

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 980 815**

⑮ Int. Cl.:

A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/18 (2007.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 1/14 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 47/20 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2014 E 20205250 (2)**

⑯ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.05.2024 EP 3791862**

⑮ Título: **Formulaciones de proteínas líquidas que contienen agentes reductores de la viscosidad**

⑯ Prioridad:

11.09.2013 US 201361876621 P
14.02.2014 US 201461940227 P
21.02.2014 US 201461943197 P
28.02.2014 US 201461946436 P
02.05.2014 US 201461988005 P
05.06.2014 US 201462008050 P
18.07.2014 US 201462026497 P
29.07.2014 US 201462030521 P

⑯ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.10.2024

⑯ Titular/es:

EAGLE BIOLOGICS, INC. (100.0%)
47 Moulton Street
Cambridge, MA 02138, US

⑯ Inventor/es:

LARSON, ALYSSA M.;
LOVE, KEVIN;
WEIGHT, ALISHA K.;
CRANE, ALAN;
LANGER, ROBERT S. y
KLIBANOV, ALEXANDER M.

⑯ Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 980 815 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 de proteínas líquidas que contienen agentes reductores de la viscosidad

5 Esta solicitud reivindica la prioridad y el beneficio a la Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 62/030.521, depositada el 29 de julio de 2014, titulada "Low-Viscosity Protein Formulations Containing Hydrophobic Salts"; Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 62/026.497, depositada el 18 de julio de 2014, titulada "Low-Viscosity Protein Formulations Containing GRAS Viscosity-Reducing Agents"; Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 62/008.050, depositada el 5 de junio de 2014, titulada "Low-Viscosity Protein Formulations Containing Ionic Liquids"; Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 61/988.005, depositada el 2 de mayo de 2014, titulada "Low-Viscosity Protein Formulations Containing Organophosphates"; Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 61/946.436, depositada el 28 de febrero de 2014, titulada "Concentrated, Low-Viscosity Infliximab Formulations"; Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 61/943.197, depositada el 21 de febrero de 2014, titulada "Concentrated, Low-Viscosity, High-Molecular-Weight-Protein Formulations"; Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 61/940.227, depositada el 14 de febrero de 2014, titulada "Concentrated, Low-Viscosity High-Molecular-Weight Protein Formulations"; y Solicitud Provisional de EE. UU. N.º 61.876.621, depositada el 11 de septiembre de 2013, titulada "Concentrated, Low-Viscosity, High-Molecular-Weight Protein Formulations".

10

15

CAMPO DE LA INVENCIÓN

20 La invención está generalmente en el campo de las formulaciones farmacéuticas inyectables de baja viscosidad de proteínas altamente concentradas y de los métodos de fabricación y uso de las mismas.

FONDO DE LA INVENCIÓN

25 Los anticuerpos monoclonales (mAbs) son importantes terapias basadas en proteínas para tratar diversas enfermedades humanas como el cáncer, las enfermedades infecciosas, la inflamación y las enfermedades autoinmunes. Más de 20 productos mAb han sido aprobados por el Organismo para el Control de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (FDA), y aproximadamente el 20% de todos los productos biofarmacéuticos que se evalúan actualmente en ensayos clínicos son mAbs (Daugherty et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 58:686-706, 2006; y Buss et al., Curr. Opinion in Pharmacol. 12:615-622, 2012).

30

35 Las terapias basadas en mAb suelen administrarse repetidamente durante un largo periodo de tiempo y requieren dosis de varios mg/kg. Las soluciones o suspensiones de anticuerpos pueden administrarse por vía parenteral, como infusions intravenosas (IV) e inyecciones subcutáneas (SC) o intramusculares (IM). Las vías SC o IM reducen el coste del tratamiento, aumentan el cumplimiento del paciente y mejoran la comodidad para los pacientes y los profesionales sanitarios durante la administración en comparación con la vía IV. Para ser eficaces y farmacéuticamente aceptables, las formulaciones parenterales deben ser preferiblemente estériles, estables, inyectables (por ejemplo, mediante una jeringa) y no irritantes en el lugar de la inyección, de conformidad con las directrices del FDA. Debido a los pequeños volúmenes necesarios para las inyecciones subcutáneas (normalmente menos de 2 ml) e intramusculares (normalmente menos de 5 ml), estas vías de administración para las terapias proteicas de dosis altas requieren soluciones proteicas concentradas. Estas altas concentraciones suelen dar lugar a formulaciones muy viscosas que son difíciles de administrar por inyección, causan dolor en el lugar de la inyección, suelen ser imprecisas y/o pueden tener una estabilidad química y/o física disminuida.

40

45 Estas características dan lugar a requisitos de fabricación, almacenamiento y uso que pueden ser difíciles de cumplir, en particular para las formulaciones que tienen altas concentraciones de proteínas de alto peso molecular, como los mAbs. Todas las terapias proteicas están sujetas en cierta medida a inestabilidad física y química, como agregación, desnaturización, reticulación, desamidación, isomerización, oxidación y clipping (Wang et al., J. Pharm. Sci. 96:1-26, 2007). Por lo tanto, el desarrollo óptimo de la formulación es primordial en el desarrollo de productos farmacéuticos proteicos comercialmente viables.

