3 meses. El estudio se realizó a 150 mg/ml de secukinumab y en una composición con 200 mM de trehalosa, 5 mM de L-metionina, 0,02 % de polisorbato 80 en un tampón de histidina de pH 5,8. Las muestras se introdujeron en el PFS y se purgaron con mezclas de oxígeno certificadas para obtener el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza deseado.

[0132] Durante el tiempo de almacenamiento no se observó ningún cambio en la turbidez; no se observó ningún efecto distintivo del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sobre las partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz, color y grupos SH libres y las diferencias entre las diferentes muestras de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza estaban dentro de la dispersión del método. La concentración de metionina no cambió de forma relevante durante el almacenamiento a 5 °C o 25 °C y se observó que era de 4,9 mM (valor inicial 4,9 - 5,0 mM) después de 12 meses a 5 °C, independientemente del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza.

[0133] En contraste con nuestros resultados anteriores, que mostraban un impacto relativamente grande del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sobre los productos de agregación por SEC, en este experimento sólo se observaron pequeños cambios durante el almacenamiento hasta 12 meses en las condiciones de almacenamiento previstas (5°C), incluso en la muestra de referencia no purgada. No se observaron diferencias relevantes en la pureza y los agregados por SEC entre las muestras con diferentes niveles de oxígeno en el espacio de cabeza para los diferentes puntos de estabilidad probados (hasta 12 meses de almacenamiento a 2-8 °C y hasta 6 meses de almacenamiento a 25 °C) (Figura 8). En cambio, sí observamos un aumento de la pureza principal por RP-HPLC con el aumento del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza. Esto se observó a 5°C (tras 12 meses de almacenamiento) (datos no mostrados) y a 25°C (tras 6 meses de almacenamiento) (Figura 9). No aparecieron nuevos picos.

1.1.2.2 Envase Primario - Viales:

[0134] Las composiciones se llenaron en viales de 2 ml y se almacenaron durante 12 meses en condiciones refrigeradas y hasta 3 meses en condiciones aceleradas y estresadas. Las Tablas 5-7 resumen el cambio en las especies de los picos pre-principales por RP-HPLC y SEC-AP durante el almacenamiento a 5°C, 25°C y 40°C a una concentración de secukinumab de 25 mg/ml y una concentración de trehalosa de 225 mM y una concentración de polisorbato 80 de 0,02 % en tampón de histidina pH 5,8 en presencia y ausencia de 5mM de L-metionina.

20 **Tabla 5:** Resultados de RP-HPLC y SEC para 25 mg/ml de secukinumab líquido en vial tras 6 y 12 meses de almacenamiento a 5°C. Composición 25 mg/ml secukinumab, 225mM trehalosa, 5mM L-metionina, 0,02% PS80.

25	Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
		T0	6 M	12 M	T0	6 M	12 M
30	5%	-	-	4.5	-	-	0.81
35	10%	8.2	3.4	6.1	0.84	0.78	0.86
40	20%	-	4.2	7.1	-	0.79	0.91

45

50

55

60

65

ES 2 976 305 T3

Tabla 6: Resultados de RP-HPLC y SEC para 25 mg/ml de secukinumab líquido en vial tras 3 meses de almacenamiento a 25°C y 40°C. Composición 25 mg/ml secukinumab, 225mM trehalosa, 5mM L-metionina, 0,02% PS80.

5	Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
		25 °C 40 °C			25 °C 40 °C		
		T0	3 M	3 M	T0	3 M	3 M
10	5%	-	17.9	40.6	-	1.10	1.80
15	10%	8.0	18.4	43.1	0.84	1.00	2.00
20	20%	-	20.6	46.2	-	0.93	2.50

Tabla 7: Resultados de RP-HPLC y SEC para 25 mg/ml de secukinumab líquido en vial tras 6 y 12 meses de almacenamiento a 5°C. Composición 25 mg/ml secukinumab, 225mM trehalosa, 0mM L-metionina, 0,02% PS80.

30	Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
		T0 6 M 12 M			T0 6 M 12 M		
		T0	6 M	12 M	T0	6 M	12 M
35	5%	8.3	3.8	6.1	0.84	0.82	0.91

Tabla 8: Resultados RP-HPLC y SEC para 25mg/ml de secukinumab líquido en vial después de 3 meses de almacenamiento a 25°C y 40°C. Composición 25 mg/ml secukinumab, 225mM trehalosa, 0mM L-metionina, 0,02% PS80.

45	Contenido de oxígeno en el espacio vacío	Especies previas al pico principal según RP-HPLC (%)			AP-SEC (%)		
		25 °C 40 °C			25 °C 40 °C		
		T0	3 M	3 M	T0	3 M	3 M
50	5%	-	20.9	44.6	-	1.10	2.60
55	10%	8.3	21.4	46.7	0.84	1.10	2.90
60	20%	-	25.5	50.9	-	1.30	3.50

[0135] Un impacto del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sobre la estabilidad del líquido secukinumab 25 mg/ml en vial se observa por las especies de picos pre-principales por RP-HPLC después de 12 meses a 5°C (4.5% a 5% de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza vs. 4.5% a 5% de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza). 7,1% con un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 20%, véase la **Tabla 5**), después de 3 meses a 25°C (17,9% con un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 5% frente a un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 5%). 20,6% al 20% de oxígeno, véase la **Tabla 6**) y después de 3 meses a 40°C (40,6% al 5%

de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza frente a un 20% de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza). 46,2% con un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 20%, véase la **Tabla 6**). La misma tendencia es deducible para AP-SEC después de 3 meses a 40°C (1,8% con un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 5% frente a un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 5% frente a un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 5%). 2,5% con un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza del 20%, véase la **Tabla 6**). Además, la concentración de L-metionina tiene un mayor impacto cuando se combina con un menor contenido de oxígeno en el espacio de cabeza. Por ejemplo, comparando las especies de picos pre-principales por RP-HPLC en las composiciones que contenían 5% de datos de contenido de oxígeno en el espacio de cabeza después de 12 meses de almacenamiento a 5°C, se encontró 6,1% (**Tabla 7**) para la composición que no contenía L-metionina en comparación con 4,5% (**Tabla 5**) para la composición con 5mM de L-metionina. La misma diferencia se observa para las especies de picos pre-principales por RP-HPLC después de 3 meses a 25°C (5% -20% de oxígeno: 20,9-25,5% en ausencia de L-metionina (**Tabla 8**) vs. 17,9-25,5% en presencia de 5mM L-metionina (**Tabla 6**)), y después de 3 meses a 40°C (5% -20% de oxígeno: 44,6-50,9% en ausencia de L-metionina (**Tabla 8**) vs. 40,6-46,2% en presencia de 5mM L-metionina (**Tabla 6**)).

[0136] Basado en los experimentos anteriores, una purga de nitrógeno para disminuir el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza a menos de aproximadamente 12% se considera beneficiosa para mejorar la estabilidad de la composición líquida tanto en PFS como en viales (como se evalúa por especies de picos pre-principales por RP-HPLC).

1.1.3 Ejemplo 3: Interacción de la concentración de L-metionina y el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza

[0137] Otro estudio evaluó la interacción entre la concentración de L-metionina y el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza. Se prepararon composiciones que contenían L-metionina en un intervalo de 2,5 - 7,5 mM y un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza entre el 3 y el 9 %. Las composiciones se llenaron en PFS y se almacenaron en condiciones aceleradas y a largo plazo durante 6 meses. Los atributos de calidad relevantes de secukinumab (pureza por SEC, pureza por RP-HPLC; pureza por CEX, grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles y visibles por oscurecimiento de la luz, turbidez y color de la solución) se monitorizaron tras 3 y 6 meses de almacenamiento. La **figura 10** muestra la pureza por AP-SEC tras 6 meses de almacenamiento a 25°C en función de la L-metionina y del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza. No se observó ninguna interacción en la gama probada cuando se analizó la pureza mediante AP-SEC.

[0138] En otro estudio, se evaluó el efecto de la reducción del contenido de oxígeno en el espacio de cabeza y la concentración de L-metionina a una concentración de secukinumab de 150 mg/ml. Las composiciones contenían 270 mM de manitol, 0,04 % de polisorbato 80 y diferentes concentraciones de L-metionina que oscilaban entre el 0,15 % y el 2 %. Las composiciones se introdujeron en viales de vidrio de 2 ml, se purgaron o no con nitrógeno y se almacenaron en condiciones aceleradas y estresadas a largo plazo durante un máximo de 6 meses.

[0139] La **Figura 11** representa las especies de picos pre-principales por RP-HPLC después de hasta 36 meses de almacenamiento en composiciones que contienen 0,15 % (10 mM), 1 % (67 mM) o 2 % (134 mM) de L-metionina y un espacio de cabeza de nitrógeno o aire. Como se observó anteriormente, las especies de picos pre-principales por RP-HPLC estaban a un nivel más bajo en las composiciones que contenían mayores cantidades de L-metionina. La misma composición mostró niveles más bajos de especies de picos pre-principales por RP-HPLC cuando el espacio de cabeza se purgó con nitrógeno.

[0140] En base a los datos combinados de varios experimentos usando tanto viales como PFS como envase primario, un contenido de oxígeno en el espacio de cabeza de menos de aproximadamente 12% en combinación con una concentración de L-metionina de al menos aproximadamente 2,5 mM es ideal para composiciones líquidas de secukinumab.

1.1.4 Ejemplo 4: pH

[0141] El efecto del pH sobre la estabilidad del secukinumab se evaluó inicialmente a una concentración de 10 mg/ml en una solución tampón de ácido cítrico / fosfato sódico 100 mM que contenía cloruro sódico 90 mM en un intervalo de pH entre 4,0 y 7,5. Las muestras se almacenaron durante 3 semanas a 5°C y 40°C. Paralelamente, se monitorizó la estabilidad de secukinumab tras cinco ciclos de congelación-descongelación desde ≤ -60°C hasta temperatura ambiente.

