

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 882 135**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2011** **E 18188992 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.04.2021** **EP 3427752**

54 Título: **Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-NGF**

30 Prioridad:

14.07.2010 US 36411210 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.12.2021

73 Titular/es:

**REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
777 Old Saw Mill River Road
Tarrytown, NY 10591, US**

72 Inventor/es:

**WALSH, SCOTT;
POTOCKY, TERRA;
DIX, DANIEL y
SIVENDRAN, RENUKA**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

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

ES 2 882 135 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

Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-NGF

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de formulaciones de anticuerpos terapéuticos. Más específicamente, la presente invención se refiere al campo de formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente al factor de crecimiento de nervios (NGF) humano.

10 **Antecedentes**

Las macromoléculas terapéuticas (por ejemplo, anticuerpos) deben formularse de una manera que no solamente haga que las moléculas sean adecuadas para su administración a pacientes, sino que también mantengan su estabilidad durante el almacenamiento. Por ejemplo, los anticuerpos terapéuticos en solución líquida son propensos a degradación, agregación y/o a modificaciones químicas indeseadas salvo que la solución se formule apropiadamente. La estabilidad de un anticuerpo en formulación líquida depende no solamente de los tipos de excipientes usados en la formulación, sino también de las cantidad y proporciones de los excipientes unos respecto a otros. Además, deben tenerse en cuenta otras consideraciones aparte de la estabilidad cuando se prepara una formulación líquida de anticuerpos. Los ejemplos de dichas consideraciones adicionales incluyen la viscosidad de la solución y la concentración de anticuerpo que puede acomodarse por una formulación dada. Por tanto, cuando se formula un anticuerpo terapéutico, debe tenerse gran cuidado en llegar a una formulación que permanezca estable, contenga una concentración adecuada de anticuerpo y posea una viscosidad adecuada, así como otras propiedades que posibiliten que la formulación se administre convenientemente a los pacientes.

Los anticuerpos contra el factor de crecimiento de nervios humano (hNGF) son un ejemplo de una macromolécula terapéuticamente relevante que requiere formulación apropiada. Los anticuerpos anti-NGF son clínicamente útiles para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades tales como osteoartritis, ciática y otras afecciones tales como dolor inflamatorio, dolor neuropático y dolor oncológico.

Aunque se conocen los anticuerpos anti-NGF, sigue existiendo una necesidad en la técnica de formulaciones farmacéuticas novedosas que comprendan anticuerpos anti-hNGF, que sean suficientemente estables y también adecuadas para su administración a pacientes.

El documento WO 2006/044908 describe formulaciones de anticuerpos, incluyendo anticuerpos monoclonales formulados en tampón histidina-acetato, así como una formulación que comprende un anticuerpo que se une al dominio II de HER2 (por ejemplo, Pertuzumab), y una formulación que comprende un anticuerpo que se une a DR5 (por ejemplo, Apomab). El documento WO 2006/138181 divulga formulaciones de proteína autotamponantes. Particularmente, las formulaciones farmacéuticas de proteína autotamponantes que son adecuadas para uso veterinario y médico humano. El documento WO 98/56418 divulga una formulación farmacéutica acuosa estable que comprende una cantidad terapéutica eficaz de un anticuerpo no sometido a liofilización previa, un tampón que mantiene el pH en el intervalo de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,0, un tensioactivo y un poliol, junto con usos de dicha formulación. El documento WO 2009/023540 divulga un anticuerpo humano o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que se une específicamente al factor de crecimiento de nervios (NGF) humano con una KD de 5 pM o menos, que no reacciona de forma cruzada con neurotrofina-3 (NT-3), y se une a NGF humano con una KD de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 veces mayor que con la que el anticuerpo o fragmento se une a NGF de rata o de ratón.

50 **Breve resumen de la invención**

La presente invención satisface la necesidad mencionada anteriormente proporcionando formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente al factor de crecimiento de nervios humano (hNGF). Específicamente, la invención proporciona una formulación farmacéutica, que comprende: (i) de 0,2 a 75 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente al factor de crecimiento de nervios humano (hNGF); (ii) un 0,05 % de polisorbato 20; (iii) un 8 % de sacarosa; y (iv) acetato 10 mM, en la que: el anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20 y una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región constante de cadena ligera; la formulación almacenada, después de seis meses a 5 °C, mantiene la estabilidad de modo que un 97 % o más del anticuerpo se mantiene en su forma nativa según se detecta por cromatografía de líquidos de alto rendimiento por exclusión de tamaño; y el pH de la formulación es 5,0.

Las formulaciones de la divulgación pueden comprender excipientes además del anticuerpo anti-hNGF. Por ejemplo, en determinados casos, la formulación puede comprender (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a

- hNGF; (ii) un tensioactivo no iónico; y (iii) al menos un carbohidrato. El tensioactivo no iónico puede seleccionarse del grupo que consiste en polisorbato 20, polisorbato 80, monooleato de polioxietilen sorbitán y polietilenglicol. En la formulación de la invención, el tensioactivo no iónico es polisorbato 20. El carbohidrato puede ser un azúcar tal como, por ejemplo, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, lactosa o trehalosa. En la formulación de la invención, el azúcar es sacarosa.
- En un aspecto de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende (i) de aproximadamente 0,1 a 100 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF; (ii) de aproximadamente un 0,01 a un 1,0 % de polisorbato 20; y (iii) de aproximadamente un 1 a un 20 % de sacarosa.
- En un aspecto de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende (i) de aproximadamente 0,2 a 75 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF; (ii) de aproximadamente un 0,02 a un 0,5 % de polisorbato 20; y (iii) de aproximadamente un 5 a un 10 % de sacarosa.
- En un aspecto de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende (i) de aproximadamente 0,6 a 60 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF; (ii) aproximadamente un 0,05 % de polisorbato 20; y (iii) aproximadamente un 8 % de sacarosa.
- En determinados aspectos de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende además acetato de aproximadamente 1,0 mM a aproximadamente 50 mM.
- En un aspecto de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende (i) de aproximadamente 1 a 100 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF; (ii) de aproximadamente un 0,01 a un 1,0 % de polisorbato 20; y (iii) de aproximadamente un 1 a un 20 % de sacarosa. En determinados aspectos de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende además acetato de aproximadamente 1,0 mM a aproximadamente 50 mM.
- En un aspecto de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) de aproximadamente 5 a 75 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF; (ii) de aproximadamente un 0,02 a un 0,5 % de polisorbato 20; (iii) de aproximadamente un 5 a un 10 % de sacarosa; y (iv) acetato de aproximadamente 5 a 20 mM.
- En un aspecto de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) aproximadamente 6-60 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF; (ii) aproximadamente un 0,05 % de polisorbato 20; (iii) aproximadamente un 8 % de sacarosa; y (iv) acetato aproximadamente 10 mM.
- En determinados aspectos, la formulación también puede contener al menos un aminoácido, por ejemplo, histidina o arginina. En determinados aspectos, la concentración de histidina o arginina puede variar de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 100 mM.
- De acuerdo con determinados aspectos de la divulgación, la formulación se prepara en un tampón que puede mantener un pH que varía de aproximadamente pH 4,5 a aproximadamente pH 5,6, por ejemplo, un tampón acetato.
- En determinados aspectos, la formulación farmacéutica muestra una viscosidad de menos de aproximadamente 15 cPoise o menos de aproximadamente 12 cPoise o menos de aproximadamente 9 cPoise.
- El anticuerpo contenido dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación puede ser cualquier anticuerpo, o una proteína de fusión o agente de bloqueo, que se une específicamente a hNGF. Los anticuerpos ejemplares que pueden estar contenidos dentro de las formulaciones son anticuerpos que comprenden una región variable de cadena pesada (HCVR) y una región variable de cadena ligera (LCVR), en el que la HCVR comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, una HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10; y en el que la LCVR comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14, una LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16 y una LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18.
- El anticuerpo contenido dentro de las formulaciones es un anticuerpo que comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22.
- En determinados aspectos de la divulgación, el anticuerpo contenido dentro de las formulaciones es un anticuerpo que comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12.
- En determinadas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse por vía intravenosa o por vía subcutánea a un paciente que lo necesita. En determinados aspectos de la divulgación, la formulación farmacéutica, como se describe en este documento, puede usarse en la preparación de un medicamento para el tratamiento, la

prevención y/o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de NGF o la activación de NGF. Las enfermedades y trastornos no limitantes ejemplares que pueden tratarse y/o prevenirse por la administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, dolor resultante de cualquier afección asociada con dolor neurógeno, neuropático o nocisensible. En determinadas realizaciones de dolor neuropático, se tratan las mencionadas neuralgia del trigémino, neuralgia posherpética, dolor del miembro fantasma, fibromialgia, algodistrofia y afecciones de dolor neurógeno. En otras realizaciones, se trata dolor oncológico, particularmente, dolor oncológico óseo, dolor por osteoartritis o artritis reumatoide, dolor lumbar, dolor por incisión posoperatoria, dolor por fractura, dolor por fractura osteoporótica, osteoporosis, dolor articular por gota, neuropatía diabética, ciática, dolores asociados con crisis drepanocíticas, migraña y otros dolores neuropáticos y/o nocisensibles con las formulaciones de la invención.

Las formulaciones de anticuerpo de la presente invención pueden estar contenidas dentro de cualquier recipiente adecuado útil para almacenar formulaciones farmacéuticas. Los ejemplos de dichos recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, viales de vidrio o plástico, jeringas y cartuchos. El recipiente puede ser transparente u opaco (por ejemplo, de color ámbar). En ciertas realizaciones, los viales o jeringas se recubren con silicona, tal como dióxido de silicona. En determinadas realizaciones, el espacio vacío en los viales se llena con un gas inerte para desplazar cualquier cantidad de oxígeno presente que pueda tener un efecto adverso sobre la estabilidad del anticuerpo. Dicho gas inerte puede seleccionarse de nitrógeno o argón.

Las formulaciones farmacéuticas permanecen relativamente estables después de almacenamiento durante varios días, meses o años a una temperatura dada. Por ejemplo, en determinados aspectos ejemplares de la divulgación, se mantiene un alto porcentaje del anticuerpo (por ejemplo, un 90 %, 95 %, 96 % o más) en su forma nativa después de al menos 3, 6, 9 o más meses de almacenamiento. El porcentaje de la forma nativa del anticuerpo puede medirse, por ejemplo, por SE-HPLC o por cualquier otro método conocido en la técnica. La temperatura de almacenamiento a la que se mantiene la estabilidad del anticuerpo puede ser, por ejemplo, -80 °C, -40 °C, -30 °C, -20 °C, 0 °C, 5 °C, 25 °C, 37 °C, 45 °C o mayor.

Otras realizaciones de la presente invención llegarán a ser evidentes a partir de una revisión de la consiguiente descripción detallada.

Descripción detallada

Antes de describir la presente invención, debe entender que esta invención no está limitada a los métodos ni a las condiciones experimentales descritas en particular, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También tiene que entenderse que la terminología usada en este documento con el fin de describir realizaciones particulares únicamente, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención se limitará únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

Salvo que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comprendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece esta invención. Como se usa en este documento, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar del valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, como se usa en este documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en este documento en la práctica o ensayo de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

Antes de describir la presente invención, tiene que entenderse que esta invención no está limitada a métodos y condiciones experimentales particulares descritos, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en este documento es con el fin de describir realizaciones particulares únicamente, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención se limitará únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

Salvo que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comprendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece esta invención. Como se usa en este documento, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar del valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, como se usan en este documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en este documento en la práctica o ensayo de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

Formulaciones farmacéuticas

Como se usa en este documento, la expresión "formulación farmacéutica" significa una combinación de al menos un

ingrediente activo (por ejemplo, una molécula pequeña, macromolécula, compuesto, etc. que es capaz de ejercer un efecto biológico en un ser humano o animal no humano) y al menos un ingrediente inactivo que, cuando se combina con el ingrediente activo y/o uno o más ingredientes inactivos adicionales, es adecuado para la administración terapéutica a un ser humano o animal no humano. El término "formulación", como se usan en este documento, significa "formulación farmacéutica" salvo que se indique específicamente de otro modo. La presente divulgación proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido terapéutico. Específicamente, en la formulación de la invención, el polipéptido terapéutico es un anticuerpo (como se define en las reivindicaciones) que se une específicamente al factor de crecimiento de nervios humano (hNGF). La presente divulgación incluye formulaciones farmacéuticas que comprenden: (i) un anticuerpo que se une específicamente a hNGF; (ii) un tensioactivo no iónico; y (iii) al menos un carbohidrato. Los componentes ejemplares específicos y formulaciones incluidos dentro de la presente invención se describen en detalle a continuación.