50

55 Las altas concentraciones de proteínas plantean retos relacionados con la estabilidad física y química de la proteína, así como dificultades de fabricación, almacenamiento y suministro de la formulación proteica. Uno de los problemas es la tendencia de las proteínas a agregarse y formar partículas durante el procesado y/o almacenamiento, lo que dificulta las manipulaciones durante el procesado y/o suministro posteriores. La degradación dependiente de la concentración y/o la agregación son retos importantes en el desarrollo de formulaciones proteicas a concentraciones más elevadas. Además del potencial de agregación de proteínas no nativas y de formación de partículas, puede producirse una autoasociación reversible en soluciones acuosas, lo que contribuye, entre otras cosas, a un aumento de la viscosidad que complica la administración por inyección. (Véase, por ejemplo, Steven J. Shire et al., J. Pharm. Sci. 93:1390-1402, 2004. El aumento de la viscosidad es uno de los principales problemas de las composiciones proteínicas concentradas, que afecta tanto a los procesos de producción como a la capacidad de suministrar fácilmente dichas composiciones por medios convencionales. (Véase, por ejemplo, J. Jezek et al., Advanced Drug Delivery Reviews 63:1107-1117, 2011).

60

65 Las formulaciones líquidas muy viscosas son difíciles de fabricar, introducir en una jeringa e inyectar por vía subcutánea o intramuscular. El uso de la fuerza en la manipulación de las formulaciones viscosas puede dar lugar a una formación excesiva de espuma, que puede desnaturizar e inactivar aún más la proteína terapéuticamente activa. Las soluciones

de alta viscosidad también requieren agujas de mayor diámetro para la inyección y producen más dolor en el punto de inyección.

5 Los mAb comerciales actualmente disponibles, administrados por inyección SC o IM, suelen formularse en tampones acuosos, como un tampón fosfato o L-histidina, con excipientes o tensioactivos, como manitol, sacarosa, lactosa, trehalosa, POLOXAMER® (copolímeros tribloque no iónicos compuestos por una cadena central hidrófoba de polioxipropileno (polí(óxido de propileno)) flanqueada por dos cadenas hidrófilas de polioxietileno (polí(óxido de etileno)) o POLYSORBATE® 80 (monolaurato de sorbitán PEG(80)), para evitar la agregación y mejorar la estabilidad. Las 10 concentraciones de anticuerpos formulados según lo descrito anteriormente suelen ser de hasta aproximadamente 100 mg/mL (Wang et al., J. Pharm. Sci. 96:1-26, 2007).

La Patente de EE. UU. N.º 7.758.860 describe la reducción de la viscosidad en formulaciones de proteínas de bajo peso molecular utilizando un tampón y una sal inorgánica reductora de la viscosidad, como el cloruro de calcio o el cloruro de magnesio. Estas mismas sales, sin embargo, mostraron poco efecto sobre la viscosidad de una formulación de 15 anticuerpos de alto peso molecular (IMA-638). Como se describe en la Patente de EE. UU. N.º 7,666,413, la viscosidad de formulaciones acuosas de proteínas de alto peso molecular ha sido reducida por la adición de sales tales como clorhidrato de arginina, tiocianato de sodio, tiocianato de amonio, sulfato de amonio, cloruro de amonio, cloruro de calcio, cloruro de zinc, o acetato de sodio en una concentración mayor de aproximadamente 100 mM o, como se describe en la 20 Patente de EE. UU. N.º 7.740.842, mediante la adición de ácidos orgánicos o inorgánicos. Sin embargo, estas sales no reducen la viscosidad al nivel deseado y, en algunos casos, hacen que la formulación sea tan ácida que es probable que cause dolor en el lugar de la inyección.

La Patente de EE. UU. N.º 7.666.413 describe formulaciones de viscosidad reducida que contienen sales específicas y 25 un mAb anti-IgE reconstituido, pero con una concentración máxima de anticuerpo de sólo hasta aproximadamente 140 mg/mL. La Patente de EE. UU. N.º 7.740.842 describe formulaciones de mAb anti-IgE E25 que contienen tampón acetato/ácido acético con concentraciones de anticuerpo de hasta 257 mg/mL. Se demostró que la adición de sales como NaCl, CaCl₂, o MgCl₂ disminuía la viscosidad dinámica en condiciones de alto cizallamiento; sin embargo, a bajo 30 cizallamiento las sales producían un aumento indeseable y drástico de la viscosidad dinámica. Además, las sales inorgánicas como el NaCl pueden reducir la viscosidad de la solución y/o disminuir la agregación (documento EP 1981824).

También se han descrito formulaciones no acuosas de anticuerpos o proteínas. El documento WO2006/071693 describe 35 una suspensión no acuosa de hasta 100 mg/mL de mAb en una formulación que tiene un potenciador de la viscosidad (polivinilpirrolidona, PVP) y un disolvente (benzoato de bencilo o PEG 400). El documento WO2004/089335 describe formulaciones no acuosas de 100 mg/mL de lisozima en suspensión que contienen PVP, glicofurol, benzoato de bencilo, 40 alcohol bencílico o PEG 400. El documento US2008/0226689A1 describe formulaciones monofásicas, no acuosas y viscosas de 100 mg/mL de hormona de crecimiento humano (hGH) con tres componentes vehiculares (polímero, tensioactivo y un disolvente). La Patente de EE. UU. N.º 6.730.328 describe vehículos no acuosos, hidrófobos y no polares de baja reactividad, como la perfluorodecalina, para formulaciones proteicas. Estas formulaciones no son óptimas y presentan viscosidades elevadas que dificultan el procesamiento, la fabricación y la inyección; conducen a la presencia de múltiples componentes de vehículos en las formulaciones; y presentan posibles retos normativos asociados al uso de 45 polímeros aún no aprobados por el FDA.