[0142] El pH óptimo para secukinumab varió en función de la vía de degradación analizada. La agregación y la proteólisis determinadas por la pureza por SEC, la pureza por SDS-PAGE (reductor) y el peso molecular medio por LLS fueron mínimas a pH 5,7 a 6,2, mientras que el pH óptimo para la pureza por CEX fue pH 5,3. El secukinumab activo contiene un residuo de cisteína libre en cada cadena ligera, por lo que se esperan 2 Mol de grupos tiol / Mol de secukinumab. Dado que un nivel reducido de grupos SH libres se correlaciona con la pérdida de actividad biológica de secukinumab, los grupos SH libres se cuantificaron mediante un método basado en el reactivo de Ellman. Sólo a pH 4,3 se observó un valor ligeramente inferior de 1,94 Mol/Mol. La resistencia a la congelación-descongelación de

secukinumab monitorizada por pureza mediante SEC y el peso molecular medio mediante LLS fue máximo a pH 5,3 a 5,7. Se seleccionó un pH de 5,8 para la formulación posterior de secukinumab.

[0143] Se realizaron estudios adicionales sobre el efecto del pH en la estabilidad de secukinumab en PFS utilizando un enfoque DoE. Se evaluó el efecto del pH en el intervalo de 5,2 - 5,8 a una concentración de secukinumab de 150 mg/ml. Las composiciones se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones a largo plazo (5°C), aceleradas (25°C) y estresadas (40°C) y se evaluaron con respecto a la estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles por oscurecimiento de la luz), estabilidad química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) e indicadores de actividad biológica (actividad por Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó congelación-descongelación (5 ciclos de -20°C a temperatura ambiente) y agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones envasadas en viales de 2 ml. Se observó que los valores de pH en el intervalo investigado afectaban significativamente a la estabilidad del secukinumab (AP-SEC, DP-SEC, DLS, variantes básicas por CEX, pureza por RP-HPLC). Los resultados de estudios anteriores se confirmaron con respecto al pH 5,8 como ideal (AP-SEC, DP-SEC y especies de picos pre-principales por RP-HPLC) (**Figura 12**).

[0144] El efecto del pH se evaluó además en composiciones que contenían secukinumab a una concentración de 150 mg/ml, trehalosa 200 mM, L-metionina en un rango de 2,5 - 7,5 mM y contenido de oxígeno en el espacio de cabeza entre 3 y 9 %. El pH del tampón de histidina se varió entre 5,4 y 6,2. Las composiciones se llenaron en PFS y se almacenaron en condiciones aceleradas y a largo plazo durante 6 meses. Los atributos de calidad relevantes del secukinumab (pureza por SEC, pureza por RP-HPLC; pureza por CEX, grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez y color de la solución,) se monitorizaron tras 3 y 6 meses de almacenamiento. La **Figura 13** muestra el efecto del pH sobre los atributos de calidad del secukinumab tras su almacenamiento a 5 °C. Se observó un aumento de la turbidez, de la AP-SEC y de las variantes ácidas por CEX, así como una disminución de la pureza por SEC a valores de pH más elevados, lo que confirma las observaciones del cribado inicial.

[0145] En base a los datos combinados de varios experimentos, un rango de pH de aproximadamente 5,2 a aproximadamente 6,2 es ideal para composiciones líquidas de secukinumab.

30 **1.2 Parte 2 - Análisis detallado de los excipientes con menor influencia en la estabilidad en estado líquido de secukinumab (estabilizante, tensioactivo y tampón)**

1.2.1 Ejemplo 5: La elección del estabilizador influye poco en la estabilidad

[0146] El desarrollo inicial de la composición para la forma farmacéutica líquida se centró en la evaluación de diferentes estabilizantes con respecto a la formación de agregados solubles e insolubles de secukinumab (AP-SEC, pureza mediante SDS-PAGE, técnicas de dispersión de luz), estabilidad química (pureza mediante RP-HPLC, pureza mediante CEX, color) y actividad biológica (actividad mediante Cys-CEX, grupos SH libres, actividad biológica) durante el almacenamiento en condiciones de almacenamiento a largo plazo, así como en condiciones aceleradas y estresadas.

[0147] Los estabilizantes se dividieron en tres clases diferentes: El Grupo I comprendía estabilizadores no iónicos (manitol, trehalosa dihidratada) e iónicos (cloruro sódico y clorhidrato de arginina). Todos los estabilizadores del grupo 1 proporcionaron beneficios frente a la ausencia de estabilizador. Sin embargo, se observó que los estabilizadores no iónicos (trehalosa y manitol) estabilizaban mejor la molécula, como se observó por los menores niveles de agregados y la mayor actividad de la Cys-CEX.

[0148] Basándose en las conclusiones de los estudios iniciales de desarrollo de la composición, se realizaron estudios adicionales en PFS utilizando un enfoque DoE. Se evaluó el efecto del grupo estabilizador I (glicina, manitol, trehalosa dihidratada, cloruro sódico). Las composiciones se envasaron en jeringas precargadas y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones a largo plazo, aceleradas y estresadas, y se evaluaron con respecto a la estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles por oscurecimiento de la luz), la estabilidad química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) y los indicadores de actividad biológica (actividad por Cys-CEX, grupos SH libres). Además, se aplicó congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y estrés por agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones envasadas en viales de 2 ml. En cuanto a la clase de estabilizador I, se confirmaron las observaciones de las pantallas anteriores: 1) todos los estabilizantes del grupo 1 proporcionaron beneficios sobre ningún estabilizante; y 2) los estabilizantes no iónicos resultaron ser mejores estabilizantes para la proteína secukinumab (**Figura 14**). Esto era especialmente destacado en la pureza por SEC, la pureza por RP-HPLC y la polidispersidad por DLS. Comparando diferentes estabilizantes no iónicos, no se observó ningún efecto relevante.

[0149] A continuación, identificamos la concentración ideal del estabilizador de clase I (trehalosa dihidratada, 200-300 mM). Las muestras se introdujeron en PFS y se almacenaron durante un máximo de tres meses en condiciones aceleradas y estresadas a largo plazo. Se controló la estabilidad física (AP-SEC, DLS, partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez) y química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) del secukinumab, así como su actividad biológica. No se observaron diferencias relevantes en los atributos de calidad de

secukinumab al variar las concentraciones de trehalosa (Figura 3).

1.2.2 Ejemplo 6: La elección del tensioactivo influye poco en la estabilidad

- 5 [0150] El desarrollo inicial de la composición líquida de 150 mg/ml se centró en la evaluación de diferentes excipientes (p. ej., estabilizantes y tensioactivos) con respecto a la formación de agregados solubles e insolubles de secukinumab (AP-SEC, pureza por SDS-PAGE, técnicas de dispersión de luz), estabilidad química (pureza por RP-HPLC, pureza por CEX, color) y actividad biológica (actividad por Cys-CEX, grupos SH libres, actividad biológica) durante el almacenamiento en condiciones de almacenamiento a largo plazo, así como en condiciones aceleradas y de estrés.
- 10 10 Los excipientes se dividieron en tres clases diferentes: El grupo III comprendía los tensioactivos polisorbato 20 y 80. No se observaron diferencias entre el polisorbato 20 y 80 a una concentración del 0,04 % en comparación con la ausencia de tensioactivos durante el almacenamiento en reposo.
- 15 [0151] Basándose en las conclusiones de los estudios iniciales de desarrollo de la composición, se realizaron estudios adicionales en PFS utilizando un enfoque DoE. Se evaluó el efecto del tensioactivo (polisorbato 20, polisorbato 80, Poloxamer 188, ninguno). Las composiciones se envasaron en PFS y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones a largo plazo, aceleradas y estresadas, y se evaluaron con respecto a la estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles por oscurecimiento de la luz), la estabilidad química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) y los indicadores de actividad biológica (actividad por Cys-CEX, grupos SH libres).
- 20 20 Además, se aplicó congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y estrés por agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones envasadas en viales de 2 ml. La presencia de un tensioactivo fue beneficiosa, como se observó por los menores niveles de turbidez y de partículas visibles y subvisibles por los recuentos de oscurecimiento de la luz. Sin embargo, el impacto del tipo de tensioactivo fue escaso (Figura 15).
- 25 [0152] A continuación, identificamos la concentración ideal del grupo tensioactivo III (polisorbato 80 0,01-0,04 (p/v) %). Las muestras se introdujeron en PFS y se almacenaron durante un máximo de tres meses en condiciones aceleradas y estresadas a largo plazo. Se controló la estabilidad física (AP- SEC, DLS, partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez) y química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) de secukinumab, así como su actividad biológica. No se observó ningún efecto distinto de las concentraciones de polisorbato 80 sobre los atributos de calidad del secukinumab durante el almacenamiento en reposo (Figura 3), así como después de 1 semana de agitación a 150 rpm. La polidispersidad por DLS y las partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz aumentaron ligeramente a mayores concentraciones de tensioactivo; por lo tanto, la concentración de polisorbato 80 se definió como 0,02 %, a fin de mantener un margen de seguridad para la concentración más baja evaluada.
- 35

1.2.3 Ejemplo 5: La elección del tampón influye poco en la estabilidad

- 40 [0153] El efecto de las especies tampón (citrato, histidina, succinato, acetato) se evaluó en el PFS utilizando un enfoque DOE. Las composiciones se envasaron en PFS y se sometieron a un estudio de estabilidad de 2 meses en condiciones a largo plazo, aceleradas y estresadas, y se evaluaron con respecto a la estabilidad física (AP-SEC, DLS, turbidez, partículas visibles y subvisibles por oscurecimiento de la luz), la estabilidad química (pureza por CEX, pureza por RP-HPLC, color) y los indicadores de actividad biológica (actividad por CysCEX, grupos SH libres). Además, se aplicó congelación-descongelación (5 ciclos de -20 °C a temperatura ambiente) y estrés por agitación (150 rpm durante una semana) a las composiciones envasadas en viales de 2 ml. No se observó ningún impacto relevante del tipo de búfer. La Figura 16 muestra los atributos de calidad seleccionados.