En determinados aspectos de la divulgación, el "tensioactivo" puede ser un tensioactivo no iónico que se selecciona del grupo que consiste en polisorbato 20, polisorbato 80, monooleato de polioxietilén sorbitán y polietilenglicol.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser, en determinadas realizaciones, formulaciones fluidas. Como se usa en este documento, la expresión "formulación fluida" significa una mezcla de al menos dos componentes que existen predominantemente en el estado fluido a aproximadamente 5 °C hasta aproximadamente 45 °C. Las formulaciones fluidas incluyen, entre otras cosas, formulaciones líquidas. Las formulaciones fluidas pueden ser de viscosidad baja, moderada o elevada dependiendo de sus constituyentes particulares.

Anticuerpos que se unen específicamente a hNGF

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un anticuerpo humano, como se define en las reivindicaciones, que se une específicamente a hNGF. Como se usa en este documento, el término "hNGF" significa un factor de crecimiento de nervios humano que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 2, que está codificada por la secuencia de ácido nucleico mostrada en la SEQ ID NO: 1.

El término "anticuerpo", como se usan en este documento, pretende hacer referencia en líneas generales a moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM); sin embargo, las moléculas de inmunoglobulina que consisten en únicamente cadenas pesadas (es decir, carecen de cadenas ligeras) también están incluidas dentro de la definición del término "anticuerpo". Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en este documento como HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, C_H1, C_H2 y C_H3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en este documento como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, llamadas regiones flanqueantes (FR). Cada V_H y V_L está compuesta de tres CDR y de cuatro FR, dispuestas del extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Salvo que se indique específicamente de otro modo, el término "anticuerpo", como se usan en este documento, debe entenderse abarcando moléculas de anticuerpo completas, así como fragmentos de unión a antígeno de las mismas. Las expresiones "parte de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo y similares, como se usan en este documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado por ingeniería genética que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Las expresiones "parte de unión a antígeno" de un anticuerpo o "fragmento de anticuerpo", como se usan en este documento, se refieren a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a hNGF.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en este documento, pretende hacer referencia a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a hNGF está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos diferentes de hNGF).

La expresión "se une específicamente", o similares, significa que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica puede caracterizarse por una constante de disociación de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M o mayor. Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmones superficiales y similares. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hNGF puede tener, sin embargo, reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas NGF de otras especies. En el contexto de la presente invención, los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) que se unen a hNGF, así como uno o más antígenos adicionales se considera que "se unen específicamente" a hNGF. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o agentes químicos.

Los anticuerpos anti-hNGF ejemplares que pueden incluirse en las formulaciones farmacéuticas se exponen en el documento US 20090041717.

- 5 De acuerdo con determinados aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-hNGF, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, una HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.
- 10 De acuerdo con determinados aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-hNGF, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14, una LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16 y una LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18.
- 15 En determinados aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-hNGF, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende los dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3, respectivamente, seleccionados del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 6 - 8 - 10 / SEQ ID NO: 14 - 16-18.
- 20 En determinados aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-hNGF, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 4 y 20. En determinados aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-hNGF, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 12 y 22. En determinados aspectos de la divulgación, el anticuerpo anti-hNGF, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un par de secuencia de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionadas del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4/12; y 20/22.

- El anticuerpo ejemplar no limitante, usado en los ejemplos de este documento se menciona como "mAb1". Este anticuerpo también se menciona en el documento US 20090041717 y como se describe en este documento,
- 30 comprende un par de secuencia de aminoácidos de HCVR/LCVR que tienen las SEQ ID NO: 20/22, y los dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3 representados por las SEQ ID NO: 6 - 8 - 10 / SEQ ID NO: 14 - 16 - 18.

- La cantidad de anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación puede variar dependiendo de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como las circunstancias particulares y fines para los que se pretenden las formulaciones a usar. En determinados aspectos, las formulaciones farmacéuticas pueden comprender de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 500 mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 500 mg/ml de anticuerpo; de 5 mg/ml a aproximadamente 400 mg/ml de anticuerpo; de 5 mg/ml a 200 mg/ml de anticuerpo; de 25 mg/ml a aproximadamente 180 mg/ml de anticuerpo; de 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo; o de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 180 mg/ml de anticuerpo. En determinados aspectos, las formulaciones farmacéuticas pueden comprender de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml de anticuerpo; de 0,2 mg/ml a aproximadamente 75 mg/ml de anticuerpo; de 0,6 mg/ml a aproximadamente 60 mg/ml de anticuerpo. Por ejemplo, las formulaciones pueden comprender aproximadamente 0,1 mg/ml; aproximadamente 0,2 mg/ml; aproximadamente 0,6 mg/ml; aproximadamente 1 mg/ml; aproximadamente 2 mg/ml; aproximadamente 5 mg/ml; aproximadamente 10 mg/ml; aproximadamente 15 mg/ml; aproximadamente 20 mg/ml; aproximadamente 25 mg/ml; aproximadamente 30 mg/ml; aproximadamente 35 mg/ml; aproximadamente 40 mg/ml; aproximadamente 45 mg/ml; aproximadamente 50 mg/ml; aproximadamente 55 mg/ml; aproximadamente 60 mg/ml; aproximadamente 65 mg/ml; aproximadamente 70 mg/ml; aproximadamente 75 mg/ml; aproximadamente 80 mg/ml; aproximadamente 85 mg/ml; aproximadamente 86 mg/ml; aproximadamente 87 mg/ml; aproximadamente 88 mg/ml; aproximadamente 89 mg/ml; aproximadamente 90 mg/ml; aproximadamente 95 mg/ml; aproximadamente 100 mg/ml; aproximadamente 105 mg/ml; aproximadamente 110 mg/ml; aproximadamente 115 mg/ml; aproximadamente 120 mg/ml; aproximadamente 125 mg/ml; aproximadamente 130 mg/ml; aproximadamente 131 mg/ml; aproximadamente 132 mg/ml; aproximadamente 133 mg/ml; aproximadamente 134 mg/ml; aproximadamente 135 mg/ml; aproximadamente 140 mg/ml; aproximadamente 145 mg/ml; aproximadamente 150 mg/ml; aproximadamente 155 mg/ml; aproximadamente 160 mg/ml; aproximadamente 165 mg/ml; aproximadamente 170 mg/ml; aproximadamente 175 mg/ml; aproximadamente 180 mg/ml; aproximadamente 185 mg/ml; aproximadamente 190 mg/ml; aproximadamente 195 mg/ml; o aproximadamente 200 mg/ml de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a hNGF.

60 **Excipientes y pH**

- Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención comprenden uno o más excipientes. El término "excipiente", como se usa en este documento, significa cualquier agente no terapéutico añadido a la formulación para proporcionar una consistencia, viscosidad o efecto estabilizante deseado.

En determinados aspectos de la divulgación, la formulación farmacéutica comprende un tampón adecuado para mantener un pH que varía de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 5,6. Un tampón ejemplar adecuado para su uso en las formulaciones incluye, por ejemplo, un tampón acetato. En las formulaciones de la invención, el tampón acetato se prepara a una concentración de 10 mM.

5

La cantidad de acetato contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación puede variar de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM; de aproximadamente 2 mM a aproximadamente 20 mM; de aproximadamente 3 mM a aproximadamente 12 mM; o aproximadamente 10 mM.

10 Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación también pueden comprender uno o más carbohidratos, por ejemplo, uno o más azúcares. El azúcar puede ser un azúcar reductor o un azúcar no reductor. Los "azúcares reductores" incluyen, por ejemplo, azúcares con un grupo cetona o aldehído y contienen un grupo hemiacetal reactivo, que permite que el azúcar actúe como agente reductor. Los ejemplos específicos de azúcares reductores incluyen fructosa, glucosa, gliceraldehído, lactosa, arabinosa, manosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa y maltosa. Los
15 azúcares no reductores puede comprender un carbono anómérico que es un acetal y no es sustancialmente reactivo con aminoácidos o polipéptidos para iniciar una reacción de Maillard. Los ejemplos específicos de azúcares no reductores incluyen sacarosa, trehalosa, sorbosa, sucralosa, sorbitol, melezitosa y rafinosa. Los ácidos de azúcar incluyen, por ejemplo, ácidos sacáricos, gluconato y otros polihidroxi azúcares y sales de los mismos.

20 La cantidad de azúcar contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación variará dependiendo de las circunstancias específicas y fines pretendidos para los que se usan las formulaciones. En determinados aspectos, las formulaciones pueden contener de aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 20 % de azúcar; de aproximadamente un 0,5 % a aproximadamente un 20 % de azúcar; de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 20 % de azúcar; de aproximadamente un 2 % a aproximadamente un 15 % de azúcar; de
25 aproximadamente un 3 % a aproximadamente un 10 % de azúcar; de aproximadamente un 4 % a aproximadamente un 10 % de azúcar; o de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 10 % de azúcar. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden comprender aproximadamente un 0,5 %; aproximadamente un 1,0 %; aproximadamente un 1,5 %; aproximadamente un 2,0 %; aproximadamente un 2,5 %; aproximadamente un 3,0 %; aproximadamente un 3,5 %; aproximadamente un 4,0 %; aproximadamente un 4,5 %; aproximadamente un 5,0 %;
30 aproximadamente un 5,5 %; aproximadamente un 6,0 %; 6,5 %; aproximadamente un 7,0 %; aproximadamente un 7,5 %; aproximadamente un 8,0 %; aproximadamente un 8,5 %; aproximadamente un 9,0 %; aproximadamente un 9,5 %; aproximadamente un 10,0 %; aproximadamente un 10,5 %; aproximadamente un 11,0 %; aproximadamente un 11,5 %; aproximadamente un 12,0 %; aproximadamente un 12,5 %; aproximadamente un 13,0 %; aproximadamente un 13,5 %; aproximadamente un 14,0 %; aproximadamente un 14,5 %; aproximadamente un
35 15,0 %; aproximadamente un 15,5 %; aproximadamente un 16,0 %; 16,5 %; aproximadamente un 17,0 %; aproximadamente un 17,5 %; aproximadamente un 18,0 %; aproximadamente un 18,5 %; aproximadamente un 19,0 %; aproximadamente un 19,5 %; o aproximadamente un 20,0 % de azúcar (por ejemplo, sacarosa).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación también pueden comprender uno o más tensioactivos.
40 Como se usa en este documento, el término "tensioactivo" significa una sustancia que reduce la tensión superficial de un fluido en que se disuelve y/o reduce la tensión interfacial entre aceite y agua. Los tensioactivos pueden ser iónicos o no iónicos. Los tensioactivos no iónicos ejemplares que pueden incluirse en las formulaciones de la presente divulgación incluyen, por ejemplo, poli(óxido de etileno) de alquilo, poliglucósidos de alquilo (por ejemplo, glucósido de octilo y maltósido de decilo), alcoholes grasos tales como alcohol cetílico y alcohol oleílico, cocamida MEA,
45 cocamide DEA y cocamide TEA. Los tensioactivos no iónicos específicos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, polisorbatos tales como polisorbato 20, polisorbato 28, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81 y polisorbato 85; poloxámeros tales como poloxámero 188, poloxámero 407; polietilen-polipropilenglicol; o polietilenglicol (PEG). El polisorbato 20 también es conocido como
50 TWEEN 20, monolaurato de sorbitán y monolaurato de polioxietilensorbitán.

La cantidad de tensioactivo contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación puede variar dependiendo de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como las circunstancias particulares y fines para los que se pretenden las formulaciones a usar. En determinados aspectos, las formulaciones pueden contener de aproximadamente un 0,01 % a aproximadamente un 10 % de tensioactivo; de aproximadamente un 0,05 % a aproximadamente un 5 % de tensioactivo; o de aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 1 % de tensioactivo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente divulgación pueden comprender aproximadamente un 0,01 %; aproximadamente un 0,02 %; aproximadamente un 0,03 %; aproximadamente un 0,04 %; aproximadamente un 0,05 %; aproximadamente un 0,06 %; aproximadamente un 0,07 %; aproximadamente un 0,08 %; aproximadamente un 0,09 %; aproximadamente un 0,10 %; aproximadamente un 0,11 %; aproximadamente un
60 0,12 %; aproximadamente un 0,13 %; aproximadamente un 0,14 %; aproximadamente un 0,15 %; aproximadamente un 0,16 %; aproximadamente un 0,17 %; aproximadamente un 0,18 %; aproximadamente un 0,19 %; aproximadamente un 0,20 %; aproximadamente un 0,21 %; aproximadamente un 0,22 %; aproximadamente un 0,23 %; aproximadamente un 0,24 %; aproximadamente un 0,25 %; aproximadamente un 0,26 %; aproximadamente un 0,27 %; aproximadamente un 0,28 %; aproximadamente un 0,29 %; o aproximadamente un 0,30 % de tensioactivo
65 (por ejemplo, polisorbato 20).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden tener un pH de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 6,0. Por ejemplo, las formulaciones de la presente divulgación pueden tener un pH de aproximadamente 4,2; aproximadamente 4,4; aproximadamente 4,6; aproximadamente 4,8; aproximadamente 5,0; aproximadamente 5,2; aproximadamente 5,4; aproximadamente 5,6; aproximadamente 5,8; o aproximadamente 6,0.