Se han descrito formulaciones alternativas no acuosas de proteínas o anticuerpos que utilizan disolventes orgánicos, 50 como benzoato de bencilo (Miller et al., Langmuir 26:1067-1074, 2010), acetato de bencilo, etanol o metiletilcetona (Srinivasan et al., Pharm. Res. 30:1749-1757, 2013). En ambos casos, se alcanzaron viscosidades inferiores a 50 mPa.s (centipoise (cP)) tras la formulación a concentraciones de proteína de al menos aproximadamente 200 mg/mL. La Patente de EE. UU. N.º 6.252.055 describe formulaciones de mAb con concentraciones que van desde 100 mg/mL hasta 257 mg/mL. Las formulaciones con concentraciones superiores a aproximadamente 189 mg/mL demostraron viscosidades 55 drásticamente aumentadas, bajas tasas de recuperación y dificultad de procesamiento. La Publicación de Patente de EE. UU. N.º 2012/0230982 describe formulaciones de anticuerpos con concentraciones de 100 mg/mL a 200 mg/mL. Ninguna de estas formulaciones tiene una viscosidad lo suficientemente baja para facilitar la inyección.

Du y Klibanov (Biotechnology and Bioengineering 108:632-636, 2011) describieron la viscosidad reducida de soluciones 60 acuosas concentradas de albúmina sérica bovina con una concentración máxima de hasta 400 mg/mL y de gammaglobulina bovina con una concentración máxima de hasta 300 mg/mL. Guo et al. (Pharmaceutical Research 29:3102-3109, 2012) describieron soluciones acuosas de baja viscosidad de cuatro mAbs modelo logradas utilizando sales hidrofóbicas. La formulación de mAb empleada por Guo tenía una viscosidad inicial, antes de añadir las sales, no superior a 73 mPa.s (cP). Por otra parte, la viscosidad de muchos mAbs de importancia farmacéutica puede superar los 1.000 mPa.s (cP) a concentraciones terapéuticamente relevantes.

No es trivial controlar la agregación y la viscosidad en soluciones de mAb de alta concentración (EP 2538973). Prueba de ello son los pocos productos mAb comercializados actualmente como formulaciones de alta concentración (> 100 mg/mL) (EP 2538973).

65 El documento WO 2011/139718 divulga "el uso de determinados compuestos que incluyen, por ejemplo, determinados aminoácidos cargados y análogos estructurales de los mismos, para reducir la viscosidad de las formulaciones acuosas

que contienen proteínas".

5 Las referencias citadas anteriormente demuestran que, aunque muchos grupos han intentado preparar formulaciones de baja viscosidad de mAbs y otras proteínas de importancia terapéutica, aún no se ha logrado una formulación verdaderamente útil para muchas proteínas. Cabe destacar que muchos de los informes mencionados emplean agentes cuyos perfiles de seguridad y toxicidad aún no se han establecido por completo. Por lo tanto, estas formulaciones se enfrentarían a una mayor carga reglamentaria antes de su aprobación que las formulaciones que contienen compuestos conocidos por su inocuidad. De hecho, incluso si se demostrara que un compuesto reduce sustancialmente la viscosidad, el compuesto podría ser inadecuado en última instancia para su uso en una formulación destinada a ser inyectada en un 10 ser humano.

15 Muchas proteínas de alto peso molecular de importancia farmacéutica, como los mAbs, se administran actualmente mediante infusiones intravenosas para suministrar cantidades terapéuticamente eficaces de proteínas, debido a los problemas que plantean la alta viscosidad y otras propiedades de las soluciones concentradas de proteínas de gran tamaño. Por ejemplo, para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de muchas proteínas de alto peso molecular, como los mAbs, en volúmenes inferiores a aproximadamente 2 mL, a menudo se requieren concentraciones de proteínas superiores a 150 mg/mL.

20 Es, por tanto, un objeto de la presente invención proporcionar formulaciones líquidas concentradas y de baja viscosidad de proteínas farmacéuticamente importantes, especialmente proteínas de alto peso molecular, como los mAbs.

25 Otro objeto de la presente invención es proporcionar formulaciones líquidas concentradas de baja viscosidad de proteínas, especialmente proteínas de alto peso molecular, como mAbs, capaces de administrar cantidades terapéuticamente eficaces de estas proteínas en volúmenes útiles para inyecciones SC e IM.

30 Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar las formulaciones líquidas concentradas de proteínas, especialmente proteínas de alto peso molecular, como mAbs, con viscosidades bajas que pueden mejorar la inyectabilidad y/o el cumplimiento del paciente, la conveniencia y la comodidad.

35 También es objeto de la presente invención proporcionar métodos para fabricar y almacenar formulaciones concentradas de baja viscosidad de proteínas, especialmente proteínas de alto peso molecular, como los mAbs.

40 Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar métodos de administración de formulaciones líquidas concentradas de baja viscosidad de proteínas, especialmente proteínas de alto peso molecular, como mAbs. Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar métodos para procesar biologías de viscosidad reducida y alta concentración con técnicas de concentración y filtración conocidas por los expertos en la materia.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

45 Se han desarrollado formulaciones farmacéuticas líquidas de proteínas concentradas, de baja viscosidad y volumen. Estas formulaciones pueden administrarse rápida y cómodamente mediante inyección subcutánea (SC) o intramuscular (IM), en lugar de mediante una larga infusión intravenosa. Las formulaciones de la invención se describen en las reivindicaciones adjuntas e incluyen proteínas de alto peso molecular, como los mAbs, y agentes reductores de la viscosidad que suelen ser compuestos orgánicos polares voluminosos, como muchos de los GRAS (lista de compuestos generalmente considerados seguros del Organismo para el Control de Alimentos y Medicamentos de EE.UU.), ingredientes inyectables inactivos y terapéuticos aprobados por el FDA.