1.2.4 Ejemplo 6: La concentración de anticuerpos en el intervalo probado influye poco en la estabilidad

- 50 [0154] El efecto de la concentración de secukinumab en los atributos de calidad de la composición líquida se evaluó en un rango de 124,5 - 175,5 mg/ml. Las composiciones también contenían 200 mM de trehalosa, 5 mM de L-metionina y 0,02 % de polisorbato 80 en un tampón de histidina de pH 5,8. Las composiciones se llenaron en PFS y se almacenaron en condiciones aceleradas y a largo plazo durante 6 meses. Se controlaron los atributos de calidad relevantes del secukinumab (pureza por SEC, pureza por RP-HPLC; pureza por CEX, grupos SH libres, actividad biológica, partículas subvisibles por oscurecimiento de la luz, partículas visibles, turbidez y color de la solución) tras 3 y 6 meses de almacenamiento. No se observó ningún impacto relevante de la concentración de secukinumab en los atributos de calidad de la composición líquida dentro del intervalo de 25 mg/ml a 150 mg/ml (datos no mostrados).

1.3 Parte 3 - Propiedades de una composición preferida del mercado final

- 60 [0155] Un producto farmacéutico preferido de secukinumab comprende una composición líquida de 150 mg/ml de secukinumab en tampón 20 mM de histidina, pH 5,8, 200 mM de trehalosa, 0,02 % de polisorbato 80 y 5 mM de L-metionina, que se suministra en PFS. Durante el llenado inicial y el acabado, el espacio de cabeza del PFS tiene un contenido de oxígeno inferior al 12%. Estos productos farmacéuticos tienen una vida útil y una estabilidad general excelentes.
- 65 [0156] Se realizaron pruebas de estabilidad de varios lotes del medicamento secukinumab (150 mg/ml de

secukinumab, 200 mM de trehalosa dihidrato, 20 mM de clorhidrato de L-histidina/L-histidina monohidrato, 5 mM de L-metionina, 0,02% de polisorbato 80 (% p/v), pH 5,8) en PFS. Los resultados de las pruebas en condiciones de almacenamiento a largo plazo (2-8°C) hasta 24 meses de almacenamiento, en condiciones de almacenamiento acelerado (25°C) hasta 6 meses de almacenamiento y en condiciones de estrés térmico (30°C) hasta 6 meses de almacenamiento se muestran en las tablas 9-11, a continuación. Basándose en los datos de estabilidad presentados, hasta 24 meses de datos en tiempo real para secukinumab 150 mg / 1 ml Líquido en jeringa precargada (PFS) y hasta 36 meses de datos de estabilidad generados durante el desarrollo (granel-jeringa), se propone una vida útil de 24 meses para secukinumab 150 mg / 1 ml líquido en PFS producto comercial cuando se almacena a largo plazo en condiciones de 5°C ± 3°C, protegido de la luz y evitando la congelación.

Tabla 9 Pureza por SEC, CEX y RP-HPLC. *Este valor más alto está relacionado con la aparición de un pequeño pico justo antes del pico principal. Como este nuevo pico se integra por separado del pico principal, la suma de las variantes antes del pico principal es mayor.

(Continuación)

	Pureza según SEC			Pureza según CEX			Pureza según RP-HPLC	
	Pureza/ Monómero [%]	AP- SEC [%]	DP- SEC [%]	Variante princip al [%]	Suma varian tes básica s [%]	Suma varia ntes ácida s [%]	Variante princip al [%]	Suma espec ies previ as al pico princip al [%]
Condiciones de almacenamiento								
5 °C ± 1.5								
3 °C meses	99.0	0.96	<0.10	77.2	12.0	10.7	89.4	1.9
3 meses	98.7	1.0	0.20	77.5	12.1	10.3	88.7	1.9
6 meses	98.8	1.1	<0.10	77.5	11.5	10.9	86.5	4.1*
9 meses	98.7	1.2	0.10	76.7	12.4	10.8	88.2	2.1
12 meses	98.5	1.3	0.16	76.4	12.6	10.9	88.6	3.0
18 meses	98.2	1.3	0.43	73.8	14.7	11.5	84.8	6.8*
24 meses	97.9	1.4	0.56	76.5	11.5	11.9	87.3	4.3
25 °C / 60% de HR								
1.5 meses	98.6	1.2	0.14	72.3	14.6	12.7	87.9	3.8
3 meses	97.5	1.6	0.83	68.6	15.9	15.4	81.1	9.9
6 meses	96.2	2.0	1.7	62.8	16.2	21.0	76.1	15.3
30 °C / 1.5	97.6	1.5	0.90	67.9	16.4	15.5	86.7	5.1

(Continuación)

	Pureza según SEC			Pureza según CEX			Pureza según RP-HPLC	
	Pureza/SEC [%]	AP-SEC [%]	DP-SEC [%]	Variante principal [%]	Suma de variantes básicas [%]	Suma de variantes ácidas [%]	Variante principal [%]	Suma de variantes previas al pico principal [%]
Monómero [%]								
75% de meses HR								
3 meses	96.5	2.0	1.4	60.9	17.2	21.8	77.1	14.0
6 meses	94.1	3.0	2.8	50.6	17.4	31.9	60.3	22.0

Tabla 10 Pureza por CE-SDS (no reductora) e impurezas por SDS-PAGE (reductora).

Condiciones de almacenamiento	Pureza según CE-SDS (no reductora)		Impurezas según SDS-PAGE (reductora)
	Pureza/Monómero [%]	Suma de impurezas [%]	
Análisis inicial	97.5		0.60

(Continuación)

Condiciones de almacenamiento	Pureza según CE-SDS (no reductora)	Impurezas según SDS-PAGE (reductora)	
		Pureza/Monómero [%]	Suma de impurezas [%]
~ 20 °C 1.5 meses	97.3	0.92	
5 °C ±			
3 °C 1.5 meses	97.2	0.91	
3 meses	97.4	0.63	
6 meses	97.4	0.57	
9 meses	97.5	0.66	
12 meses	97.4	0.58	
18 meses	97.1	0.63	
24 meses	97.2	0.61	
25 °C /			
60% de			
HR 1.5 meses	97.1	1.3	
3 meses	96.7	0.86	
6 meses	95.3	1.1	
30 °C /			
75% de			
HR 1.5 meses	96.8	1.1	
3 meses	95.6	1.3	
6 meses	94.0	1.9	

Tabla 11 Potencia y cantidad. *Las muestras se analizaron > 30 días después de la fecha de extracción, esta desviación no influye en los resultados del ensayo de potencia.

Condiciones de almacenamiento	Inhibición de IL-1 β de condrocitos C-20/A4 (%)	Ensayos de la proteína según la absorción UV	
		Potencia (%)	Cantidad [mg/mL]
Analisis inicial	107	147.9	
- 20 °C 1.5 meses	107	149.6	
5 °C ± 3 °C 1.5 meses	92	149.4	
	3 meses	92*	149.5
	6 meses	102*	149.6
	9 meses	103	149.5
	12 meses	90*	149.0
	18 meses	88	147.9
	24 meses	98	149.4
25 °C / 60% de HR 1.5 meses	100	149.4	
	3 meses	107*	149.7
	6 meses	94*	149.6
30 °C / 75% de HR 1.5 meses	90	149.1	
	3 meses	119*	149.3
	6 meses	85*	149.4

REIVINDICACIONES

1. Un producto farmacéutico que comprende:
 - a. un recipiente que tenga un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza sea inferior al 12%, y
 - b. Una composición farmacéutica líquida estable con un pH de 5,2 a 6,2 dispuesta dentro de dicho recipiente, que comprende dicha composición:
 - i. 20 mg/ml a 175 mg/ml de secukinumab;
 - ii. 2,5 a 20 mM de L-metionina, y
 - iii. un estabilizador no iónico, un tensioactivo seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero, y un tampón de histidina.
2. El producto farmacéutico según la reivindicación 1, en el que la concentración de metionina es de 2,5 mM, 5 mM, 10 mM o 20 mM.
3. El producto farmacéutico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior al 10%, inferior al 8% o inferior al 6%.
4. El producto farmacéutico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la composición farmacéutica líquida tiene un pH de 5,8.
5. El producto farmacéutico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la concentración de secukinumab es de 150 mg/ml.
6. Producto farmacéutico según la reivindicación 1, que comprende
 - a. un recipiente con un espacio de cabeza, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza es inferior al 6%; y
 - b. una composición farmacéutica líquida estable dispuesta dentro de dicho recipiente, dicha composición comprende 25 mg/ml a 150 mg/ml de secukinumab, 10 mM a 30 mM de histidina pH 5,2-6,2, 180 mM a 300 mM de trehalosa, 0,01% a 0,04% de polisorbato 80, y 2,5 mM a 20 mM de metionina.
7. El producto farmacéutico según la reivindicación 6, que comprende 150 mg/ml de secukinumab y 200 mM de trehalosa.
8. Un proceso para reducir la oxidación de secukinumab, que comprende:
 - a. Preparar una composición líquida estable con un pH de 5,2 a 6,2 y que comprenda:
 - i. 20 mg/ml a 175 mg/ml de secukinumab;
 - ii. de 2,5 mM a 20 mM de metionina; y
 - iii. un estabilizador no iónico, un tensioactivo seleccionado entre un polisorbato y un poloxámero, y un tampón de histidina,
 - b. disponer dicha composición líquida en un recipiente con un espacio de cabeza; y
 - c. ajustar el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza a menos o igual al 12%.
9. El proceso según la reivindicación 8, en el que el paso de ajuste c) se realiza purgando el espacio de cabeza utilizando un gas inerte.
10. El proceso según la reivindicación 9, en el que el gas inerte es nitrógeno o argón.
11. El procedimiento según la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en el que la concentración de metionina es de 2,5 mM, 5 mM, 10 mM o 20 mM.
12. El proceso según la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en el que el contenido de oxígeno en el espacio de cabeza se ajusta a menos del 10%, menos del 8% o menos del 6%.
13. El procedimiento según la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en el que la composición líquida tiene un pH de 5,8.
14. El procedimiento según la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en el que la concentración de secukinumab es de 150 mg/ml.

15. Una composición farmacéutica líquida estable que comprende, 25 mg/ml a 150 mg/ml de secukinumab, 10 mM a 30 mM de histidina pH 5,2-6,2, 180 mM a 300 mM de trehalosa, 0,01% a 0,04% de polisorbato 80, y 2,5 mM a 20 mM de metionina.