Formulaciones ejemplares

De acuerdo con un aspecto de la presente divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF (por ejemplo, mAb1); (ii) acetato; y (iii) un azúcar (por ejemplo, sacarosa).

Aspectos ejemplares no limitantes específicos de la divulgación se exponen en la tabla 1.

Tabla 1

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que contienen mAb1, acetato y sacarosa																
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	6	6	6	6	8	8	8	8

De acuerdo con otro aspecto de la presente divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF (por ejemplo, mAb1); (ii) acetato; (iii) un azúcar (por ejemplo, sacarosa); y (iv) un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 20). Aspectos ejemplares no limitantes específicos de la divulgación se exponen en las tablas 2A y 2B.

Tabla 2A

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, sacarosa y polisorbato 20													
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150	
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8	
polisorbato 20 (%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

Tabla 2B

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, sacarosa y polisorbato 20													
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150	
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8	
polisorbato 20 (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

De acuerdo con otro aspecto de la presente divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF (por ejemplo, mAb1); (ii) acetato; (iii) un azúcar (por ejemplo, sacarosa); (iv) un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 20); (v) un primer aminoácido (por ejemplo, histidina) y (v) un segundo aminoácido (por ejemplo, arginina). Aspectos ejemplares no limitantes específicos de la divulgación se exponen en las tablas 3A, 3B, 3C, 3D, 3E y 3F.

Tabla 3A

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina													
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150	
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
histidina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8	
polisorbato 20 (%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
arginina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Tabla 3B

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
histidina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
polisorbato 20 (%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
arginina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

Tabla 3C

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
polisorbato 20 (%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
arginina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Tabla 3D

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
polisorbato 20 (%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
arginina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

Tabla 3E

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

Tabla 3F

Formulaciones farmacéuticas ejemplares que comprenden mAb1, acetato, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
acetato (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

De acuerdo con determinados aspectos de la divulgación, la formulación de anticuerpo puede comprender un anticuerpo anti-hNGF a una concentración de aproximadamente 20 mg/ml en acetato aproximadamente 10 mM, más aproximadamente un 1,0 % de polietilenglicol 3350 (PEG 3350) y aproximadamente un 20 % de sacarosa a un pH de aproximadamente 5,0. En una realización, la formulación de anticuerpo se administra por vía intravenosa. En una realización, la formulación de anticuerpo se administra por vía subcutánea.

Ejemplos no limitantes adicionales de formulaciones farmacéuticas se exponen en otra parte en este documento, incluyendo los ejemplos de trabajo presentados a continuación.

Estabilidad y viscosidad de las formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación típicamente muestran altos niveles de estabilidad. El término "estable", como se usa en este documento en referencia a las formulaciones farmacéuticas, significa que los anticuerpos dentro de las formulaciones farmacéuticas retienen un grado aceptable de estructura y/o función y/o actividad biológica después de almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo. Una formulación puede ser estable aunque el anticuerpo contenido en la misma no mantenga un 100 % de su estructura y/o función y/o actividad biológica después de almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo. En determinadas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente un 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 % de la estructura y/o función y/o actividad biológica de un anticuerpo después de almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo puede considerarse como "estable".

La estabilidad puede medirse, entre otras cosas, determinando el porcentaje de anticuerpo nativo que permanece en la formulación después de almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo a una temperatura dada. El porcentaje de anticuerpo nativo puede determinarse por, entre otras cosas, cromatografía por exclusión de tamaño (por ejemplo, cromatografía de líquidos de alto rendimiento por exclusión de tamaño [SE-HPLC]). Un "grado aceptable de estabilidad", según se usa la expresión en este documento, significa que al menos un 90 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después de almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo a una temperatura dada. En determinados aspectos, al menos aproximadamente un 90 %, un 91 %, un 92 %, un 93 %, un 94 %, un 95 %, un 96 %, un 97 %, un 98 %, un 99 % o un 100 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después de almacenamiento durante una cantidad definida de tiempo a una temperatura dada. La cantidad definida de tiempo después de la que se mide la estabilidad puede ser de al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura a la que la formulación farmacéutica puede almacenarse cuando se valúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo, almacenamiento a aproximadamente -30 °C, a aproximadamente -20 °C, a aproximadamente 0 °C, a aproximadamente 5 °C, a aproximadamente 25 °C, a aproximadamente 37 °C o a aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 3 meses de almacenamiento a 5 °C, más de aproximadamente un 90 %, un 95 %, un 96 % o un 97 % del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, más de aproximadamente un 90 %, un 95 %, un 96 % o un 97 % del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de almacenamiento a 5 °C, más de aproximadamente un 90 %, un 95 %, un 96 % o un 97 % del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 3 meses de almacenamiento a 25 °C, más de aproximadamente un 90 %, un 95 %, un 96 % o un 97 % del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 25 °C, más de aproximadamente un 90 %, un 95 %, un 96 % o un 97 % del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 9 meses de almacenamiento a 25 °C, más de aproximadamente un 90 %, un 95 %, un 96 % o un 97 % del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC.

Pueden usarse otros métodos para evaluar la estabilidad de las formulaciones de la presente invención tal como, por ejemplo, calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar la estabilidad térmica, agitación controlada para determinar la estabilidad mecánica y absorbancia a aproximadamente 350 nm o a aproximadamente 405 nm para determinar la turbidez en solución. Por ejemplo, una formulación de la presente divulgación puede considerarse estable si, después de 6 o más meses de almacenamiento a aproximadamente 5 °C hasta aproximadamente 25 °C, el cambio en la DO₄₀₅ de la formulación es de menos de aproximadamente 0,05 (por ejemplo, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01 o menos) de la DO₄₀₅ de la formulación a t=0.

También puede evaluarse la estabilidad midiendo la actividad biológica y/o afinidad de unión del anticuerpo a su diana. Por ejemplo, una formulación puede considerarse estable si, después de almacenamiento a, por ejemplo, 5 °C, 25 °C, 37 °C, 45 °C, etc., durante una cantidad de definida de tiempo (por ejemplo, de 1 a 12 o 18 meses), el anticuerpo anti-hNGF contenido dentro de la formulación se une a hNGF con una afinidad que es al menos de un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 % o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento. Métodos adicionales para evaluar la estabilidad de un anticuerpo en formulación se demuestran en los ejemplos presentados a continuación.

En la forma fluida, las formulaciones farmacéuticas pueden mostrar, en determinados aspectos, niveles de bajos a moderados de viscosidad. "Viscosidad" como se usa en este documento puede ser "viscosidad cinemática" o "viscosidad absoluta". La "viscosidad cinemática" es una medida del flujo de resistencia de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos de volumen igual se colocan en viscosímetros capilares idénticos y se deja que fluyan por gravedad, un fluido viscoso tarda más que un fluido menos viscoso en fluir a través del capilar. Por ejemplo, si un fluido tarda 200 segundos en completar su flujo y otro fluido tarda 400 segundos, el segundo fluido es dos veces más viscoso que el primero en una escala de viscosidad cinemática. "Viscosidad absoluta", a veces llamada viscosidad dinámica o simple, es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido (viscosidad absoluta = viscosidad cinemática x densidad). La dimensión de la viscosidad cinemática es L²/T donde L es una longitud y T es un tiempo. Habitualmente, la viscosidad cinemática se expresa en centistokes (cSt). La unidad del SI de la viscosidad cinemática es mm²/s, que es 1 cSt. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad del SI de la viscosidad absoluta es el miliPascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s.

Como se usa en este documento, un nivel bajo de viscosidad, en referencia a una formulación fluida de la presente divulgación, mostrará una viscosidad absoluta de menos de aproximadamente 20 cPoise (cP). Por ejemplo, una formulación fluida de la divulgación se considerará que tiene "baja viscosidad" si, cuando se mide usando técnicas de medición de viscosidad convencionales, la formulación muestra una viscosidad absoluta de aproximadamente 19 cP, de aproximadamente 18 cP, de aproximadamente 17 cP, de aproximadamente 16 cP, de aproximadamente 15 cP, de aproximadamente 14 cP, de aproximadamente 13 cP, de aproximadamente 12 cP, de aproximadamente 11 cP, de aproximadamente 10 cP, de aproximadamente 9 cP, de aproximadamente 8 cP, de aproximadamente 7 cP, de aproximadamente 6 cP, de aproximadamente 5 cP, de aproximadamente 4 cP o menos. Como se usa en este documento, un nivel moderado de viscosidad, en referencia a una formulación fluida de la presente divulgación, mostrará una viscosidad absoluta entre aproximadamente 30 cP y aproximadamente 20 cP. Por ejemplo, una formulación fluida de la divulgación se considerará que tiene "viscosidad moderada", si cuando se mide usando técnicas de medición de viscosidad convencionales, la formulación muestra una viscosidad absoluta de aproximadamente 30 cP, de aproximadamente 29 cP, de aproximadamente 28 cP, de aproximadamente 27 cP, de aproximadamente 26 cP, de aproximadamente 25 cP, de aproximadamente 24 cP, de aproximadamente 23 cP, de aproximadamente 22 cP, de aproximadamente 21 cP o de aproximadamente 20 cP.

Como se ilustra en el ejemplo 5 a continuación, los autores de la presente invención han hecho el sorprendente descubrimiento de que formulaciones fluidas de viscosidad baja a moderada que comprenden altas concentraciones de un anticuerpo anti-hNGF (por ejemplo, de hasta al menos 125 a 150 mg/ml) pueden obtenerse formulando el anticuerpo con histidina 25 mM y arginina de 25 mM a 100 mM. Además, se descubrió además que la viscosidad de la formulación podría disminuirse hasta un grado incluso mayor reduciendo el contenido de sacarosa.

Recipientes para las formulaciones farmacéuticas y métodos de administración

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar contenidas dentro de un recipiente adecuado para almacenamiento de medicinas u otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de un recipiente de plástico o de vidrio precintado y esterilizado que tenga un volumen definido tal como un vial, ampolla, jeringa, cartucho o frasco. Pueden usarse diferentes tipos de viales para contener las formulaciones de la presente invención incluyendo, por ejemplo, viales de vidrio o plástico transparentes y opacos (por ejemplo, ámbar). Asimismo, puede usarse cualquier tipo de jeringa para contener y/o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. La formulación farmacéutica dentro del recipiente puede tratarse usando cualquier método conocido en la técnica para eliminar el oxígeno para mejorar la estabilidad del anticuerpo si fuera necesario. El oxígeno en el espacio vacío (el espacio gaseoso por encima de un líquido en un recipiente cerrado) puede remplazarse por un gas inerte, tal como nitrógeno o argón.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar contenidas dentro de jeringas "de tungsteno normal" o jeringas de "bajo contenido de tungsteno". Como apreciarán los expertos en la materia, el proceso de

fabricación de jeringas de vidrio generalmente implica el uso de una varilla de tungsteno caliente que funciona perforando el vidrio creando de ese modo un orificio desde el que puede extraerse líquidos y expulsarse desde la jeringa. Este proceso provoca que se depositen cantidades mínimas de tungsteno sobre la superficie interior de la jeringa. El lavado posterior y otras etapas de procesamiento pueden usarse para reducir la cantidad de tungsteno en la jeringa. Como se usa en este documento, la expresión "tungsteno normal" significa que la jeringa contiene más de 500 partes por billón (ppmm) de tungsteno. La expresión "bajo contenido de tungsteno" significa que la jeringa contiene menos de 500 ppmm de tungsteno. Por ejemplo, una jeringa de bajo contenido de tungsteno, de acuerdo con la presente invención, puede contener menos de aproximadamente 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 o menos ppmm de tungsteno.

Los émbolos de caucho usados en las jeringas, y los tapones de caucho usados para cerrar las aberturas de los viales, pueden recubrirse para prevenir la contaminación de los contenidos medicinales de la jeringa o el vial y/o para conservar su estabilidad. Por tanto, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, de acuerdo con determinadas realizaciones, pueden estar contenidas dentro de una jeringa que comprende un émbolo recubierto o dentro de un vial que está precintado con un tapón de caucho recubierto. Por ejemplo, el émbolo o tapón puede recubrirse con una película de fluorocarbono. Los ejemplos de tapones y/o émbolos recubiertos adecuados para su uso con viales y jeringas que contienen las formulaciones farmacéuticas de la presente invención se mencionan en, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos n.º 4.997.423; 5.908.686; 6.286.699; 6.645.635; y 7.226.554. Los tapones y émbolos de caucho recubiertos ejemplares particulares que pueden usarse en el contexto de la presente invención están disponibles en el mercado con la marca registrada "FluroTec®", disponible en West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA).