50 La concentración de proteínas está entre aproximadamente 10 mg/mL y aproximadamente 5.000 mg/mL, más preferiblemente entre aproximadamente 100 mg/mL y aproximadamente 2.000 mg/mL. En algunas realizaciones, la concentración de proteínas está entre aproximadamente 100 mg/mL y aproximadamente 500 mg/mL, más preferiblemente entre aproximadamente 300 mg/mL y aproximadamente 500 mg/mL. Las formulaciones que contienen proteínas y agentes reductores de la viscosidad son estables cuando se almacenan a una temperatura de 4° C, durante un período de al menos un mes, preferiblemente de al menos dos meses, y más preferiblemente de al menos tres meses. La viscosidad de la formulación es inferior a aproximadamente 75 mPa.s (cP), preferiblemente inferior a 50 mPa.s (cP), y más preferiblemente inferior a 20 mPa.s (cP) a aproximadamente 25° C. En algunas realizaciones, la viscosidad es inferior a aproximadamente 15 mPa.s (cP) o incluso inferior a o aproximadamente 10 mPa.s (cP) a aproximadamente 25° C. En ciertas realizaciones, la viscosidad de la formulación es de aproximadamente 10 mPa.s (cP). Las formulaciones que contienen proteínas y agentes reductores de la viscosidad suelen medirse a velocidades de cizallamiento de entre 0,6 s⁻¹ y 450 s⁻¹, y preferiblemente de entre 2 s⁻¹ y 400 s⁻¹, cuando se miden con un viscosímetro de cono y placa. Las 55 formulaciones que contienen proteínas y agentes reductores de la viscosidad se miden típicamente a velocidades de cizallamiento de aproximadamente 3 s⁻¹ a aproximadamente 55.000 s⁻¹, y preferentemente de aproximadamente 20 s⁻¹ a aproximadamente 2.000 s⁻¹, cuando se miden utilizando un viscosímetro microfluídico.

60 La viscosidad de la formulación proteica se reduce mediante la presencia de uno o más agentes reductores de la viscosidad, tal como se definen en las reivindicaciones adjuntas. A menos que se indique específicamente lo contrario, el término "agente reductor de la viscosidad" incluye tanto los compuestos simples como las mezclas de dos o más

compuestos. Se prefiere que el agente reductor de la viscosidad esté presente en la formulación en una concentración inferior a aproximadamente 1,0 M, preferiblemente inferior a aproximadamente 0,50 M, más preferiblemente inferior a aproximadamente 0,30 M, y lo más preferiblemente inferior a aproximadamente 0,15 M. En algunas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad está presente en la formulación en concentraciones tan bajas como 0,01 M. Las formulaciones pueden tener una viscosidad que sea al menos aproximadamente un 30% menor, preferiblemente al menos aproximadamente un 50% menor, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente un 75% menor que la viscosidad de la formulación correspondiente en las mismas condiciones excepto por la sustitución del agente reductor de la viscosidad por un tampón o sal apropiados de aproximadamente la misma concentración. En algunas realizaciones, se proporciona una formulación de baja viscosidad en la que la viscosidad de la formulación correspondiente sin el agente reductor de la viscosidad es superior a aproximadamente 200 mPa.s (cP), superior a aproximadamente 500 mPa.s (cP), o incluso superior a aproximadamente 1.000 mPa.s (cP). En una realización preferida, la velocidad de cizallamiento de la formulación es de al menos 0,5 s⁻¹, cuando se mide utilizando un viscosímetro de cono y placa, o de al menos 1,0 s⁻¹, cuando se mide utilizando un viscosímetro microfluídico.

5 Para las realizaciones en las que la proteína es una "proteína de alto peso molecular", la proteína de alto peso molecular puede tener un peso molecular entre aproximadamente 100 kDa y aproximadamente 1.000 kDa, preferiblemente entre aproximadamente 120 kDa y aproximadamente 500 kDa, y más preferiblemente entre aproximadamente 120 kDa y aproximadamente 250 kDa. La proteína de alto peso molecular es un anticuerpo, como un mAb, o un PEGilado, o una forma derivatizada del mismo. Los mAbs preferidos son natalizumab (TYSABRI®), cetuximab (ERBITUX®), bevacizumab (AVASTIN®), trastuzumab (HERCEPTIN®), infliximab (REMICADE®), rituximab (RITUXAN®), panitumumab (VECTIBIX®), ofatumumab (ARZERRA®) y sus biosimilares.

10 15 20 25

En algunas realizaciones, la proteína y el agente reductor de la viscosidad se suministran en una unidad de dosificación liofilizada, dimensionada para su reconstitución con un vehículo acuoso estéril farmacéuticamente aceptable, para producir las formulaciones líquidas concentradas de baja viscosidad. La presencia del (de los) agente(s) reductor(es) de la viscosidad facilita y/o acelera la reconstitución de la unidad de dosificación liofilizada en comparación con una unidad de dosificación liofilizada que no contenga un agente reductor de la viscosidad.

30 En el presente documento se proporcionan métodos para preparar formulaciones líquidas concentradas de baja viscosidad de proteínas de alto peso molecular, como los mAbs, así como métodos para almacenar las formulaciones proteicas de baja viscosidad y alta concentración, y para administrarlas a los pacientes. En otra realización, el agente reductor de la viscosidad se añade para facilitar el procesamiento (por ejemplo, bombeo, concentración y/o filtración) reduciendo la viscosidad de las soluciones proteicas.

35 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 representa la viscosidad en cP en función de la concentración de proteína (en mg/mL) para soluciones de cetuximab biosimilar (ERBITUX®) en tampón fosfato 0,25 M (PB; rombos) y una solución que contiene ácido canfor sulfónico L-lisina 0,25 M (CSAL; cuadrados) a 25°C y pH final de 7,0. Los puntos de datos incorporan desviaciones típicas que, sin embargo, suelen ser menores que los símbolos.