5 16. La composición farmacéutica líquida según la reivindicación 15, que comprende 25 mg/ml a 150 mg/ml de secukinumab, 10 mM a 30 mM de histidina pH 5,8, 200 mM a 225 mM de trehalosa, 0,02% de polisorbato 80, y 2,5 mM a 20 mM de metionina.

10 17. La composición farmacéutica según la reivindicación 15 o la reivindicación 16, que comprende, 150 mg/ml de secukinumab, 20 mM de histidina pH 5,8, 200 mM de trehalosa, 0,02% de polisorbato 80, y 5 mM de L-metionina.

15 18. El producto farmacéutico según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el recipiente se selecciona del grupo que consiste en un cartucho, una jeringa, una pluma, una jeringa precargada, un autoinyector y un vial.

15

Fig. 1

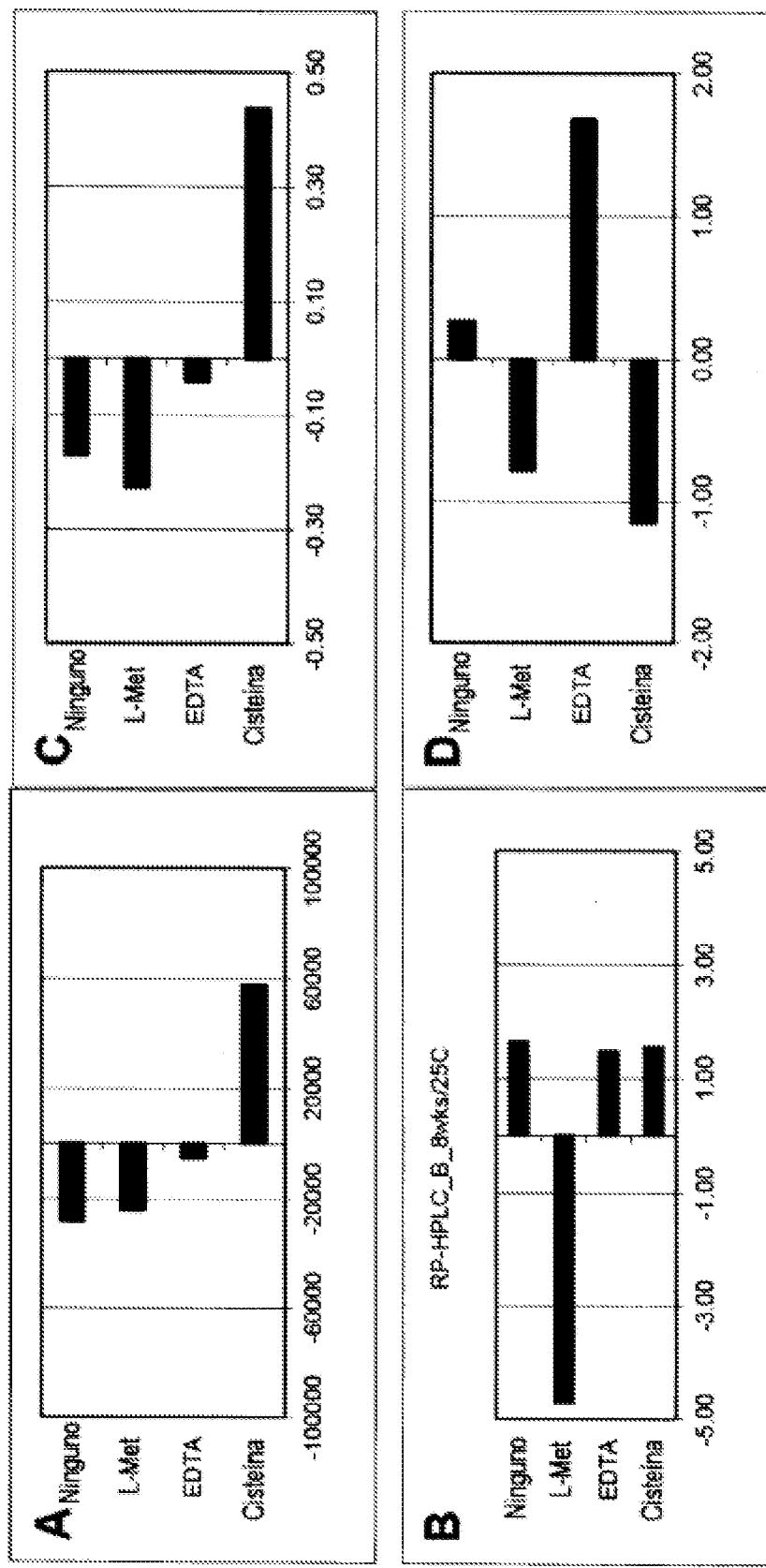


Fig. 2

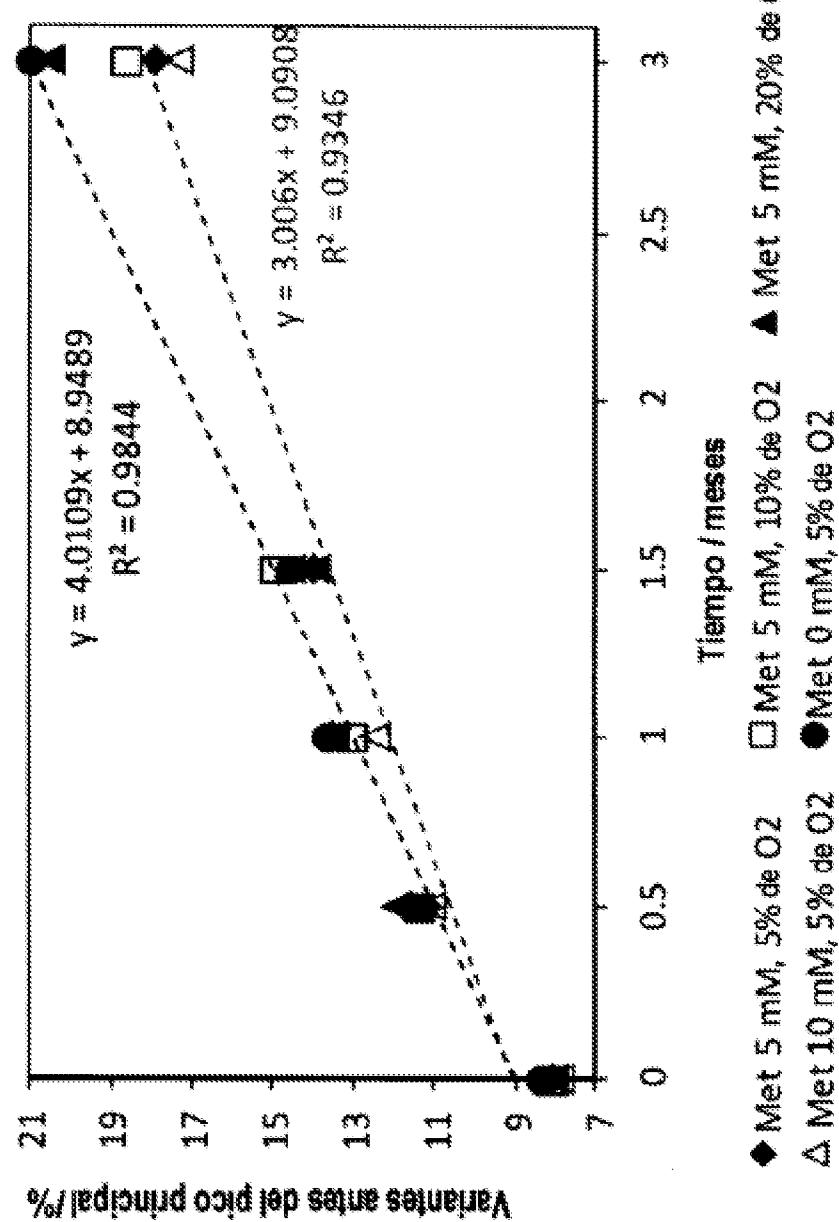
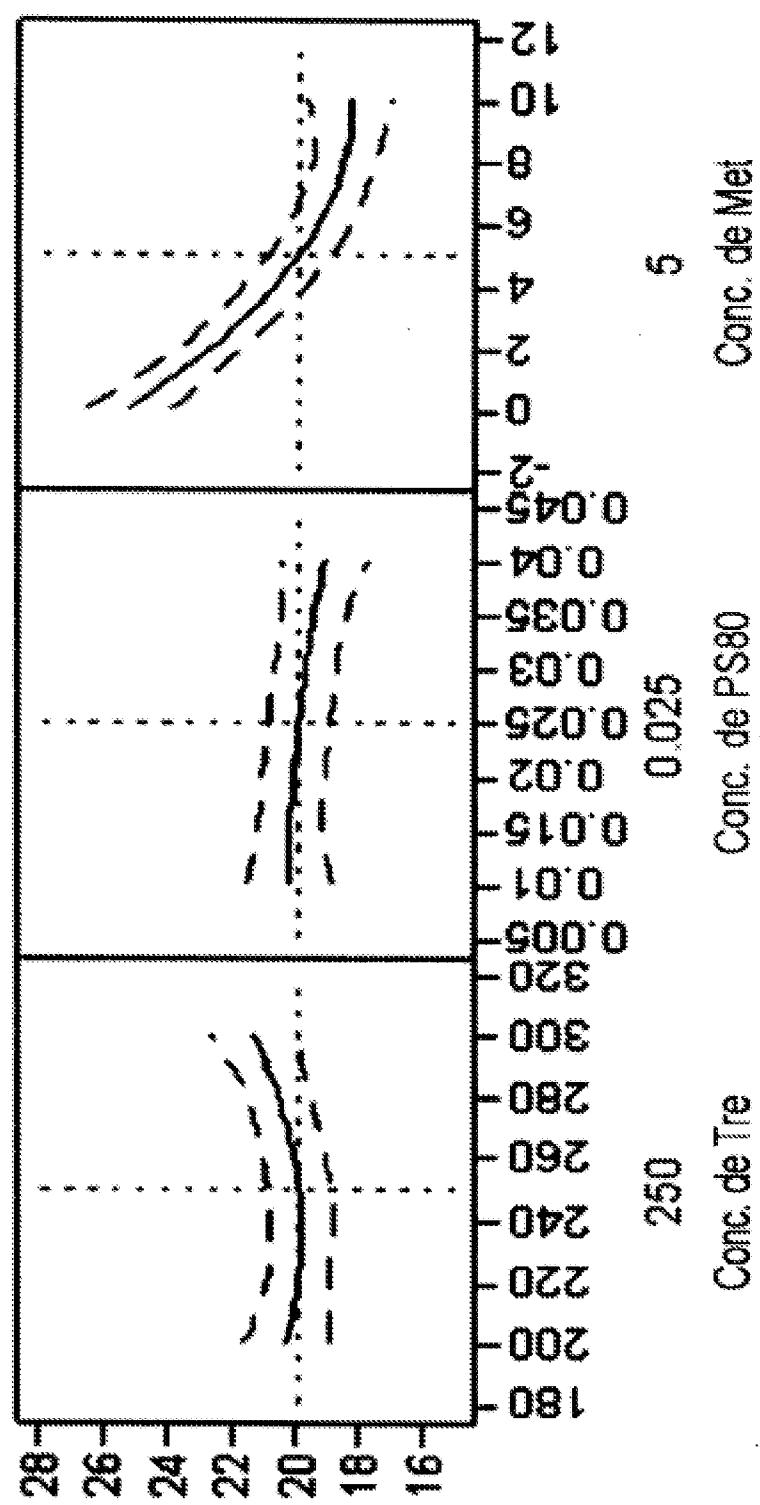