De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de una jeringa de bajo contenido de tungsteno que comprende un émbolo recubierto con fluorocarbono. Sin embargo, como se demuestra en la sección de ejemplos a continuación, el anticuerpo anti-NGF parece ser estable en cualquiera de las combinaciones de jeringa y émbolo ensayadas.

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente por vía parenteral tal como inyección (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o administración percutánea, a la mucosa, nasal, pulmonar y/u oral. Pueden usarse numerosos dispositivos de suministro de bolígrafo y/o autoinyector reutilizables para suministrar por vía subcutánea las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitación, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Inc., bolígrafo DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), bolígrafo HUMALOG MIX 75/25™, bolígrafo HUMALOG™, bolígrafo HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly y Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), bolígrafo BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solo algunos. Los ejemplos de dispositivos de suministro por bolígrafo y/o autoinyector desechables que tienen aplicaciones en suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, el bolígrafo SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), el FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y el KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PUSHCLICK™ (Scandinavian Health, Ltd. (SHL) Group), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.) y el HUMIRA™^P en (Abbott Labs, Abbott Park, IL), por nombrar solo algunos.

El uso de un microinfusor para suministrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también se contempla en este documento. Como se usa en este documento, el término "microinfusor" significa un dispositivo de suministro subcutáneo diseñado para administrar lentamente volúmenes grandes (por ejemplo, hasta aproximadamente 2,5 ml o más) de una formulación terapéutica durante un periodo prolongado de tiempo (por ejemplo, aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30 o más minutos). Véase, por ejemplo, el documento US 6.629.949; el documento US 6.659.982; y Meehan *et al.*, J. Controlled Release 46:107-116 (1996). Los microinfusores son particularmente útiles para el suministro de grandes dosis de proteínas terapéuticas contenidas dentro de soluciones de alta concentración (por ejemplo, aproximadamente 100, 125, 150, 175, 200 o más mg/ml) y/o viscosas.

Usos terapéuticos de las formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención son útiles, entre otras cosas, para el tratamiento, la prevención y/o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de NGF. Las enfermedades y trastornos no limitantes ejemplares que pueden tratarse y/o prevenirse por la administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, dolor resultante de cualquier afección asociada con dolor neurógeno, neuropático o nocisensible. En determinadas realizaciones de dolor neuropático, se tratan preferiblemente las mencionadas neuralgia del trigémino, neuralgia posherpética, dolor del miembro fantasma, fibromialgia, algodistrofia y afecciones de dolor neurógeno. En otras realizaciones, se trata preferiblemente dolor oncológico, particularmente, dolor oncológico óseo, dolor por osteoartritis o artritis reumatoide, dolor lumbar, dolor por incisión posoperatoria, dolor por fractura, dolor por fractura osteoporótica, osteoporosis, dolor articular por gota, neuropatía diabética, ciática, dolores asociados con crisis drepanocíticas, migraña y otros dolores neuropáticos y/o nocisensibles. Por tanto, la presente divulgación incluye métodos de tratamiento, prevención y/o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad NGF o la activación de NGF (incluyendo cualquiera de las enfermedades, trastornos y la

afecciones ejemplares mencionados anteriormente) mediante el uso de las formulaciones farmacéuticas de la invención. Los métodos terapéuticos comprenden administrar a un sujeto cualquier formulación que comprenda un anticuerpo anti-hNGF como se divulga en este documento. El sujeto al que se administra la formulación farmacéutica puede ser, por ejemplo, cualquier ser humano o animal no humano que necesite dicho tratamiento, la prevención y/o mejora, o que se beneficiaría de otro modo de la inhibición o atenuación de la actividad de NGF y/o actividad mediada por NGF. Por ejemplo, el sujeto puede ser un individuo que está diagnosticado con, o que se considera que está en riesgo de verse afectado por cualquiera de las enfermedades o trastornos mencionados anteriormente. La presente divulgación incluye además el uso de cualquiera de las formulaciones farmacéuticas divulgadas en este documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento, la prevención y/o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de NGF o la activación de NGF (incluyendo cualquiera de las enfermedades, trastornos y afecciones mencionados anteriormente).

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación completa y descripción de la manera en que preparar y usar los métodos y composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los autores de la invención consideran su invención. Se han hecho esfuerzos por asegurar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. Salvo que se indique de otro modo, las partes son partes en peso, la masa molecular es la masa molecular promedio, la temperatura es en grados Celsius y la presión es en o cerca de atmosférica.

Ejemplo 1. Estabilidad de un anticuerpo anti-factor de crecimiento de nervios (NGF) humano ("mAb1") completamente humano después de almacenamiento a bajas temperaturas

En este ejemplo, se crearon diversas formulaciones que contienen un anticuerpo anti-NGF humano sin excipientes. El anticuerpo ejemplar usado en este ejemplo y en todos los ejemplos posteriores expuestos a continuación es un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20 y una región variable de cadena ligera (LCVR) con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22. Este anticuerpo se menciona en este documento como "mAb1".

Como experimento preliminar, se determinó la estabilidad del mAb1 en solución líquida después de diversas cantidades de tiempo en almacenamiento congelado a -30 °C y a -80 °C. La concentración del mAb1 usada en este ejemplo fue 130 mg/ml. En diversos puntos temporales, se determinó la estabilidad del mAb1 por cromatografía de líquidos de alto rendimiento por exclusión de tamaño (SE-HPLC) y por cromatografía de líquidos de alto rendimiento por intercambio catiónico (CEX-HPLC). La estabilidad se evaluó basándose en el porcentaje de mAb1 nativo que permanecía en la muestra (por SE-HPLC; tabla 4) y por el porcentaje de especies ácidas observadas en la muestra (por CEX-HPLC; tabla 5). Un aumento en el porcentaje de especies ácidas es coherente con la desaminación del anticuerpo y, por tanto, se considera un fenómeno indeseado con respecto las formulaciones farmacéuticas de la presente invención.

Tabla 4

% de mAb nativo recuperado (SE-HPLC)		
	Temperatura de almacenamiento	
Tiempo (meses)	-80 °C	-30 °C
0	96,6	96,6
1	96,6	95,2
3	96,6	94,6
6	96,6	94,2
9	96,5	93,1
12	96,7	93,3

Tabla 5

% de especies ácidas (CEX-HPLC)		
	Temperatura de almacenamiento	
Tiempo (meses)	-80 °C	-30 °C
0	14,3	14,3
1	14,7	14,6
3	14,9	14,5
6	14,1	12,8
9	14,9	14,5
12	14,6	14,6

Estos resultados muestran que el mAb1 puede permanecer estable a una concentración de 130 mg/ml durante al menos 12 meses cuando se almacena a -80 °C.

Ejemplo 2. Estabilidad de formulaciones de mAb1 que contienen excipientes mínimos

Se prepararon seis formulaciones diferentes que contienen mAb1 a una concentración de 40 mg/ml con excipientes mínimos (como se muestra en la tabla 6, véase también el ejemplo 2) y se almacenaron a -20 °C o a -30 °C durante diversos periodos de tiempo. Todas las formulaciones contienen acetato 10 mM, pH 5,0. La tabla 7 (-30 °C) y la tabla 8 (-20 °C) muestran el porcentaje de mAb1 nativo restante en diversas formulaciones de excipientes mínimos, medido por SE-HPLC.

Tabla 6

Formulaciones de excipientes mínimos de mAb1		
Formulación	Excipiente	mAb1 (mg/ml)
1	polietilenglicol 3350 al 0,5 %	40
2	polietilenglicol 3350 al 1,0 %	40
3	sacarosa al 1 %	40
4	sacarosa al 2 %	40
5	sacarosa al 4 %	40
6	ninguno	40

Como se ha señalado anteriormente, las formulaciones se ensayaron para la estabilidad por SE-HPLC después de diversas cantidades de tiempo a -30 °C y a -20 °C. Los resultados, expresados en porcentaje de mAb1 nativo restante, se muestran en las tablas 7 (almacenamiento a -30 °C) y 8 (-20 °C).

Tabla 7

% de mAb1 nativo restante (SE-HPLC) después de almacenamiento a -30 °C						
Tiempo (meses)	Formulación n.º (véase la tabla 6)					
	1	2	3	4	5	6
0	98,3	98,1	98,0	97,9	98,1	98,0
1	98,0	98,1	98,0	98,0	98,0	97,0
3	97,8	97,9	98,0	98,0	97,9	96,0
6	98,2	98,4	98,5	98,4	98,4	95,9
9	98,2	98,3	98,5	98,5	98,8	95,1
12	98,2	98,4	98,4	98,4	98,5	95,7
18	97,7	98,2	98,1	98,1	98,4	94,5
24	97,9	98,1	98,3	98,5	98,5	94,5

Tabla 8

% de mAb1 nativo restante (SE-HPLC) después de almacenamiento a -20 °C						
Tiempo (meses)	Formulación n.º (véase la Tabla 6)					
	1	2	3	4	5	6
0	98,3	98,1	98,0	97,9	98,1	98,0
1	97,8	98,1	98,2	98,1	98,2	95,8
3	97,8	97,9	98,1	98,2	98,0	93,0
6	97,7	98,3	98,3	98,4	98,5	92,6
9	97,8	98,1	98,3	98,3	98,3	90,7
12	97,7	98,2	98,3	98,3	98,5	92,9
18	96,4	97,7	97,9	98,1	98,3	86,7
24	96,9	97,9	98,1	98,2	98,3	88,6

Como se muestra en este ejemplo, la estabilidad del mAb1 se mantuvo hasta un grado significativo en las formulaciones 1, 2, 3, 4 y 5 después de varios meses de almacenamiento a -20 °C y a -30 °C. Estos resultados indican que la estabilidad de mAb1 a -30 °C puede potenciarse por la adición de al menos un 1,0 % de sacarosa o al menos un 0,5 % de polietilenglicol 3350. Estos resultados indican además que la estabilidad de mAb1 a -20 °C puede potenciarse mediante la adición de al menos un 1,0 % de sacarosa o al menos un 1,0 % de polietilenglicol 3350.

Ejemplo 3. Formulación estabilizada de mAb1

Se preparó una formulación estabilizada que contenía diversas concentraciones de mAb1 para su uso en los ejemplos 4 y 5 a continuación. Esta formulación, denominada "Formulación A", se muestra en la tabla 9.

Tabla 9

Formulación "A" de mAb1 estabilizada	
Componente	Formulación A
mAb1	6 - 100 mg/ml
Acetato	10 mM
Polisorbato 20	0,05 %
Sacarosa	8 %
pH	5,0

Ejemplo 4. Estabilización de la formulación A después de almacenamiento a 5 °C

- 5 Se ensayó la formulación A (véase el ejemplo 3) que contiene 6, 20 o 100 mg/ml de mAb1 para la estabilidad después de varios meses de almacenamiento a 5 °C en viales de vidrio transparente. La estabilidad se evaluó por los siguientes parámetros: (a) aspecto visual; (b) turbidez (DO 405 nm); (c) pH; (d) porcentaje de mAb1 total recuperado medido por RP-HPLC; (e) porcentaje de mAb1 nativo recuperado (medido por SE-HPLC); (f) porcentaje de mAb1 del pico principal recuperado (medido por CEX-HPLC); y (g) porcentaje de mAb1 de especies ácidas recuperado (medido por CEX-HPLC). Los resultados de estabilidad para formulación A que contiene 6, 20 y 100 mg/ml de mAb1 se resumen en las
- 10 tablas 10, 11 y 12, respectivamente.