40 La Figura 2 representa la viscosidad en cP en función de la concentración de proteína (en mg/mL) para soluciones de bevacizumab biosimilar (AVASTIN®) en tampón fosfato 0,25 M (PB; rombos) y CSAL 0,25 M (cuadrados) a 25°C y pH final de 7,0. Los puntos de datos incorporan desviaciones típicas que, sin embargo, suelen ser menores que los símbolos.

45 La Figura 3 es un gráfico de la viscosidad (cP) de soluciones acuosas de 200 ± 9 mg/mL de bevacizumab biosimilar (AVASTIN®) en función del pH a lo largo del eje x que contienen tampón fosfato-citrato o ácido canfor sulfónico arginina (CSAA) a una concentración de 0,25 M.

50 La Figura 4 es un gráfico de barras que compara el pliegue de reducción de la viscosidad en función del pH para soluciones acuosas que contienen bevacizumab biosimilar (AVASTIN®; a aproximadamente 200 mg/mL o 226 mg/mL) y arginina de ácido canfor sulfónico 0,25 M (CSAA). La reducción del pliegue se calcula como la relación entre la viscosidad (cP) en el tampón fosfato-citrato y la viscosidad (cP) en la solución 0,25 M de CSAA.

55 La Figura 5 es un gráfico de la viscosidad (cP) de soluciones acuosas de cetuximab biosimilar (ERBITUX®; a 202 ± 5 mg/mL, 229 ± 5 mg/mL, o 253 ± 4 mg/mL) que contienen CSAA 0,25 M en función del pH a lo largo del eje x a 25°C.

60 La Figura 6 es una traza de cromatografía de exclusión por tamaño que representa la intensidad de absorbancia (a 280 nm) en función del tiempo de elución (en minutos) para una solución acuosa de 220 mg/mL de REMICADE® almacenada a 4°C durante un máximo de 100 días, en comparación con el producto farmacéutico comercial recién reconstituido.

65 La Figura 7 representa la viscosidad (cP) en función de la concentración de proteína (mg/mL) de soluciones acuosas de bevacizumab biosimilar (AVASTIN®) en tampón fosfato 0,25 M, 0,10 M o 0,25 M APMI*2HCl ((1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol bis-HCl).

La Figura 8 representa la viscosidad (cP) en función de la concentración de proteína (mg/mL) de soluciones acuosas de bevacizumab biosimilar (AVASTIN®) en tampón fosfato 0,25 M, pirofosfato de tiamina (TPP) 0,10 M, o TPP1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (APMI) 0,10 M.

La Figura 9 representa la viscosidad (cP) de soluciones acuosas de golimumab (SIMPONI ARIA®) en función de la concentración de proteína (mg/mL) con tampón fosfato 0,15 M o tiamina HCl 0,15 M.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

I. DEFINICIONES

5 El término "proteína", tal y como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a un polímero de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos para formar un polipéptido cuya longitud de cadena es suficiente para producir al menos una estructura terciaria detectable. Las proteínas con un peso molecular (expresado en kDa, donde "Da" significa "Daltons" y 1 kDa = 1.000 Da) superior a aproximadamente 100 kDa pueden denominarse "proteínas de alto peso molecular", mientras que las proteínas con un peso molecular inferior a aproximadamente 100 kDa pueden denominarse "proteínas de bajo peso molecular". El término "proteína de bajo peso molecular" excluye los péptidos pequeños que carecen del requisito de al menos estructura terciaria necesario para ser considerados una proteína. El peso molecular de la proteína puede determinarse mediante métodos estándar conocidos por los expertos en la materia, incluidos, entre otros, la espectrometría de masas (por ejemplo, ESI, MALDI) o el cálculo a partir de secuencias de aminoácidos y glicosilación conocidas. Las proteínas pueden ser naturales o no naturales, sintéticas o semisintéticas.

10 15 "Proteína(s) esencialmente pura(s)" y "proteína(s) sustancialmente pura(s)" se utilizan indistintamente en el presente documento y se refieren a una composición que comprende al menos un 90% en peso de proteína pura, preferiblemente al menos un 95% en peso de proteína pura. "Esencialmente homogénea" y "sustancialmente homogénea" se utilizan indistintamente en el presente documento y se refieren a una composición en la que al menos aproximadamente el 90% en peso de la proteína presente es una combinación del monómero y de los asociados di- y oligo-mericos reversibles (no agregados irreversibles), preferiblemente al menos aproximadamente el 95%.

20 25 El término "anticuerpo", tal como se utiliza generalmente en el presente documento, abarca ampliamente los mAbs (incluidos los anticuerpos de longitud completa que tienen una región Fc de inmunoglobulina), las composiciones de anticuerpos con especificidad poliepitópica, los anticuerpos biespecíficos, los diabodies y las moléculas de anticuerpo de cadena simple, así como los fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')2 y Fv), anticuerpos de dominio único, anticuerpos multivalentes de dominio único, proteínas de fusión Fab y fusiones de las mismas.

30 35 40 El término "anticuerpo monoclonal" o "mAb", como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que componen la población son idénticos, excepto por posibles mutaciones naturales que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos, ya que se dirigen contra un único epítopo. Normalmente se sintetizan cultivando células de hibridoma, como describen Kohler et al. (Nature 256: 495, 1975), o puede fabricarse mediante métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Patente de EE. UU. N.º 4.816.567), o aislados a partir de bibliotecas de anticuerpos fago utilizando las técnicas descritas en Clackson et al. (Nature 352: 624-628, 1991) y Marks et al. (J. Mol. Biol., 222: 581-597, 1991), por ejemplo. En el presente documento, los "mAbs" incluyen específicamente los anticuerpos derivados, los conjugados anticuerpo-fármaco y los anticuerpos "químicos". en los que una parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a una clase o subclase particular de anticuerpos, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es(son) idéntica(s) u homóloga(s) a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (Patente de EE. UU. N.º 4,816,567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855, 1984).