Fig. 3



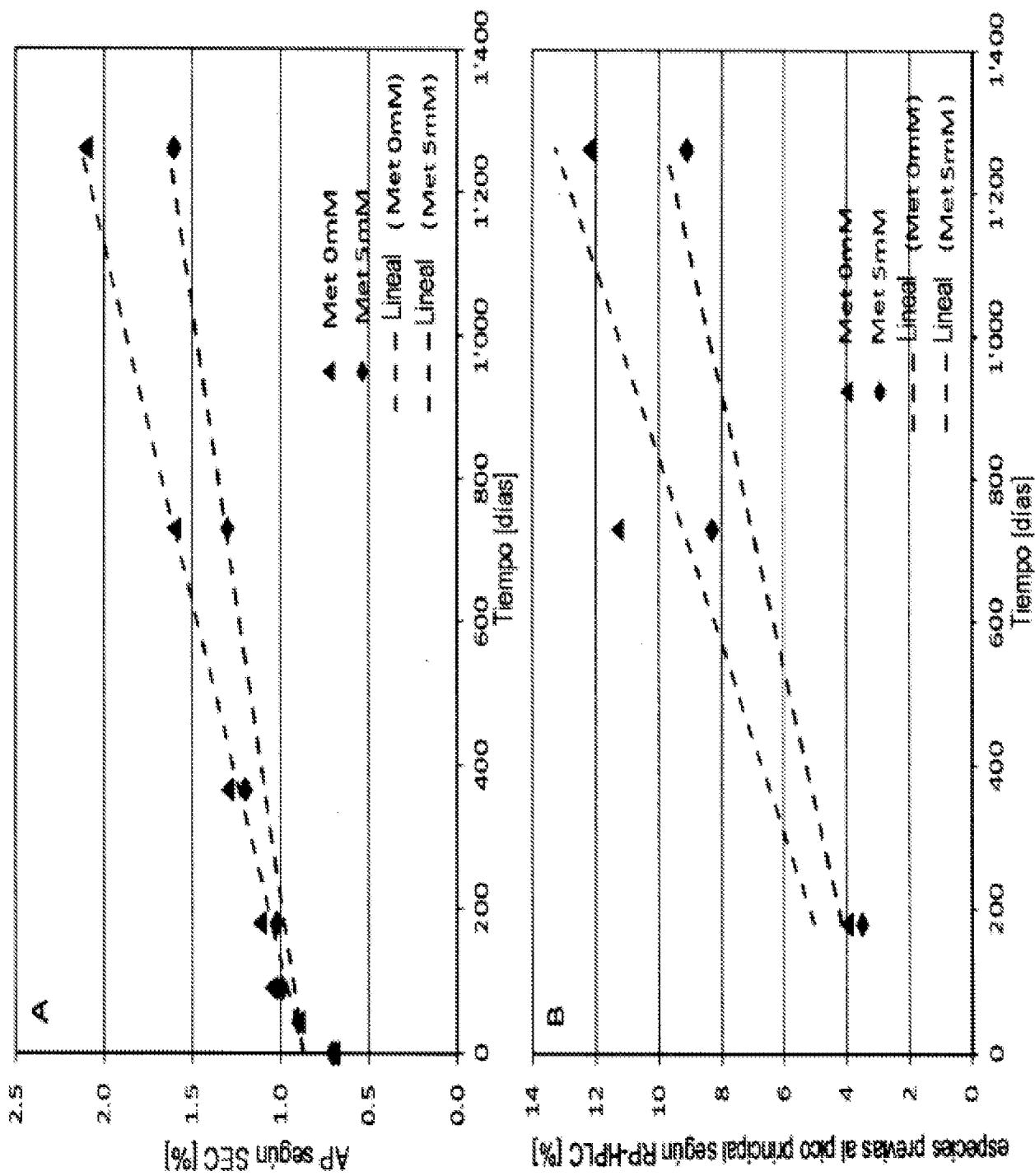


Fig. 5

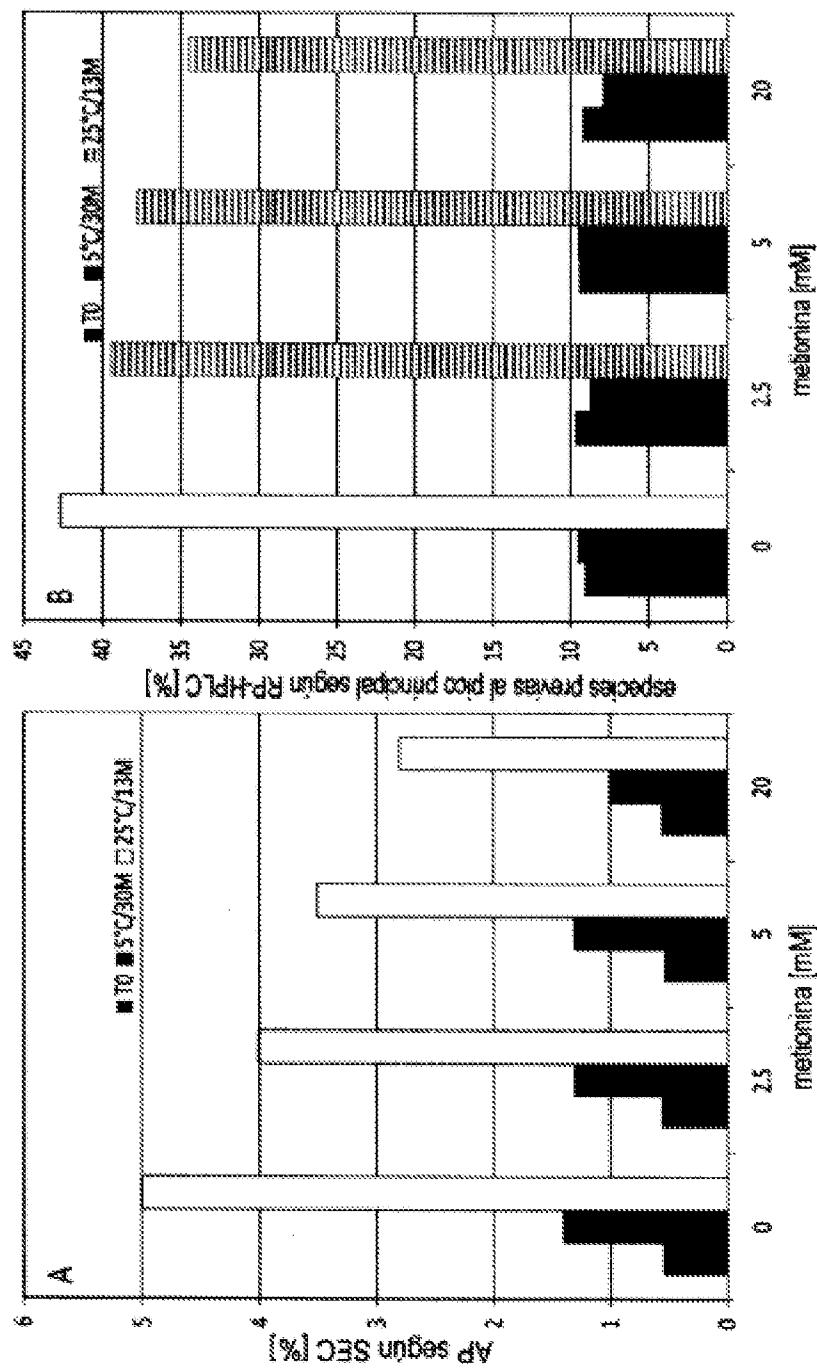


Fig. 6