Tabla 10

Estabilización de la formulación A que contiene 6 mg/ml de mAb1 después de almacenamiento a 5 °C en viales de vidrio (0-12 meses)							
	Duración de almacenamiento a 5 °C (meses)						
Parámetro	0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,1	5,1	5,1	5,0	5,0	5,1	5,1
% de mAb1 total recuperado	100	96	101	99	102	107	107
% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)	98,8	98,6	98,7	98,9	98,5	98,8	98,7
% del pico principal de mAb1 recuperado (CEX-HPLC)	44,8	46,3	46,4	45,4	41,2	46,2	45,0
% de la especie ácida de mAb1 recuperada (CEX-HPLC)	16,6	16,5	17,4	17,7	15,2	15,9	16,5

Tabla 11

Estabilización de la formulación A que contiene 20 mg/ml de mAb1 después de almacenamiento a 5 °C en viales de vidrio (0-18 meses)								
	Duración de almacenamiento a 5 °C (meses)							
Parámetro	0	1	2	3	6	9	12	18
Aspecto visual	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,1	5,2	5,0	5,1	5,0	5,1	5,2	5,1
% de mAb1 total recuperado	100	96	99	100	100	104	101	102
% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)	99,0	98,4	98,5	98,4	98,6	98,2	98,6	98,2

(continuación)

Estabilización de la formulación A que contiene 20 mg/ml de mAb1 después de almacenamiento a 5 °C en viales de vidrio (0-18 meses)								
Duración de almacenamiento a 5 °C (meses)								
Parámetro	0	1	2	3	6	9	12	18
% del pico principal de mAb1 recuperado (CEX-HPLC)	44,0	44,0	44,1	43,8	44,3	43,8	44,9	43,6
% de la especie ácida de mAb1 recuperada (CEX-HPLC)	15,8	15,5	15,8	15,5	15,5	15,2	15,9	15,3

Tabla 12

Estabilización de la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 después de almacenamiento a 5 °C en viales de vidrio (0-18 meses)								
Duración de almacenamiento a 5 °C (meses)								
Parámetro	0	1	2	3	6	9	12	18
Aspecto visual	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado	Aprobado
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,0	5,1	5,0	5,1	5,0	5,1	5,0	5,2
% de mAb1 total recuperado	100	98	106	104	103	103	101	104
% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)	98,2	97,9	97,5	97,8	98,2	97,4	98,1	97,6
% del pico principal de mAb1 recuperado (CEX-HPLC)	41,3	40,9	39,2	39,0	39,5	39,7	42,0	40,4
% de la especie ácida de mAb1 recuperada (CEX-HPLC)	14,8	14,9	13,7	14,0	14,0	13,4	13,8	14,0

- 5 Los resultados de este ejemplo demuestran que la formulación A que contiene 6 mg/ml de mAb1 permanecía estable durante al menos 12 meses de almacenamiento, a 5 °C en viales de vidrio transparentes, con aproximadamente un 98,7 % o más de mAb1 nativo recuperado en las muestras después de 12 meses de almacenamiento en dichas condiciones. Los resultados de este ejemplo demuestran además que la formulación A que contiene 20 mg/ml de mAb1 permanecía estable durante al menos 18 meses de almacenamiento, a 5 °C en viales de vidrio transparentes, con aproximadamente un 98,2 % de mAb1 nativo recuperado en las muestras después de 18 meses de almacenamiento en dichas condiciones. Además, la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 permaneció estable durante al menos 18 meses de almacenamiento, a 5 °C en viales de vidrio transparentes, con aproximadamente un 97,6 % de mAb1 nativo recuperado en las muestras después de 18 meses de almacenamiento en dichas condiciones. Además, el porcentaje de especies ácidas no cambió significativamente desde tiempo 0 después de 12 o 18 meses de almacenamiento en las condiciones ensayadas, confirmando la estabilidad de las formulaciones.

Ejemplo 5. Efecto de concentraciones de arginina, histidina y sacarosa sobre la viscosidad y la estabilidad de formulaciones que contienen mAb1

Se prepararon varias formulaciones que contenían 100 mg/ml, 125 mg/ml y 150 mg/ml de mAb1 y diversas cantidades de histidina, arginina y sacarosa. Se midió la viscosidad y la osmolalidad para cada formulación a 25 °C. Los resultados se resumen en la tabla 13.

Tabla 13

Efecto de concentraciones de arginina, histidina y sacarosa sobre la viscosidad de las formulaciones de mAb1 (todas las formulaciones contienen acetato 10 mM, pH 5,0, y un 0,2 % de polisorbato 20)					
mAb1 (mg/ml)	[Histidina] (mM)	[Arginina] (mM)	[Sacarosa] (%)	Viscosidad (cPoise)	Osmolalidad (mOsm)
100	0	0	10	~ 13,5	440
100	0	25	10	~ 9	510
100	25	0	10	~ 9	510
100	0	25	5	~ 7	270
100	0	50	10	~ 7	560
125	0	0	5	~ 20	~ 250
125	0	25	5	~ 11	290
125	25	0	5	~ 12	280
125	0	50	5	~ 9	340
125	25	25	5	~ 9	330
125	0	0	2	~ 16	150
150	0	0	5	~ 41	300
150	25	25	5	~ 19	360
150	25	25	2	~ 15	310
150	0	75	5	~ 14	450
150	0	100	5	~ 11	510

Los resultados presentados en la tabla 13 indican que añadir histidina o arginina a una concentración de 25 mM a mAb1 (a una concentración de 100 mg/ml), reducía significativamente la viscosidad de la formulación en comparación con una formulación de anticuerpo que no contiene histidina y no contiene arginina. Además, añadir arginina a 25 mM a mAb1 (a una concentración de 100 mg/ml), reduciendo al mismo tiempo la concentración de sacarosa de un 10 % a un 5 %, provocó una reducción adicional en la viscosidad. Cuando la concentración de anticuerpo mAb1 se elevó hasta 125 mg/ml, tanto la histidina como la arginina a 25 mM provocaron una reducción significativa en la viscosidad cuando se usaba en solitario o conjuntamente. Además, reducir la concentración de sacarosa de un 5 % a un 2 % con la histidina y arginina añadidas disminuyó la viscosidad de la formulación hasta un grado incluso mayor. Cuando la concentración de mAb1 se aumentó hasta 150 mg/ml, una combinación de histidina y arginina, cada una a 25 mM, provocó una reducción significativa en la viscosidad. Reducir la sacarosa de un 5 % a un 2 % provocó una disminución adicional en la viscosidad.

Basándose en al menos en parte en lo anterior, se preparó la siguiente "Formulación B" como se expone en la tabla 14.

Tabla 14

Componente	Formulación B
mAb1	20 - 100 mg/ml
Acetato	10 mM
Polisorbato 20	0,05 %
Sacarosa	8 %
Arginina	25 mM
pH	5,0

Ejemplo 6. Estabilidad de la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 cuando se fabrica en un vial y jeringas

La formulación A (véase la Tabla 9) que contiene 100 mg/ml de mAb1 se preparó en un vial de vidrio de 2 ml y en dos jeringas diferentes: normal y de bajo contenido en tungsteno. Las preparaciones se almacenaron a 5, 25 y 37 °C durante varios meses de tiempo. La estabilidad de mAb1 después de almacenamiento se midió por SE-HPLC y CEX-HPLC. Los resultados se muestran en la tabla 15. (Un aumento en el porcentaje de especies ácidas es coherente con la desaminación del anticuerpo y, por tanto, se considera un fenómeno indeseado con respecto las formulaciones farmacéuticas de la presente invención). Como se muestra en esta tabla, la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1, almacenada a 5 °C en un vial o jeringa de vidrio, permanecía relativamente estable durante al menos 18 meses, y era ligeramente menos estable a 25 °C o 37 °C en los momentos posteriores ensayados.

Tabla 15

Estabilidad de la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 en vial y jeringa							
		Vial de vidrio de 2 ml		Jeringa normal		Jeringa de bajo contenido en tungsteno	
Temp	Tiempo	% nativo (SE-HPLC)	% ácido (CEX-HPLC)	% nativo (SE-HPLC)	% ácido (CEX-HPLC)	% nativo (SE-HPLC)	% ácido (CEX-HPLC)
-	Inicio	98,2	14,4	98,2	14,1	98,2	14,3
37 °C	7 días	97,6	13,9	97,6	14,0	97,8	13,9
37 °C	14 días	97,2	14,7	97,3	14,6	97,3	14,7
37 °C	28 días	96,7	15,7	96,6	15,5	96,5	15,5
25 °C	1 mes	97,7	13,1	97,5	13,5	97,9	13,3
25 °C	3 meses	97,3	14,9	97,2	14,9	97,1	14,8
25 °C	6 meses	96,9	17,4	97,1	16,9	96,7	17,4
5 °C	1 mes	97,9	14,8	98,1	13,7	98,0	14,0
5 °C	3 meses	97,8	13,7	97,6	13,9	97,7	13,5
5 °C	6 meses	98,2	14,0	98,1	13,5	98,0	13,7
5 °C	9 meses	97,4	13,4	97,6	13,1	97,6	13,2
5 °C	12 meses	98,1	13,8	98,1	13,5	98,2	13,1
5 °C	18 meses	97,6	14,0	97,6	14,1	97,7	14,0

Ejemplo 7. Estabilidad de la formulación B que contiene 100 mg/ml de mAb1 cuando se fabrica en un vial y jeringas

La formulación B (véase la tabla 14) que contiene 100 mg/ml de mAb1 se preparó en un vial de vidrio de 2 ml y en dos jeringas diferentes: normal y de bajo contenido en tungsteno. Las preparaciones se almacenaron a 5, 25 y 37 °C durante varios meses de tiempo. La estabilidad de mAb1 después de almacenamiento se midió por SE-HPLC y CEX-HPLC. Los resultados se muestran en la tabla 16. (Como se indica previamente, un aumento en el porcentaje de especies ácidas es coherente con la desaminación del anticuerpo y, por tanto, se considera un fenómeno indeseado con respecto las formulaciones farmacéuticas de la presente invención). Como se muestra en esta tabla, la formulación B que contiene 100 mg/ml de mAb1, almacenada a 5 °C en un vial o jeringa de vidrio, permanecía relativamente estable durante al menos 12 meses, y era ligeramente menos estable a 25 °C o 37 °C en todos los puntos temporales ensayados.

Tabla 16

Estabilidad de la formulación B que contiene 100 mg/ml de mAb1 en vial y jeringa							
		Vial de vidrio de 2 ml		Jeringa normal		Jeringa de bajo contenido en tungsteno	
Temp	Tiempo	% nativo (SE-HPLC)	% ácido (CEX-HPLC)	% nativo (SE-HPLC)	% ácido (CEX-HPLC)	% nativo (SE-HPLC)	% ácido (CEX-HPLC)
-	Inicio	98,2	14,2	98,1	14,4	98,2	14,3
37 °C	7 días	97,4	14,3	97,4	14,3	97,6	14,1
37 °C	14 días	97,0	14,9	96,9	14,8	96,9	14,8
37 °C	28 días	96,4	16,3	96,4	16,2	96,4	15,9
25 °C	1 mes	97,7	13,6	97,8	13,7	97,7	13,6
25 °C	3 meses	96,7	14,7	96,9	14,7	96,8	14,8
25 °C	6 meses	96,6	15,4	96,6	15,5	96,6	15,6
5 °C	1 mes	98,1	13,6	98,0	13,7	98,1	13,5
5 °C	2 meses	97,8	14,3	97,9	14,3	97,9	14,2
5 °C	3 meses	97,7	14,3	97,3	14,4	97,4	14,2
5 °C	6 meses	97,4	14,4	97,5	14,5	97,6	14,5
5 °C	9 meses	97,8	14,2	97,8	14,1	97,7	14,1
5 °C	12 meses	98,0	15,1	98,1	14,7	98,2	14,7
5 °C	18 meses	97,7	14,3	97,7	39,8	97,7	14,1

Ejemplo 8: Estabilidad de formulaciones de mAb1 en jeringas prellenadas

Se realizó una serie de experimentos para evaluar la estabilidad de diferentes formulaciones de mAb1 en jeringas prellenadas. Para estos experimentos, se usaron diversas jeringas normales de tungsteno y de bajo contenido en tungsteno, con agujas de conexión de Luer y fijas en combinación con diferentes tipos de émbolos (recubierto y no recubierto) y capuchones. Las formulaciones se ensayaron para la estabilidad después de almacenamiento en jeringas

prellenadas a 37 °C, 25 °C y 5 °C durante diversas cantidades de tiempo (que varían de 7 días a 6 meses, dependiendo de las condiciones ensayadas).

Se ensayaron para la estabilidad las siguientes formulaciones de mAb1 en jeringas prellenadas en este ejemplo: (1) Formulación A (véase la tabla 9) que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada fija n.º 1 descrita en la tabla 17; (2) Formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada fija n.º 2 descrita en la tabla 18; (3) Formulación A que contiene 20 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada fija n.º 1 descrita en la tabla 19; (4) Formulación A que contiene 20 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada fija n.º 2 descrita en la tabla 20; (5) Formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada fija n.º 3 descrita en la tabla 21; y (6) Formulación A que contiene 6 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada fija n.º 3 descrita en la tabla 22.

La jeringa n.º 1 es una jeringa PhysioliS de bajo contenido en tungsteno de BD de 1 ml de longitud de calibre 29 x ½ pulgada; la jeringa n.º 2 es una jeringa Schott de 1 ml de longitud SN CF de calibre 29 x ½ pulgada; y la jeringa n.º 3 es una jeringa Daikyo Seiko CZ® (Crystal Zenith) de 1 ml convencional de calibre 30 x ½ pulgada.

La estabilidad se evaluó por los siguientes parámetros: (a) análisis visual; (b) turbidez (DO_{405nm}); (c) porcentaje e recuperación por RP-HPLC; (d) porcentaje de mAb1 nativo recuperado por SE-HPLC; (e) porcentaje de mAb1 del pico principal por CEX-HPLC; y (f) porcentaje de especies ácidas por CEX-HPLC.