45 50 55 Un "fragmento de anticuerpo" comprende una porción de un anticuerpo intacto, incluyendo la unión al antígeno y/o la región variable del anticuerpo intacto. Algunos ejemplos de fragmentos de anticuerpos son los fragmentos Fab, Fab', F(ab')2 y Fv; los diacuerpos; los anticuerpos lineales (véase Patente de EE. UU. N.º 5.641.870; Zapata et al., Protein Eng. 8:1057-1062, 1995); moléculas de anticuerpos de cadena única; anticuerpos multivalentes de dominio único; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) son inmunoglobulinas químéricas, cadenas de inmunoglobulina o fragmentos de las mismas (como Fv, Fab, Fab', F(ab')2 u otras subsecuencias de unión a antígeno de anticuerpos) de secuencias mayoritariamente humanas, que contienen secuencias mínimas derivadas de inmunoglobulina no humana. (Véanse, por ejemplo, Jones et al., Nature 321:522-525, 1986; Reichmann et al., Nature 332:323-329, 1988; y Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596, 1992.)

"Reología" es el estudio de la deformación y el flujo de la materia.

"Viscosidad" se refiere a la resistencia de una sustancia (normalmente un líquido) a fluir. La viscosidad está relacionada con el concepto de fuerza de cizallamiento; puede entenderse como el efecto de las diferentes capas del fluido que ejercen una fuerza de cizallamiento entre sí, o sobre otras superficies, al moverse unas contra otras. Existen varias medidas de viscosidad. Las unidades de viscosidad son Ns/m², conocidos como Pascal-segundo (Pa-s). La viscosidad puede ser "cinemática" o "absoluta". La viscosidad cinemática es una medida de la velocidad a la que se transfiere el impulso a través de un fluido. Se mide en Stokes (St). La viscosidad cinemática es una medida del flujo resistivo de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos de igual volumen y diferente viscosidad se colocan en viscosímetros capilares idénticos y se dejan fluir por gravedad, el fluido más viscoso tarda más que el menos viscoso en fluir a través

5 del capilar. Si, por ejemplo, un fluido tarda 200 segundos (s) en completar su flujo y otro tarda 400 s, el segundo fluido se denomina el doble de viscoso que el primero en una escala de viscosidad cinemática. La dimensión de la viscosidad cinemática es longitud²/tiempo. Comúnmente, la viscosidad cinemática se expresa en centiStokes (cSt). La unidad SI de viscosidad cinemática es mm²/s, que equivale a 1 cSt. La "viscosidad absoluta", a veces denominada "viscosidad dinámica" o "viscosidad simple", es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad SI de viscosidad absoluta es el miliPascal-segundo (mPa·s), donde 1 cP = 1 mPa·s.

10 La viscosidad puede medirse utilizando, por ejemplo, un viscosímetro a una velocidad de cizallamiento determinada o a múltiples velocidades de cizallamiento. Se puede determinar una viscosidad "extrapolada a cizalladura cero" creando una línea de mejor ajuste de los cuatro puntos de mayor cizalladura en un gráfico de viscosidad absoluta *frente a* velocidad de cizalladura, y extrapolando linealmente la viscosidad de vuelta a cizalladura cero. Alternativamente, para un fluido newtoniano, la viscosidad puede determinarse promediando los valores de viscosidad a múltiples velocidades de cizallamiento. La viscosidad también puede medirse utilizando un viscosímetro microfluídico a velocidades de cizallamiento únicas o múltiples (también llamadas velocidades de flujo), en el que la viscosidad absoluta se deriva de un cambio en la presión a medida que un líquido fluye a través de un canal. La viscosidad es igual al esfuerzo cortante sobre la velocidad de cizallamiento. Las viscosidades medidas con viscosímetros microfluídicos pueden, en algunas realizaciones, compararse directamente con viscosidades extrapoladas de cizalla cero, por ejemplo las extrapoladas a partir de viscosidades medidas a múltiples velocidades de cizalla utilizando un viscosímetro de cono y placa.

15 20 "Tasa de cizallamiento" se refiere a la tasa de cambio de velocidad a la que una capa de fluido pasa por encima de una capa adyacente. El gradiente de velocidad es la tasa de cambio de velocidad con la distancia desde las placas. Este caso sencillo muestra el gradiente de velocidad uniforme con velocidad de corte ($v_1 - v_2$)/h en unidades de (cm/seg)/(cm) = 1/seg. Por lo tanto, las unidades de velocidad de corte son segundos recíprocos o, en general, tiempo recíproco. Para un viscosímetro microfluídico, el cambio en la presión y el caudal están relacionados con la velocidad de cizallamiento. "Velocidad de cizallamiento" se refiere a la velocidad con la que se deforma un material. Las formulaciones que contienen proteínas y agentes reductores de la viscosidad se miden normalmente a velocidades de cizallamiento que oscilan entre 0,5 s⁻¹ y 200 s⁻¹ aproximadamente, utilizando un viscosímetro de cono y plato y un husillo elegido adecuadamente por un experto en la materia para medir con precisión las viscosidades en el intervalo de viscosidad de la muestra de interés (es decir, una muestra de 20 mPa·s (cP) se mide con mayor precisión en un husillo CPE40 fijado a un viscosímetro DV2T (Brookfield); mayor de aproximadamente 20 s⁻¹ a aproximadamente 3.000 s⁻¹ cuando se mide utilizando un viscosímetro microfluídico).