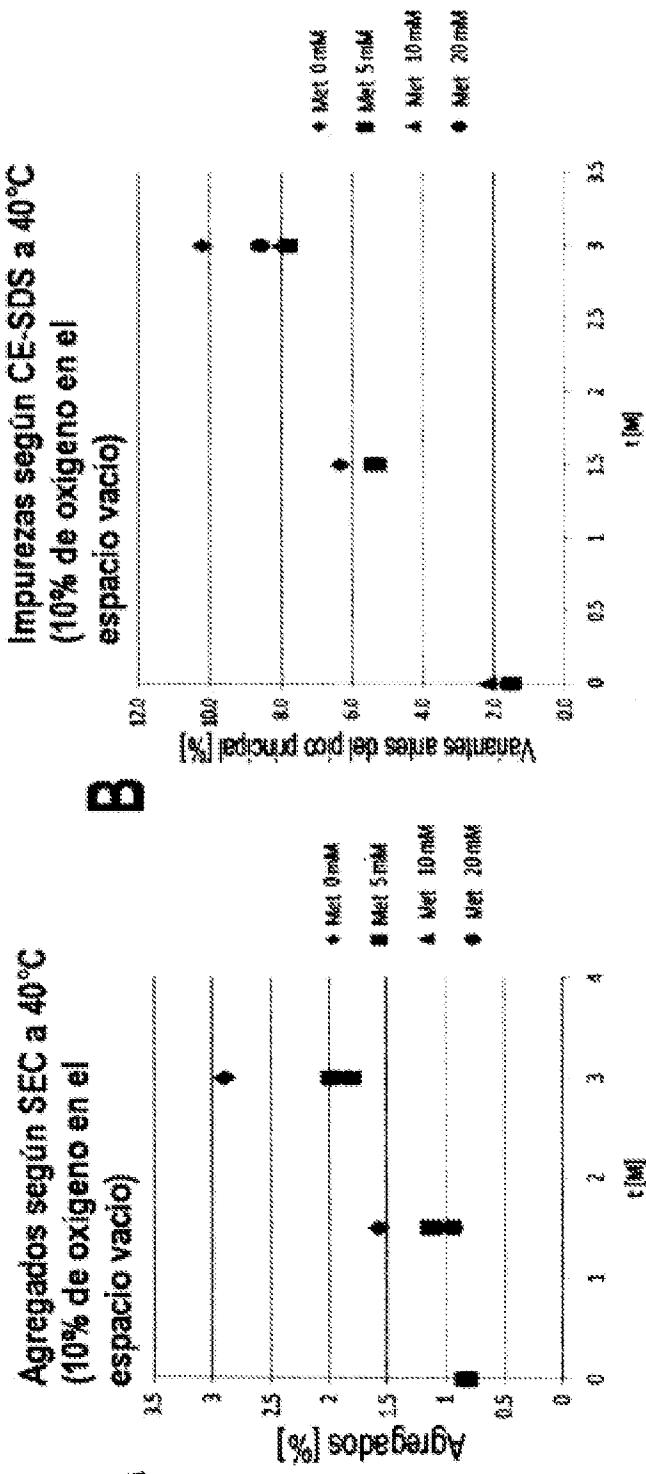
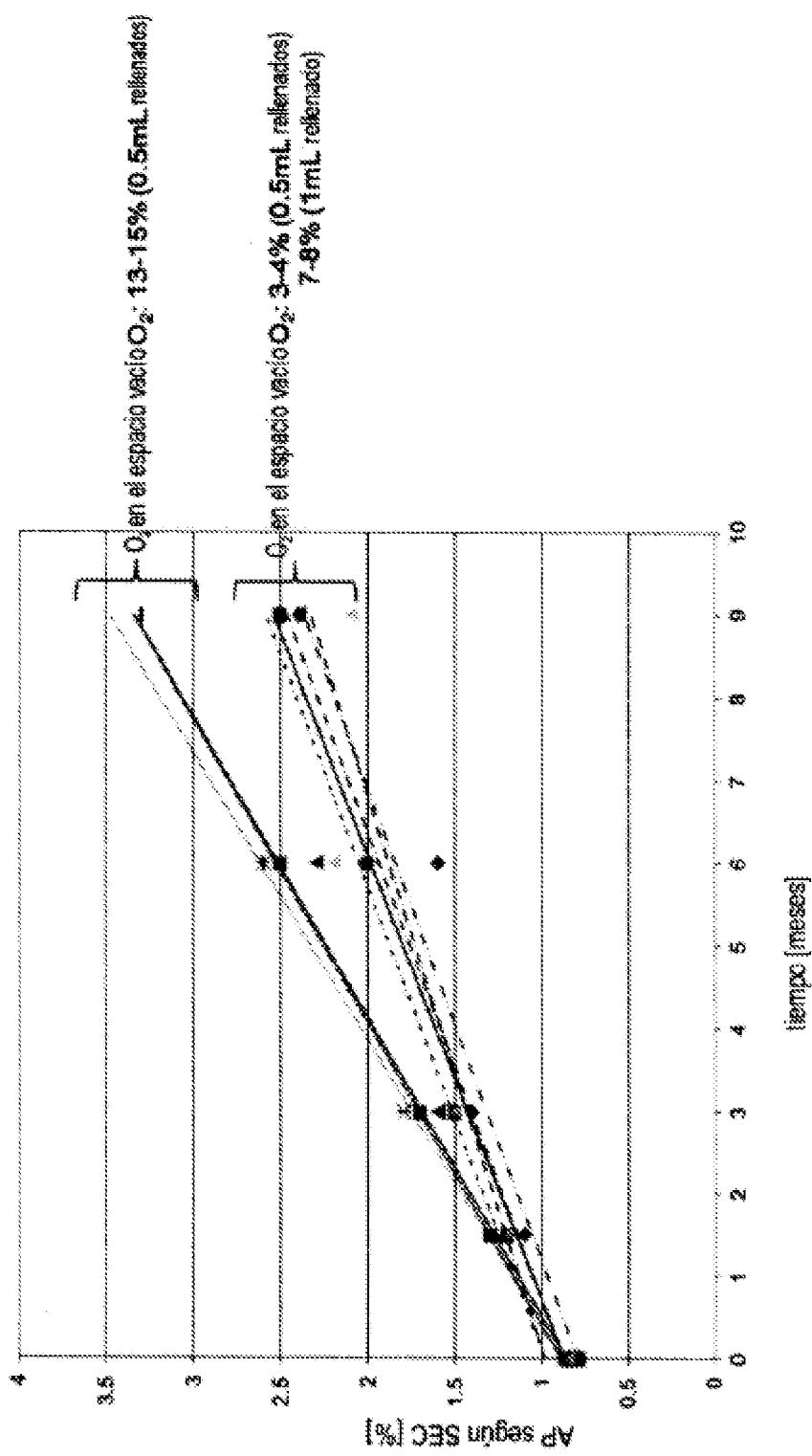
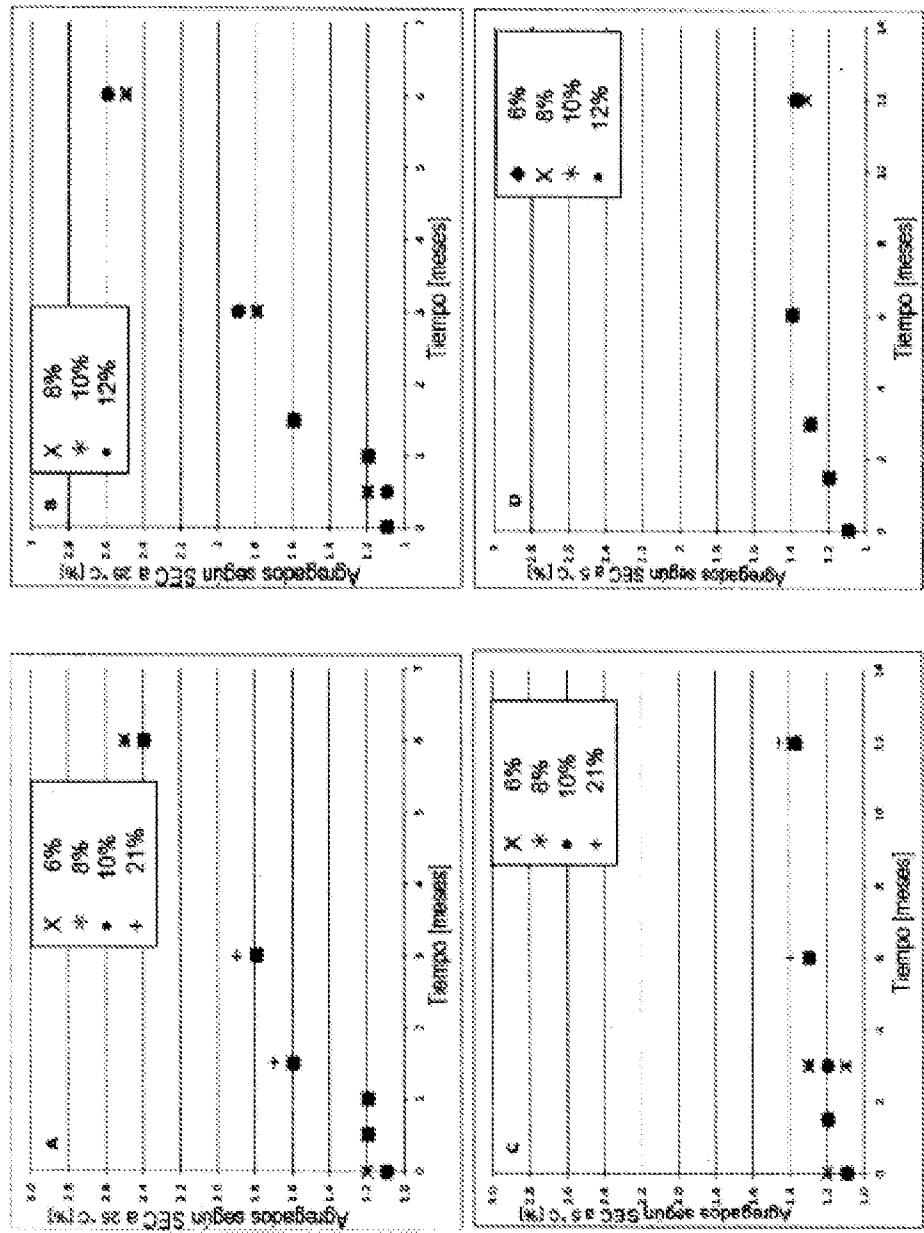