Los resultados de un experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación A, que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa n.º 1 se muestran en la tabla 17 a continuación.

Tabla 17

Estabilidad de la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada de aguja fija n.º 1							
Descripción de la jeringa n.º 1:							
Jeringa:		BD 1 ml de longitud, calibre 29 x 1/2" PhysioliS, Bajo tungsteno					
Émbolo:		Hypak FluroTec® 4023/50					
Capuchón:		BD 260					
Siliconización:		Pulverizada					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO _{405 nm})	% de recuperación	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)	% del pico principal (CEX-HPLC)	% de especies ácidas (CEX-HPLC)
--	Inicio	Aprobado	0,00	100	98,2	40,2	14,2
37 °C	7 días	Aprobado	0,00	101	97,8	37,6	13,9
37 °C	14 días	Aprobado	0,00	100	97,3	37,0	14,7
37 °C	28 días	Aprobado	0,00	96	96,5	34,9	15,5
25 °C	1 mes	Aprobado	0,00	97	97,9	36,9	13,3
25 °C	2 meses	Aprobado	0,00	103	97,0	38,6	14,9
25 °C	3 meses	Aprobado	0,00	100	97,1	35,5	14,8
25 °C	6 meses	Aprobado	0,00	104	96,7	36,8	17,4
5 °C	1 mes	Aprobado	0,00	96	98,0	39,0	13,8
5 °C	2 meses	Aprobado	0,00	103	97,8	39,3	13,6
5 °C	3 meses	Aprobado	0,00	100	97,7	39,2	13,5
5 °C	6 meses	Aprobado	0,00	100	98,0	39,2	13,7
5 °C	9 meses	Aprobado	0,00	100	97,6	39,1	13,2
5 °C	12 meses	Aprobado	0,00	102	98,2	40,9	13,1
5 °C	18 meses	Aprobado	0,00	100	97,7	39,6	14,0

Los resultados de un experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación A, que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa n.º 2 se muestran en la tabla 18 a continuación.

Tabla 18

Estabilidad de la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada de aguja fija n.º 2							
Descripción de la jeringa n.º 2:							
Jeringa:		Schott 1 ml de longitud SN CF, calibre 29 x 1/2"					
Émbolo:		West FluroTec® 4023/50					
Capuchón:		Stelmi 4800 w/RNS					
Siliconización:		Pulverizada					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO _{405 nm})	% recuperado	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)	% del pico principal (CEX-HPLC)	% de especies ácidas (CEX-HPLC)
--	Inicio	Aprobado	0,00	100	98,3	40,3	14,2
37 °C	7 días	Aprobado	0,00	102	97,5	37,8	14,0
37 °C	14 días	Aprobado	0,00	102	97,3	37,4	14,7
37 °C	28 días	Aprobado	0,00	97	96,6	34,6	15,4
25 °C	1 mes	Aprobado	0,00	98	97,8	36,8	13,4
25 °C	2 meses	Aprobado	0,00	103	97,1	38,8	14,9
25 °C	3 meses	Aprobado	0,00	101	97,1	35,6	14,8
25 °C	6 meses	Aprobado	0,00	103	96,8	37,4	17,5
5 °C	1 mes	Aprobado	0,00	97	97,8	39,8	13,8
5 °C	2 meses	Aprobado	0,00	103	97,8	39,4	13,9
5 °C	3 meses	Aprobado	0,00	101	97,6	39,8	13,8
5 °C	6 meses	Aprobado	0,00	101	98,1	40,0	13,9
5 °C	9 meses	Aprobado	0,00	102	97,6	39,7	13,4
5 °C	12 meses	Aprobado	0,00	100	98,2	41,1	13,0
5 °C	18 meses	Aprobado	0,00	102	97,7	39,4	13,9

Los resultados de un experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación A, que contiene 20 mg/ml de mAb1 en la jeringa n.º 1 se muestran en la tabla 19 a continuación.

5

Tabla 19

Estabilidad de la formulación A que contiene 20 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada de aguja fija n.º 1							
Descripción de la jeringa n.º 1:							
Jeringa:		BD 1 ml de longitud, calibre 29 x 1/2" Physiolis, Bajo tungsteno					
Émbolo:		Hypak FluroTec® 4023/50					
Capuchón:		BD 260					
Siliconización:		Pulverizada					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO _{405 nm})	% recuperado	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)	% del pico principal (CEX-HPLC)	% de especies ácidas (CEX-HPLC)
--	Inicio	Aprobado	0,00	100	98,9	44,5	15,9
37 °C	7 días	Aprobado	0,00	100	98,4	42,1	15,7
37 °C	14 días	Aprobado	0,00	99	98,3	41,8	16,2
37 °C	28 días	Aprobado	0,00	98	97,6	39,2	17,5
25 °C	1 mes	Aprobado	0,00	96	98,4	41,4	15,3
25 °C	2 meses	Aprobado	0,00	100	98,1	41,8	16,0
25 °C	3 meses	Aprobado	0,00	99	98,0	42,7	17,0
25 °C	6 meses	Aprobado	0,01	99	98,0	42,0	19,4
5 °C	1 mes	Aprobado	0,00	97	98,2	44,0	15,7
5 °C	2 meses	Aprobado	0,00	99	98,5	44,5	15,8
5 °C	3 meses	Aprobado	0,00	100	98,4	44,4	15,8
5 °C	6 meses	Aprobado	0,00	99	98,6	44,1	15,6
5 °C	9 meses	Aprobado	0,00	101	98,2	44,0	15,1
5 °C	12 meses	Aprobado	0,00	101	98,5	45,4	15,9
5 °C	18 meses	Aprobado	0,00	101	98,2	43,5	15,3

Los resultados de un experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación A, que contiene 20 mg/ml de mAb1 en la jeringa n.º 2 se muestran en la tabla 20 a continuación.

10

Tabla 20

Estabilidad de la formulación A que contiene 20 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada de aguja fija n.º 2							
Descripción de la jeringa n.º 2:							
Jeringa:		Schott 1 ml de longitud SN CF, calibre 29 x 1/2"					
Émbolo:		West FluroTec® 4023/50					
Capuchón:		Stelmi 4800 w/RNS					
Siliconización:		Pulverizada					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO _{405 nm})	% recuperado	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)	% del pico principal (CEX-HPLC)	% de especies ácidas (CEX-HPLC)
--	Inicio	Aprobado	0,00	100	98,9	44,5	15,9
37 °C	7 días	Aprobado	0,00	101	98,4	42,1	15,6
37 °C	14 días	Aprobado	0,00	100	98,2	41,8	16,2
37 °C	28 días	Aprobado	0,00	98	97,6	39,3	17,4
25 °C	1 mes	Aprobado	0,00	97	98,3	41,5	15,2
25 °C	2 meses	Aprobado	0,00	99	98,2	41,9	16,0
25 °C	3 meses	Aprobado	0,00	100	98,0	42,7	16,9
25 °C	6 meses	Aprobado	0,00	99	97,9	42,1	19,5
5 °C	1 mes	Aprobado	0,00	96	98,4	44,7	15,6
5 °C	2 meses	Aprobado	0,00	99	98,5	44,3	15,9
5 °C	3 meses	Aprobado	0,00	99	98,4	44,7	15,7
5 °C	6 meses	Aprobado	0,00	100	98,7	44,2	15,5
5 °C	9 meses	Aprobado	0,00	102	98,4	43,8	15,1
5 °C	12 meses	Aprobado	0,00	102	98,6	45,2	15,9
5 °C	18 meses	Aprobado	0,00	102	98,3	43,2	15,2

Los resultados de un experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación A, que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa n.º 3 se muestran en la tabla 21 a continuación.

5

Tabla 21

Estabilidad de la formulación A que contiene 100 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada de aguja fija n.º 3							
Descripción de la jeringa n.º 3:							
Jeringa:		Daikyo Seiko CZ 1 ml convencional, calibre 30 x 1/2"					
Émbolo:		Daikyo D-21-6-1 FluroTec® recubierto					
Capuchón:		7028					
Siliconización:		NP					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO _{405 nm})	% de recuperación	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)	% del pico principal (CEX-HPLC)	% de especies ácidas (CEX-HPLC)
--	Inicio	Aprobado	0,00	100	97,5	38,5	13,6
37 °C	7 días	Aprobado	0,00	101	97,5	40,0	14,0
37 °C	14 días	Aprobado	0,00	102	97,3	39,5	15,2
37 °C	28 días	Aprobado	0,00	101	96,4	38,3	15,7
25 °C	1 mes	Aprobado	0,00	105	97,8	38,3	13,6
25 °C	2 meses	Aprobado	0,00	102	97,2	37,4	14,9
25 °C	3 meses	Aprobado	0,00	102	97,2	37,2	14,6
5 °C	1 mes	Aprobado	0,00	104	98,2	38,1	13,3
5 °C	2 meses	Aprobado	0,00	101	97,9	38,1	13,4
5 °C	3 meses	Aprobado	0,00	101	97,8	38,4	13,1
5 °C	6 meses	Aprobado	0,00	106	97,8	39,6	13,4
5 °C	9 meses	Aprobado	0,00	105	97,9	40,8	13,4
5 °C	12 meses	Aprobado	0,00	112	97,6	38,3	13,5

Los resultados de un experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación A, que contiene 6 mg/ml de mAb1 en la jeringa n.º 3 se muestran en la tabla 22 a continuación.

10

Tabla 22

Estabilidad de la formulación A que contiene 6 mg/ml de mAb1 en la jeringa prellenada de aguja fija n.º 3							
Descripción de la jeringa n.º 3:							
Jeringa:		Daikyo Seiko CZ 1 ml convencional, calibre 30 x 1/2"					
Émbolo:		Daikyo D-21-6-1 FluroTec® recubierto					
Capuchón:		7028					
Siliconización:		NP					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO ₄₀₅ nm)	% de recuperación	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)	% del pico principal (CEX-HPLC)	% de especies ácidas (CEX-HPLC)
--	Inicio	Aprobado	0,00	100	98,8	45,6	16,8
37 °C	7 días	Aprobado	0,00	101	98,7	46,2	17,2
37 °C	14 días	Aprobado	0,00	101	98,5	45,8	18,2
37 °C	28 días	Aprobado	0,00	101	98,3	44,5	19,8
25 °C	1 mes	Aprobado	0,00	106	98,8	45,7	17,3
25 °C	2 meses	Aprobado	0,00	103	98,8	44,3	18,1
25 °C	3 meses	Aprobado	0,00	101	98,3	42,9	18,6
5 °C	1 mes	Aprobado	0,00	105	99,0	46,0	16,6
5 °C	2 meses	Aprobado	0,00	102	98,8	45,6	16,8
5 °C	3 meses	Aprobado	0,00	101	98,8	45,7	16,3
5 °C	6 meses	Aprobado	0,00	105	98,5	46,7	16,5
5 °C	9 meses	Aprobado	0,00	106	98,8	47,8	17,2
5 °C	12 meses	Aprobado	0,00	115	97,8	47,6	17,5

Los resultados de este conjunto de experimentos demuestran que las diferentes formulaciones permanecen relativamente estables en jeringas prellenadas, especialmente cuando se almacenan a temperaturas de 25 °C y por debajo, durante un mes o más.

Ejemplo 9: Estabilidad de formulaciones que contienen bajas concentraciones de mAb1 en viales de vidrio

Se está evaluando la estabilidad en tiempo real y acelerada de 0,2, 0,5, 1 y 2 mg/ml de mAb1 en viales de vidrio, cuyos resultados hasta la fecha se muestran en las tablas 23 a 27. Para estos experimentos, se está examinando la estabilidad de mAb1 en viales de vidrio de borosilicato de tipo 1 fabricados por Schott. La formulación del mAb1 usada en los ejemplos 9 a 12 es similar a la descrita en la tabla 9, excepto que las concentraciones de anticuerpo usadas fueron inferiores que las ensayadas previamente y varían para todos los periodos de ensayo. Las concentraciones exactas de mAb1 usadas en cada experimento se indican en cada tabla a continuación. Las formulaciones se ensayaron para la estabilidad después de almacenamiento en viales de vidrio a 45 °C, 25 °C y 5 °C durante diversas cantidades de tiempo (que varían de 7 días a 6 meses, dependiendo de las condiciones ensayadas).

Los resultados hasta la fecha demuestran una degradación aumentada (precipitación, agregación, escisión y variantes de carga) de las formulaciones de 0,2 y 0,5 mg/ml después de incubación a 45 °C durante 7 a 14 días. Además, hubo un aumento en la agregación para las formulaciones a todas las concentraciones ≤ 2 mg/ml cuando se incubaban a 45 °C durante 28 días (> 15 % frente a -2 % para formulaciones ≥ 6 mg/ml). Se observó precipitación cuando la formulación de 0,2 mg/ml se almacenaba a 5 °C durante 6 meses. No hubo degradación/precipitación significativa observada cuando formulaciones de 0,5, 1 y 2 mg/ml se almacenaban a 5 °C durante 6 meses.