25 30 35 40 45 50 55 60 65 Para los fluidos "newtonianos" clásicos, tal como se utilizan generalmente en este documento, la viscosidad es esencialmente independiente de la velocidad de cizallamiento. Sin embargo, para los "fluidos no newtonianos", la viscosidad disminuye o aumenta con el aumento de la velocidad de cizallamiento, es decir, los fluidos se "adelgazan por cizallamiento" o se "espesan por cizallamiento", respectivamente. En el caso de soluciones de proteínas concentradas (es decir, de alta concentración), esto puede manifestarse como un comportamiento pseudoplástico de adelgazamiento por cizallamiento, es decir, una disminución de la viscosidad con la velocidad de cizallamiento. El término "estabilidad química", tal y como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a la capacidad de los componentes proteicos de una formulación para resistir la degradación a través de vías químicas, como la oxidación, la desamidación o la hidrólisis. Se considera que una formulación proteica es químicamente estable si menos del 5% de los componentes se degradan después de 24 meses a 4°C. El término "estabilidad física", tal y como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a la capacidad de una formulación proteica para resistir el deterioro físico, como la agregación. Una formulación físicamente estable sólo forma un porcentaje aceptable de agregados irreversibles (por ejemplo, dímeros, trímeros u otros agregados) del agente proteico bioactivo. La presencia de agregados puede evaluarse de varias maneras, entre ellas midiendo el tamaño medio de las partículas de las proteínas de la formulación mediante dispersión dinámica de la luz. Se considera que una formulación es físicamente estable si se forman menos de un 5% de agregados irreversibles después de 24 meses a 4°C. Idealmente, los niveles aceptables de contaminantes agregados serían inferiores al 2% aproximadamente. Se pueden alcanzar niveles tan bajos como un 0,2%, aunque lo más habitual es un 1% aproximadamente. El término "formulación estable", tal como se utiliza generalmente en el presente documento, significa que una formulación es tanto químicamente estable como físicamente estable. Una formulación estable puede ser aquella en la que más del 95% de las moléculas de proteína bioactiva retienen la bioactividad en una formulación tras 24 meses de almacenamiento a 4°C, o condiciones de solución equivalentes a una temperatura elevada, como un mes de almacenamiento a 40°C. Existen diversas técnicas analíticas para medir la estabilidad de las proteínas y se revisan, por ejemplo, en Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee, Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y. (1991) and Jones, A., Adv. Drug Delivery Revs. 10:29-90, 1993. La estabilidad puede medirse a una temperatura seleccionada durante un periodo de tiempo determinado. Para un cribado rápido, por ejemplo, la formulación puede mantenerse a 40°C, durante 2 semanas a un mes, momento en el que se mide la actividad biológica residual y se compara con la condición inicial para evaluar la estabilidad. Cuando la formulación debe almacenarse a 2°C -8°C, generalmente la formulación debe ser estable a 30°C o 40°C durante al menos un mes y/o estable a 2°C -8°C durante al menos 2 años. Cuando la formulación debe almacenarse a temperatura ambiente, aproximadamente 25°C, generalmente la formulación debe ser estable durante al

menos 2 años a aproximadamente 25°C y/o estable a 40°C durante al menos aproximadamente 6 meses. El grado de agregación tras la liofilización y el almacenamiento puede utilizarse como indicador de la estabilidad de las proteínas. En algunas realizaciones, la estabilidad se evalúa midiendo el tamaño de las partículas de las proteínas en la formulación. En algunas realizaciones, la estabilidad puede evaluarse midiendo la actividad de una formulación mediante ensayos 5 estándar de actividad biológica o de unión que estén dentro de las capacidades de un experto en la materia.

El término proteína "tamaño de partícula", tal como se utiliza generalmente en el presente documento, significa el diámetro medio de la población predominante de partículas de moléculas bioactivas, o distribuciones de tamaño de partícula de las 10 mismas, en una formulación, tal como se determina mediante el uso de instrumentos bien conocidos de tamaño de partícula, por ejemplo, dispersión de luz dinámica, SEC (cromatografía de exclusión por tamaño), u otros métodos conocidos por un experto ordinario en la materia.

El término "concentrado" o "de alta concentración", como se utiliza generalmente en este documento, describe 15 formulaciones líquidas que tienen una concentración final de proteína superior a aproximadamente 10 mg/mL, preferiblemente superior a aproximadamente 50 mg/mL, más preferiblemente superior a aproximadamente 100 mg/mL, aún más preferiblemente superior a aproximadamente 200 mg/mL, o más preferiblemente superior a aproximadamente 250 mg/mL.