Fig. 7



ES 2 976 305 T3

Fig. 8



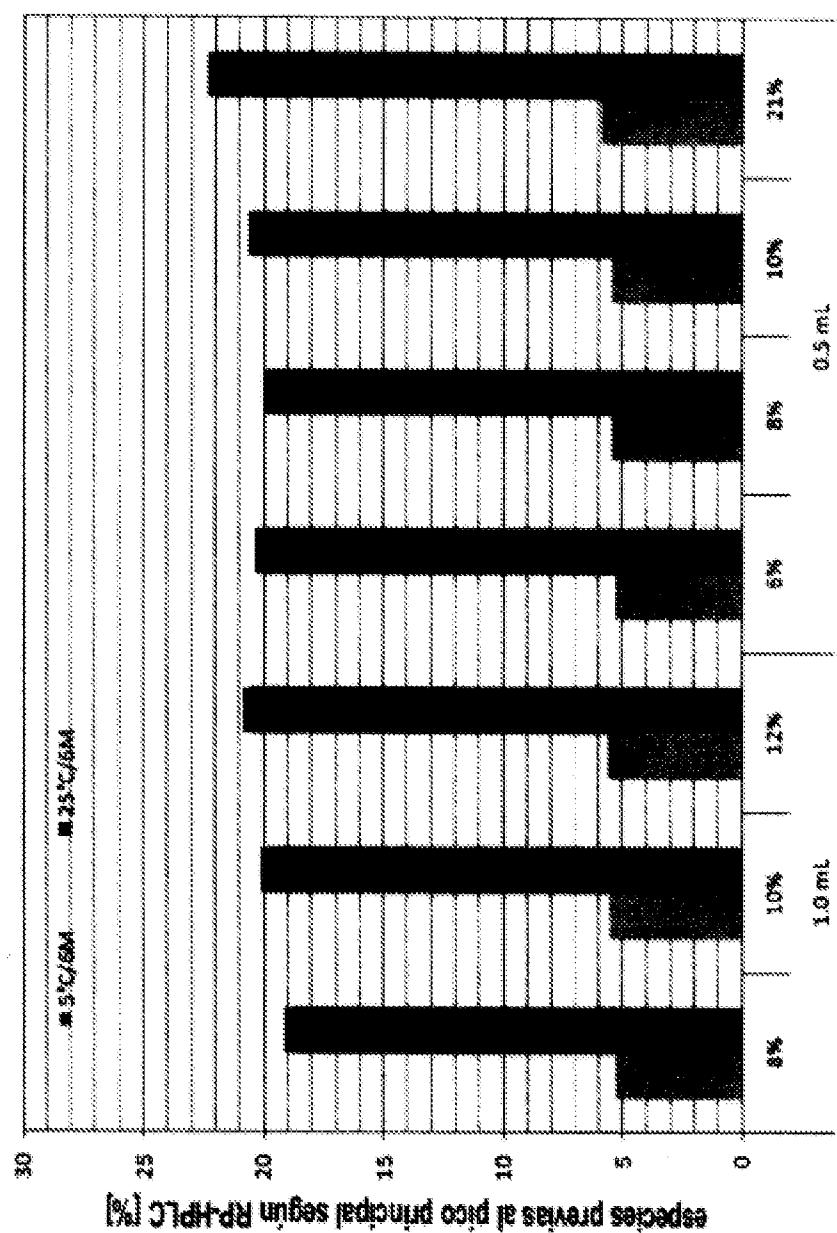


Fig. 9

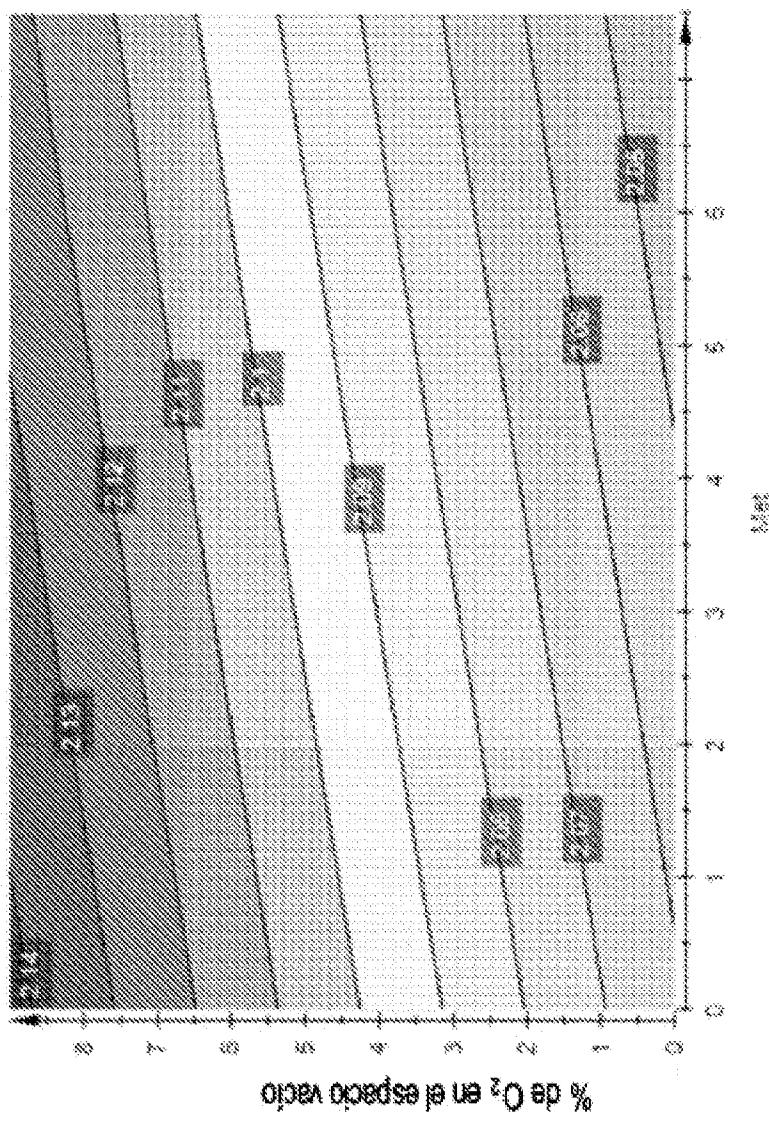


Fig. 10

ES 2 976 305 T3

Fig. 11

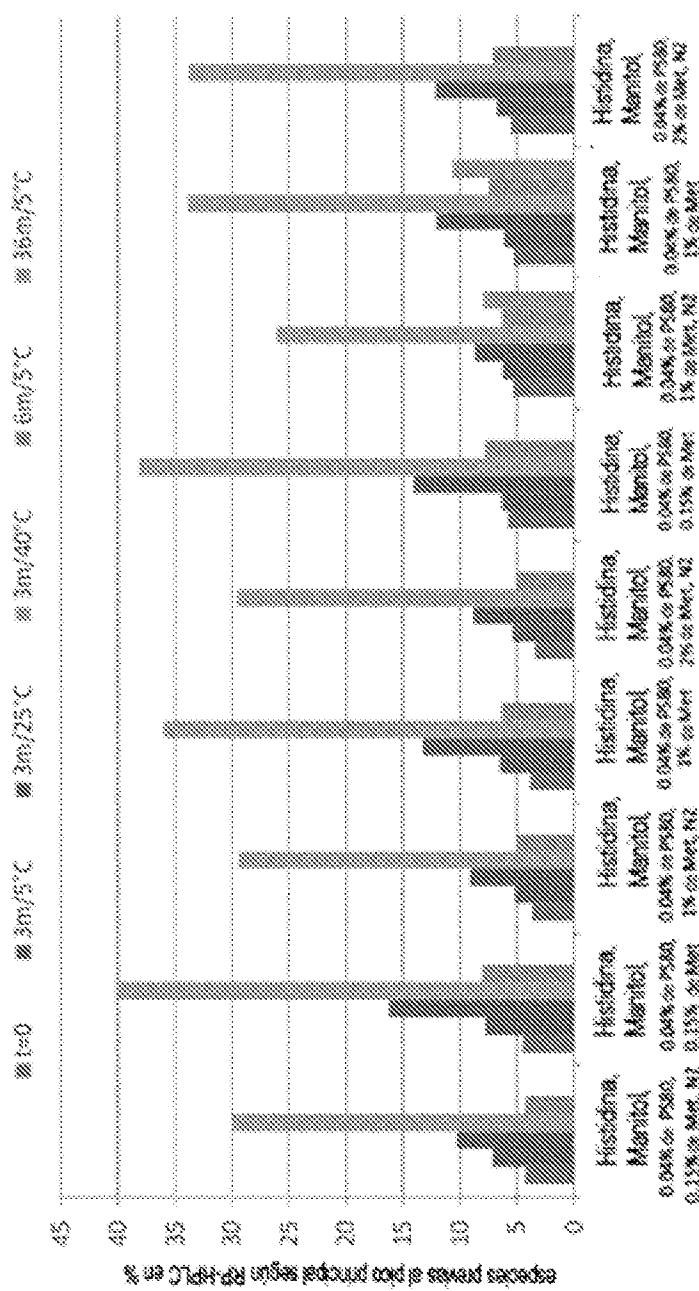