Tabla 23

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en viales de vidrio (incubación a 45 °C)				
Tiempo (días)	% de mAb1 recuperado (RP-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml por vial)			
	0,2	0,5	1,0	2,0
0	100	100	100	100
7	91	97	103	109
14	67	94	101	108
28	40	82	100	106
Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0				

Tabla 24

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en viales de vidrio (incubación a 25 °C)				
Tiempo (días)	% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml por vial)			
	0,2	0,5	1,0	2,0
0	98,1	98,4	98,6	98,5
7	98,3	98,6	98,6	98,7
14	98,1	98,7	98,6	98,7
28	97,6	98,5	98,6	98,7
56	92,2	96,6	98,1	98,5

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

Tabla 25

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en viales de vidrio (incubación a 5 °C)				
Tiempo (meses)	% de mAb1 recuperado (RP-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml por vial)			
	0,2	0,5	1,0	2,0
0	100	100	100	100
1	101	97	105	109
2	99	100	107	110
3	105	99	105	111
6	80	97	102	106

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

5

Tabla 26

Estabilidad de mAb1 de baja concentración en viales de vidrio (incubación a 5 °C)				
Tiempo (meses)	% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml por vial)			
	0,2	0,5	1,0	2,0
0	98,1	98,4	98,6	98,5
1	97,7	98,6	98,7	98,8
2	97,8	98,3	98,3	98,7
3	98,2	98,7	98,7	98,3
6	97,6	98,4	98,6	98,5

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

Tabla 27: Estabilidad de mAb1 a baja concentración en jeringas PFS o en viales de vidrio (incubación a 45 °C)

A. Viales de vidrio				
Tiempo (días)	% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml por vial)			
	0,2	0,5	1,0	2,0
0	98,1	98,4	98,6	98,5
7	90,4	97,2	98,3	98,2
14	76,1	92,0	96,1	97,8
28	42,9	51,0	83,7	81,7

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

B. Jeringa

Tiempo (días)	% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml por vial)			
	0,2	0,5	1,0	2,0
0	98,1	98,6	98,5	98,4
7	97,6	98,1	98,2	98,1
14	97,9	97,9	97,8	97,8
28	96,9	96,8	96,7	96,6

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

10 Ejemplo 10: Estabilidad de formulación que contiene bajas concentraciones de mAb1 en jeringas BD y Ompi

Se está evaluando la estabilidad en tiempo real y acelerada de 0,2 y 0,6 mg/ml de mAb1 en jeringas BD y Ompi. Ambas jeringas son de un tamaño de 1 ml de longitud, fabricadas con bajo contenido en tungsteno y tienen un calibre 27 X ½ pulgadas, de pared delgada, con aguja fija. La jeringa BD contiene 0,8 mg de silicona, aplicada por pulverización desde la parte superior del reborde. La jeringa Ompi contiene 0,5 mg de silicona y se aplica con

15

tecnología de boquilla sumergida, que da un recubrimiento más uniforme a lo largo de la longitud del cilindro. Las formulaciones se ensayaron para la estabilidad después de almacenamiento tanto en jeringas prellenadas a 45 °C, 25 °C y 5 °C durante diversas cantidades de tiempo (que varían de 7 días a 6 meses, dependiendo de las condiciones ensayadas).

5 Los resultados, que se muestran en las tablas 28 a 30, demostraron que la estabilidad de mAb1 a 45 °C en la jeringa BD está enormemente mejorada en comparación con un vial de vidrio de borosilicato de tipo 1, determinada por análisis RP-HPLC (precipitación) y SE-HPLC (especies de agregación y escisión).

10 La estabilidad de mAb1 a 45 °C en la jeringa Ompi mejoraba en comparación con viales de vidrio de borosilicato de tipo 1, pero era significativa menos estable en comparación con incubación en la jeringa BD. Estos datos sugieren que la silicona puede estar bloqueando la interacción de la formulación con la superficie de vidrio, mejorando por tanto la estabilidad. Como la jeringa BD contiene más silicona a lo largo del cilindro de la jeringa de vidrio que la jeringa Ompi, esto puede explicar la causa de que la formulación sea más estable en la jeringa BD en comparación con la jeringa Ompi.

15 No se observó degradación significativa cuando el mAb1 se almacenaba en las jeringas BD y Ompi a 5 °C o a 25 °C durante 6 meses determinada por análisis SE-HPLC y CEX-HPLC.

20

Tabla 28

Estabilidad de 0,6 mg/ml de mAb1 en jeringas BD, jeringa Ompi o viales de vidrio (incubación a 45 °C)			
Tiempo (días)	% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)		
	Vial de vidrio de tipo 1	Jeringa BD	Jeringa Ompi
0	98,6	98,6	98,9
7	98,2	98,4	98,5
28	66,1	97,1	84,5
54	-	95,6	24,5
Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0			

Tabla 29

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en jeringas BD y Ompi (incubación a 5 °C; SE-HPLC)						
Tiempo (meses)	% de mAb1 nativo recuperado (SE-HPLC)					
	Concentración de mAb1 (mg/ml)					
	Vial		BD		Ompi	
	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	0,6
0	98,6	98,6	98,4	98,6	98,7	98,9
1	98,7	99,0	98,5	98,9	98,5	98,9
2	98,3	98,9	98,7	98,9	98,6	98,9
3	98,4	98,6	98,4	98,7	98,3	98,7
6	98,3	98,6	98,3	98,7	98,2	98,7
Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0						

Tabla 30

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en vial, jeringas BD y CZ (incubación a 45 °C; RP-HPLC)						
Tiempo (días)	% de mAb1 recuperado (RP-HPLC)					
	Concentración de mAb1 (mg/ml)					
	Vial		BD		CZ	
	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	0,6
0	100	100	100	100	100	100
7	92	103	96	107	99	106
14	88	96	96	99	104	100
28	39	94	85	99	104	101
42	-	-	61	-	94	-
56	-	-	55	-	96	-
62	-	-	-	88	-	98
Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0						

25

Ejemplo 11: Estabilidad de formulación que contiene bajas concentraciones de mAb1 en dispositivos de almacenamiento alternativos

30 Hay estudios en curso para examinar la estabilidad de mAb1 en otros dispositivos de almacenamiento, incluyendo: jeringas West CZ (poliolefina cíclica), viales de vidrio Schott Type 1 plus® (100 - 200 nm de recubrimiento de SiO₂ en la superficie interior de viales de vidrio de borosilicato de tipo 1) y viales de vidrio de borosilicato Schott Type 1 con

espacio vacío de nitrógeno (aire eliminado del espacio vacío del vial y remplazado con gas N₂).

Los resultados, como se muestran en las tablas 31 a 36, demuestran que la estabilidad a 45 °C se mejoraba enormemente para formulaciones de 0,2 y 0,6 mg/ml en jeringas CZ en comparación con jeringas BD determinada por RP-HPLC y SE-HPLC.

Además, la estabilidad de la formulación de mAb1 a 45 °C se mejoró enormemente a concentraciones de 0,2 y 0,6 mg/ml en viales de vidrio de Type 1 plus® en comparación con viales de tipo 1, determinada por RP-HPLC y SE-HPLC.

Se observó degradación significativa por SE-HPLC para la formulación de 0,2 mg/ml en viales de vidrio de tipo 1 cuando se incubaban a 25 °C o a 5 °C durante 3 meses. No se observó degradación significativa para la formulación de 0,2 mg/ml en viales de vidrio de Type 1 plus® cuando se incubaban a 25 °C o a 5 °C durante 3 meses.

La estabilidad a 45 °C se mejoró enormemente para las formulaciones de 0,2 mg/ml en viales de vidrio de tipo 1 con un revestimiento de nitrógeno, en comparación con viales de vidrio de tipo 1 con un espacio vacío de aire, determinada por SE-HPLC.

La eliminación de oxígeno del espacio vacío tuvo el máximo efecto estabilizante sobre mAb1 a 0,2 mg/ml formulado con un 0,05 % de polisorbato 20 (como en la formulación A) aunque aún se observaba una tasa aumentada de degradación en comparación con una formulación de 0,2 mg/ml sin polisorbato 20.

Tabla 31

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en vial, jeringas BD y CZ (incubación a 45 °C; SE-HPLC)						
Tiempo (días)	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)					
	Concentración de mAb1 (mg/ml)					
	Vial		BD		CZ	
	0,2	0,6	0,2	0,6	0,2	0,6
0	98,8	98,7	98,5	98,5	98,7	98,6
7	96,5	98,3	97,6	98,3	97,0	98,3
14	82,0	97,2	95,8	97,2	97,1	97,0
28	58,2	64,5	70,6	95,8	96,1	96,2
42	-	-	48,8	-	93,3	-
56	-	-	36,4	-	89,6	-
62	-	-	-	93,4	-	90,3

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

Tabla 32

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en vial Type 1 plus®, (incubación a 45 °C; RP-HPLC)				
Tiempo (días)	% de mAb1 recuperado (RP-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml)			
	Vial de tipo 1		Vial Type 1 plus®	
	0,2	0,6	0,2	0,6
0	100	100	100	100
7	92	103	99	106
14	88	96	100	99
28	39	94	101	100

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

Tabla 33

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en vial Type 1 plus® (incubación a 45 °C; SE-HPLC)				
Tiempo (días)	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)			
	Concentración de mAb1 (mg/ml)			
	Vial de tipo 1		Vial Type 1 plus®	
	0,2	0,6	0,2	0,6
0	98,8	98,7	98,7	98,6
7	96,5	98,3	97,3	98,3
14	82,0	97,2	97,4	97,2
28	58,2	64,5	70,6	95,2

Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0

Tabla 34

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en vial Type 1 plus® (incubación a 25 °C; SE-HPLC)				
% de mAb1 nativo (SE-HPLC)				
Tiempo (meses)	Concentración de mAb1 (mg/ml)			
	Vial de tipo 1		Vial Type 1 plus®	
	0,2	0,6	0,2	0,6
0	98,8	98,7	98,7	98,6
1	98,7	98,7	98,6	98,8
2	98,2	98,6	98,2	98,6
3	92,5	97,2	97,5	97,4
Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0				

Tabla 35

Estabilidad de mAb1 a baja concentración en vial Type 1 plus® (incubación a 5 °C; SE-HPLC)				
% de mAb1 nativo (SE-HPLC)				
Tiempo (meses)	Concentración de mAb1 (mg/ml)			
	Vial de tipo 1		Vial Type 1 plus®	
	0,2	0,6	0,2	0,6
0	98,8	98,7	98,7	98,7
1	98,9	98,9	98,5	98,7
2	98,7	98,9	98,6	98,6
3	96,5	97,7	97,9	97,7
Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0				

Tabla 36

Estabilidad de 0,2 mg/ml de mAb1 en vial de tipo 1 con revestimiento de nitrógeno (incubación a 45 °C; SE-HPLC)		
% de mAb1 nativo (SE-HPLC)		
Tiempo (meses)	Espacio vacío de aire	Espacio vacío de nitrógeno
0	97,5	97,1
7	95,2	95,7
14	84,6	96,6
21	60,9	96,7
28	53,9	96,7
56	-	92,4
Formulación: Sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0		

Ejemplo 12: Efecto del tungsteno sobre la estabilidad de mAb1 a baja concentración

Hay estudios para examinar la estabilidad de mAb1 cuando se le añade un extracto de alambre de tungsteno sin filtrar. Los alambres de tungsteno se usan en el proceso de fabricación de jeringas prellenadas para formar el orificio en la jeringa de conexión de Luer. Un extracto de un alambre de tungsteno usado en una línea de fabricación por BD se preparó usando placebo de mAb1 (similar a la formulación A sin mAb1). El extracto del alambre sin filtrar contiene todas las especies de tungsteno que pueden quedar en la jeringa como contaminantes (sales solubles de tungsteno y óxidos insolubles de tungsteno).

Los resultados de SE-HPLC, como se muestra en las tablas 37 a 38, demuestran que la estabilidad a 25 °C se redujo en comparación con un vial de control sin tungsteno para formulaciones de 0,6 mg/ml que contienen niveles de tungsteno ≥ 500 ppm. Las jeringas de bajo contenido en tungsteno típicamente contienen < 500 ppm de tungsteno mientras que las jeringas normales pueden contener como mucho 2500 ppm de tungsteno.

No se observó degradación para formulaciones de 0,6 mg/ml con tungsteno de hasta 2500 ppm cuando se incubaban a 5 °C durante 6 meses.