Fig. 12

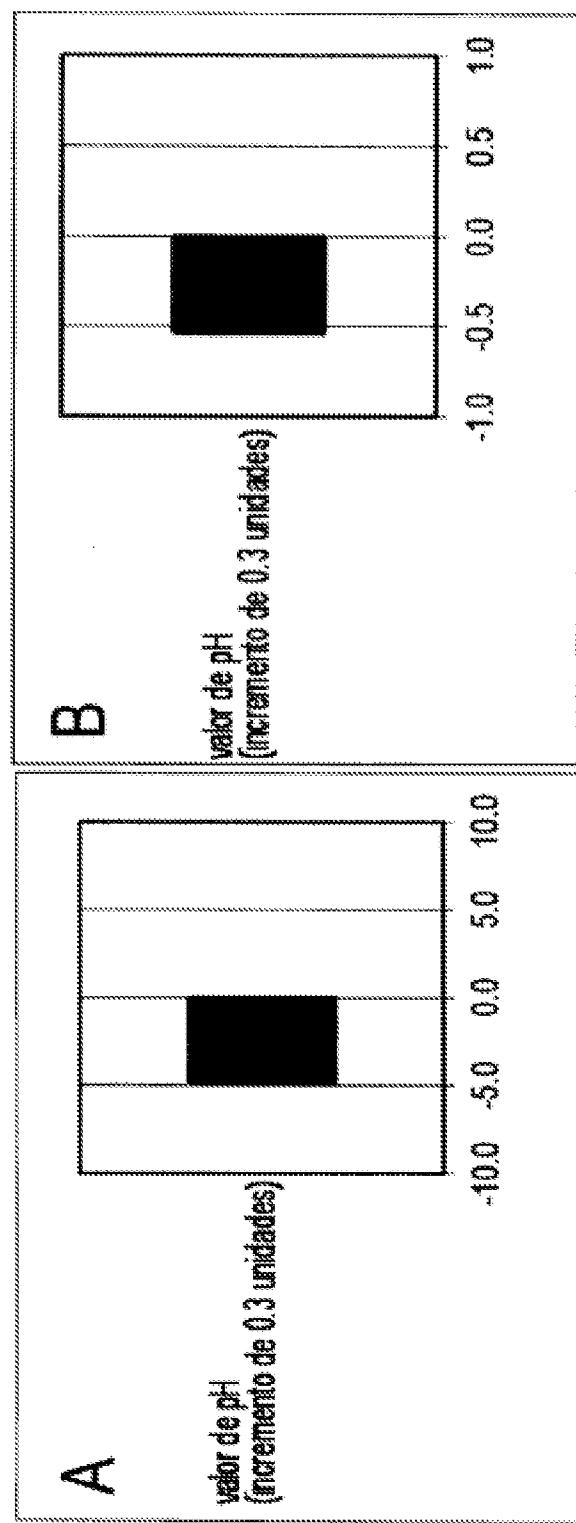


Fig. 13

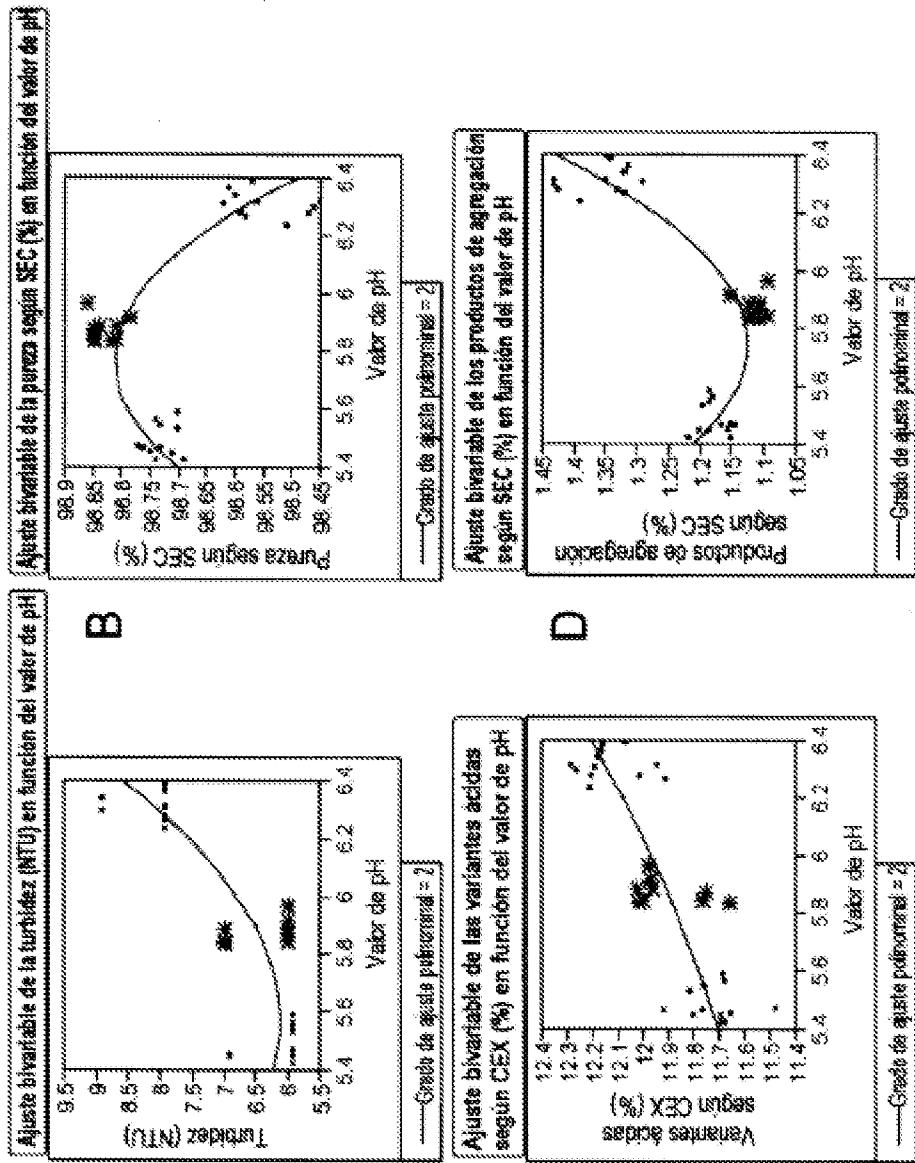
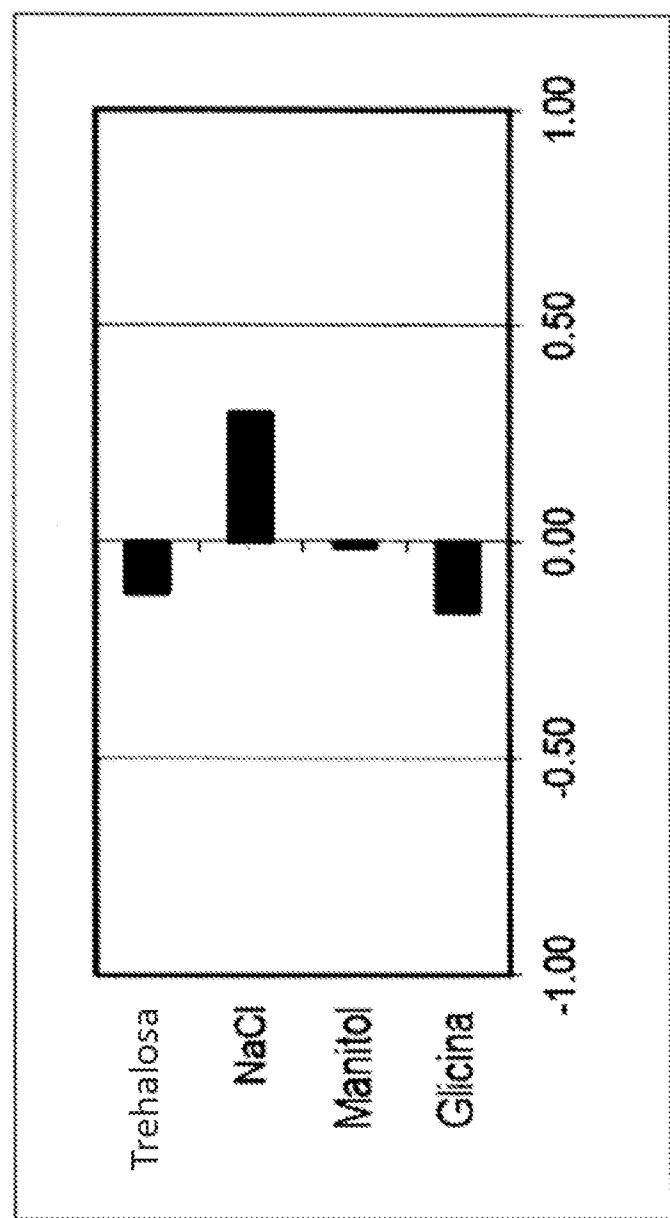


Fig. 14



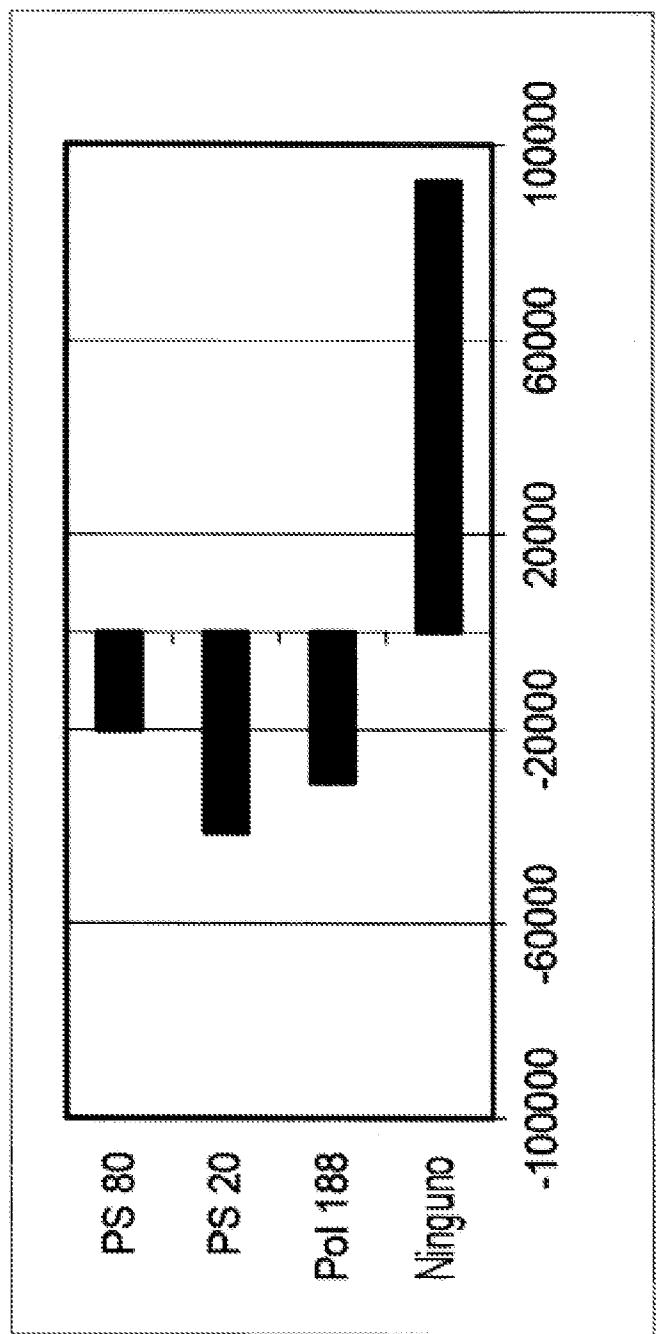


Fig. 15

Fig. 16