Tabla 37

Estabilidad de 0,6 mg/ml de mAb1 cuando se almacena a 25 °C en extractos de alambre de tungsteno sin filtrar (SE-HPLC)						
% de mAb1 nativo (SE-HPLC)						
Tiempo (semanas)	Vial de control	50 ppm W	100 ppm W	500 ppm W	1000 ppm W	2500 ppm W
0	98,7	98,8	98,9	98,8	98,8	98,7
1	98,7	98,6	98,7	98,6	98,7	98,7
2	98,6	98,6	98,6	98,4	98,4	98,4

(continuación)

Estabilidad de 0,6 mg/ml de mAb1 cuando se almacena a 25 °C en extractos de alambre de tungsteno sin filtrar (SE-HPLC)						
	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)					
Tiempo (semanas)	Vial de control	50 ppm W	100 ppm W	500 ppm W	1000 ppm W	2500 ppm W
4	98,5	98,5	98,5	98,6	98,2	98,5
8	98,6	98,7	98,6	98,2	98,3	98,6
26	97,4	97,8	97,5	78,6	76,5	74,8
Formulación: 0,6 mg/ml de mAb1 en sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0						

Tabla 38

Estabilidad de 0,6 mg/ml de mAb1 cuando se almacena a 5 °C en extractos de alambre de tungsteno sin filtrar (SE-HPLC)						
	% de mAb1 nativo (SE-HPLC)					
Tiempo (semanas)	Vial de control	50 ppm W	100 ppm W	500 ppm W	1000 ppm W	2500 ppm W
0	98,7	98,8	98,9	98,8	98,8	98,7
1	98,5	98,5	98,6	98,7	98,6	98,4
3	97,7	98,0	98,2	98,2	98,2	98,2
6	98,8	98,6	98,7	98,7	98,8	98,4
Formulación: 0,6 mg/ml de mAb1 en sacarosa al 8 %, polisorbato 20 al 0,05 %, acetato 10 mM, pH 5,0						

5 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Scott Walsh
Terra Potocky
Daniel Dix
10 Renuka Sivendran

<120> Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-NGF

<130> Por asignar

<140> Por asignar

<141> Presentado en este documento

<150> 61/364.112

20 <151> 14/07/2010

<160> 31

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1

<211> 847

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

30 <400> 1

```

agcgtccgga cccaataaca gttttaccaa gggagcagct ttctatcctg gccacactga 60
ggtgcatagc gtaatgtcca tgttggttcta cactctgata acagcttttc tgatcggcac 120
acaggcgga cccacactcag agagcaatgt ccctgcagga cacaccatcc cccaagccca 180
ctggactaaa cttcagcatt cccttgacac tgcccttcgc agagcccga ggcggccggc 240
agcggcgata gctgcacgag tggcggggca gaccgcgaac attactgtgg accccaggct 300
gtttaaaaag cggcgactcc gttcaccctg tgtgctgttt agcaccacgc ctcccctga 360
agctgcagac actcaggatc tggacttcga ggtcggtggt gctgccccct tcaacaggac 420
tcacaggagc aagcggatc catcccatcc catcttcac aggggcgaat tctcggtgtg 480
tgacagtgtc agcgtgtggg ttggggataa gaccaccgcc acagacatca agggcaagga 540
ggtgatggtg ttgggagagg tgagcattaa caacagtgtt ttcaaacagt acttttttga 600
gaccaagtgc cgggacccaa atcccggtga cagcgggtgc cggggcattg actcaaagca 660
ctggaactca tattgtacca cgactcacac ctttgtcaag gcgctgacca tggatggcaa 720
gcaggtgcc tggcggttta tccggataga tacggcctgt atgtgtgtgc tcagcaggaa 780
ggctgtgaga agagcctgac ctgcccacac gtcctctccc cctgccccct ctacactctc 840
ctgggcc 847

```

<210> 2
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 2

```

Ser Ser Ser His Pro Ile Phe His Arg Gly Glu Phe Ser Val Val Ser
1          5          10          15
Val Trp Val Gly Asp Lys Thr Thr Ala Thr Asp Ile Lys Gly Lys Glu
20          25          30
Val Met Val Leu Gly Glu Val Asn Ile Asn Asn Ser Val Phe Lys Gln
35          40          45
Tyr Phe Phe Glu Thr Lys Cys Arg Asp Pro Asn Pro Val Asp Ser Gly
50          55          60
Cys Arg Gly Ile Asp Ser Lys His Trp Asn Ser Tyr Cys Thr Thr Thr
65          70          75          80
His Thr Phe Ala Leu Thr Met Asp Gly Lys Gln Ala Ala Trp Arg Phe
85          90          95
Ile Arg Ile Asp Thr Ala Cys Val Cys Val Leu Ser Arg Lys Ala Val

100          105          110
Arg Arg Ala
115

```

<210> 3
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 3

```

caggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc cgggcgcctc cgtgaagggtg 60
tcttgcaagg tgctcggctt caccctgacc gagctgtcca tgcactgggt gcggcaggcc 120
ccgggcaagg gcttgagtg gatgggcggc ttcgaccccg aggacggcga gaccatctac 180
gccagaagt tccagggccg ggtgaccatg accgaggaca cctccaccga caccgcctac 240
atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgcctgtg actactgtc caccatcttc 300
ggcgtggtga ccaacttcga caactggggc cagggcaccc tggtgaccgt gtctctcc 357

```

<210> 4
 <211> 119

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 4

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1          5          10          15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Thr Leu Thr Glu Leu
      20          25          30
Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
      35          40          45
Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50          55          60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65          70          75          80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85          90          95
Ser Thr Ile Phe Gly Val Val Thr Asn Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly
      100          105          110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115

```

<210> 5
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 5

ggattcacc tcactgaatt atcc 24

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 6

```

Gly Phe Thr Leu Thr Glu Leu Ser
 1          5

```

<210> 7
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 7

ttgatcctg aagatggtga aaca 24

<210> 8

ES 2 882 135 T3

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

<400> 8

Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr
 1 5

10

<210> 9
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Sintético

20

<400> 9
 tcaacgatt ttggagtgt taccaactt gacaac 36

25

<210> 10
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintético

<400> 10

Ser Thr Ile Phe Gly Val Val Thr Asn Phe Asp Asn
 1 5 10

35

<210> 11
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Sintético

<400> 11

gacatccaga tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga ccgggtgacc 60
 atcacctgcc gggcctccca ggccatccgg aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ccaagcggt gatctacgcc gccttcaacc tgcagtccgg cgtgccctcc 180
 cggttctccg gctccggctc cggcaccgag ttacacctga ccatctcttc cctgcagccc 240
 gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaaccggt acccctggac cttcggccag 300
 ggcaccaagg tggagatcaa gcgg 324

45

<210> 12
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Sintético

55

<400> 12

ES 2 882 135 T3

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Arg Asn Asp
      20           25           30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
      35           40           45
Tyr Ala Ala Phe Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Trp
      85           90           95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
      100           105

```

5 <210> 13
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Sintético

<400> 13
 caggccatta gaaatgat 18

15 <210> 14
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Sintético
 <400> 14

```

Gln Ala Ile Arg Asn Asp
 1           5

```

25
 <210> 15
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

35 <400> 15
 gctgcattc 9

40 <210> 16
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

45 <400> 16

ES 2 882 135 T3

Ala Ala Phe
1

5 <210> 17
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Sintético

<400> 17
caacagtata atagatacc gtggacg 27

15 <210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Sintético

<400> 18

Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Trp Thr
1 5

25 <210> 19
<211> 357
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Sintético

35 <400> 19

```
cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ttcccgatt caccctcact gaattatcca ttcactgggt gcgacagget 120
cctggaaaag ggcttgagt gatgggaggt ttgatcctg aagatgggtga aacaatctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctac 240
atggagctga ccagcctgag atcggaagac acggccgtgt attactgttc aacgattttt 300
ggagtgggta ccaactttga caactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357
```

40 <210> 20
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Sintético

<400> 20

ES 2 882 135 T3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Thr Leu Thr Glu Leu
 20 25 30
 Ser Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Thr Ile Phe Gly Val Val Thr Asn Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 21
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 21

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgcaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggccattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgcc gatctatgct gcattcaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 agattcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagtag cctgcagcct 240
 gaagatcttg caagttatta ctgtcaacag tataatagat acccgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 22
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Arg Asn Asp
 20 25 30
 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Phe Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 23

	<211> 8
	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
5	<220>
	<223> Sintético
	<220>
	<221> VARIANTE
10	<222> (1)...(8)
	<223> Xaa = Cualquier aminoácido
	<400> 23
	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
15	1 5
	<210> 24
	<211> 8
	<212> PRT
20	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Sintético
25	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (1)...(8)
	<223> Xaa = Cualquier aminoácido
30	<400> 24
	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
	1 5
	<210> 25
35	<211> 18
	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
	<220>
40	<223> Sintético
	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (1)...(18)
45	<223> Xaa = Cualquier aminoácido
	<400> 25
	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
	1 5 10 15
	Xaa Xaa
50	<210> 26
	<211> 6
	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
55	<220>
	<223> Sintético

5	<220> <221> VARIANTE <222> (1)...(6) <223> Xaa = Cualquier aminoácido <400> 26	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa 1 5
10	<210> 27 <211> 3 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
15	<220> <223> Sintético	
20	<220> <221> VARIANTE <222> (1)...(3) <223> Xaa = Cualquier aminoácido <400> 27	
25		Xaa Xaa Xaa 1
30	<210> 28 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Sintético	
40	<220> <221> VARIANTE <222> (1)...(9) <223> Xaa = Cualquier aminoácido <400> 28	
45	<210> 29 <211> 330 <212> PRT <213> Secuencia artificial	Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa 1 5
50	<220> <223> Sintético <400> 29	

ES 2 882 135 T3

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
	115						120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	130					135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165						170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
			180					185				190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195					200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
	275						280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290					295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305					310					315					320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
			325						330						

<210> 30
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 30

ES 2 882 135 T3

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
65					70					75					80
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
		115					120					125			
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
	130					135					140				
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145					150					155					160
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
				165					170					175	
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
				180				185				190			
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
		195					200					205			
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
	210					215					220				
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
225					230					235					240
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
			245						250					255	
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
		260						265					270		
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
		275					280					285			
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
	290					295					300				
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
305					310					315					320
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys									
				325											

<210> 31
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 31

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
65					70					75					80
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
		115					120					125			
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
	130					135					140				
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145					150					155					160
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
			165						170					175	
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
		180						185					190		
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
	195						200					205			
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
	210					215					220				
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
225					230					235					240
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
			245						250					255	
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
		260						265					270		
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
		275					280					285			
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
	290					295					300				
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
305					310					315					320
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys									
				325											

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica, que comprende:

- (i) de 0,2 a 75 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente al factor de crecimiento nervioso humano (hNGF);
- (ii) polisorbato 20 al 0,05 %;
- (iii) sacarosa al 8 %; y
- (iv) acetato 10 mM,

en la que:

- el anticuerpo humano que se une específicamente a hNGF consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada cadena pesada una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20 y una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31, y comprendiendo cada cadena ligera una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región constante de cadena ligera;
- la formulación almacenada, después de seis meses a 5 °C, mantiene la estabilidad, de modo que se mantiene un 97 % o más del anticuerpo en su forma nativa según se detecta mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento de exclusión por tamaño; y
- el pH de la formulación es 5,0.

2. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación comprende de 0,6 a 60 mg/ml del anticuerpo.

3. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1 o 2, en la que la formulación está contenida en un vial o en una jeringa de vidrio, o en un vial o en una jeringa de plástico.

4. La formulación farmacéutica de la reivindicación 3, en la que:

- (a) el vial de vidrio es un vial de vidrio recubierto con dióxido de silicio; opcionalmente en el que el espacio vacío en el vial de vidrio se llena con un gas inerte para eliminar el oxígeno, preferiblemente en el que el gas inerte es argón o nitrógeno; o
- (b) la jeringa comprende un émbolo recubierto con fluorocarburo; opcionalmente en la que la jeringa es una jeringa de bajo contenido en tungsteno, preferiblemente en la que la jeringa es una jeringa de bajo contenido en tungsteno y comprende un émbolo recubierto con fluorocarburo.

5. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, contenida en un autoinyector o microinfusor.

6. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la formulación se administra por vía intravenosa o por vía subcutánea.

7. El uso de la formulación farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en la preparación de un medicamento para el tratamiento, la prevención y/o el alivio del dolor asociado con la actividad de NGF o con la activación de NGF.

8. El uso según la reivindicación 7, en el que el dolor es neurógeno, neuropático, nocisensible o está asociado con inflamación.

9. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en un método de tratamiento, prevención y/o mejora del dolor asociado con la actividad de NGF o con la activación de NGF.

10. La formulación para su uso según la reivindicación 9, en la que el dolor es neurógeno, neuropático, nocisensible o está asociado con inflamación.