Una "formulación reconstituida", tal como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a una formulación 20 que se ha preparado disolviendo una proteína en polvo seco, liofilizada, secada por pulverización o precipitada con disolvente en un diluyente, de forma que la proteína se disuelve o dispersa en una solución acuosa para su administración. Un "lioprotector" es una sustancia que, cuando se combina con una proteína, reduce significativamente la inestabilidad 25 química y/o física de la proteína durante la liofilización y/o el almacenamiento posterior. Algunos ejemplos de lioprotectores son azúcares y sus correspondientes alcoholes de azúcar, como sacarosa, lactosa, trehalosa, dextrano, eritritol, arabinol, xilitol, sorbitol y manitol; aminoácidos, como arginina o histidina; sales liotrópicas, como sulfato de magnesio; polioles, como propilenglicol, glicerol, polí(etilenglicol) o polí(propilenglicol); y combinaciones de los mismos. Otros ejemplos de licoprotectores son la gelatina, las dextrinas, el almidón modificado y la carboximetilcelulosa. Los alcoholes de azúcar 30 preferidos son los compuestos obtenidos por reducción de monosacáridos y disacáridos, como la lactosa, la trehalosa, la maltosa, la lactulosa y la maltulosa. Otros ejemplos de alcoholes de azúcar son el glucitol, el maltitol, el lactitol y la isomaltulosa. El lioprotector se añade generalmente a la formulación preliofilizada en una "cantidad lioprotectora". Esto significa que, tras la liofilización de la proteína en presencia de la cantidad lioprotectora del lioprotector, la proteína conserva esencialmente su estabilidad e integridad física y química.

Un "diluyente" o "portador", como se utiliza generalmente en el presente documento, es un ingrediente farmacéuticamente 35 aceptable (es decir, seguro y no tóxico para la administración a un ser humano u otro mamífero) y útil para la preparación de una formulación líquida, como una formulación acuosa reconstituida tras liofilización. Los diluyentes ejemplares incluyen agua estéril, agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución de pH tamponado (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa, y combinaciones de los mismos.

Un "conservante" es un compuesto que puede añadirse a las formulaciones aquí descritas para reducir la contaminación 40 por y/o la acción de bacterias, hongos u otro agente infeccioso. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación multiuso (dosis múltiple). Algunos ejemplos de posibles conservantes son el cloruro de octadecildimetilbencilmamonio, el cloruro de hexametonio, el cloruro de benzalconio (una mezcla de cloruros de 45 alquilbencildimetilamonio en la que los grupos alquilo son de cadena larga) y el cloruro de bencetonio. Otros tipos de conservantes son los alcoholes aromáticos como el fenol, el alcohol butílico y el bencílico, los alquilparabenos como el metil o el propilparabeno, el catecol, el resorcinol, el ciclohexanol, el 3-pentanol y el *m-cresol*.

Un "agente de carga", como se utiliza generalmente en el presente documento, es un compuesto que añade masa a una mezcla liofilizada y contribuye a la estructura física de la torta liofilizada (por ejemplo, facilita la producción de una torta 50 liofilizada esencialmente uniforme que mantiene una estructura de poros abierta). Algunos agentes de carga ejemplares son el manitol, la glicina, la lactosa, el almidón modificado, el polí(etilenglicol) y el sorbitol.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" es la concentración mínima requerida para lograr una mejoría mensurable o la 55 prevención de cualquier síntoma o de una afección o trastorno particular, para lograr un aumento mensurable de la esperanza de vida o para mejorar en general la calidad de vida del paciente. La cantidad terapéuticamente eficaz depende de la molécula biológicamente activa específica y de la afección o trastorno concreto que se vaya a tratar. Las cantidades terapéuticamente eficaces de muchas proteínas, como los mAbs aquí descritos, son bien conocidas en la técnica. Las 60 cantidades terapéuticamente eficaces de proteínas aún no establecidas o para tratar trastornos específicos con proteínas conocidas, como mAbs, que se aplicarán clínicamente para tratar trastornos adicionales pueden determinarse mediante técnicas estándar que están bien al alcance de un artesano experto, como un médico.

El término "inyectabilidad" o "jeringabilidad", tal y como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a la 65 capacidad de inyección de una formulación farmacéutica a través de una jeringa equipada con una aguja de calibre 18-32, opcionalmente de paredes finas. La inyectabilidad depende de factores como la presión o la fuerza necesarias para la inyección, la uniformidad del flujo, las cualidades de aspiración y la ausencia de obstrucciones. La inyectabilidad de las

5 formulaciones farmacéuticas líquidas puede evaluarse comparando la fuerza de inyección de una formulación de viscosidad reducida con una formulación estándar sin agentes reductores de la viscosidad añadidos. La reducción de la fuerza de inyección de la formulación que contiene un agente reductor de la viscosidad refleja una mejor inyectabilidad de dicha formulación. Las formulaciones de viscosidad reducida tienen una inyectabilidad mejorada cuando la fuerza de inyección se reduce en al menos un 10%, preferiblemente en al menos un 30%, más preferiblemente en al menos un 10% 10 50%, y lo más preferiblemente en al menos un 75% en comparación con una formulación estándar que tenga la misma concentración de proteína en las mismas condiciones, excepto por la sustitución del agente reductor de la viscosidad por un tampón apropiado de aproximadamente la misma concentración. Alternativamente, la inyectabilidad de las formulaciones farmacéuticas líquidas puede evaluarse comparando el tiempo necesario para inyectar el mismo volumen, como 0,5 mL, o más preferiblemente alrededor de 1 mL, de diferentes formulaciones proteicas líquidas cuando se presiona la jeringa con la misma fuerza.

15 El término "fuerza de inyección", tal como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a la fuerza necesaria para empujar una formulación líquida determinada a través de una jeringa determinada equipada con un calibre de aguja determinado a una velocidad de inyección determinada. La fuerza de inyección suele expresarse en newtons. Por ejemplo, la fuerza de inyección puede medirse como la fuerza necesaria para empujar una formulación líquida a través de una jeringa de plástico de 1 ml con un diámetro interior de 6,4 mm (0,25 pulgadas), equipada con una aguja de calibre 27 de 13 mm (0,50 pulgadas) a una velocidad de inyección de 250 mm/min. Para medir la fuerza de inyección pueden 20 utilizarse equipos de ensayo. Cuando se mide en las mismas condiciones, una formulación con menor viscosidad requerirá en general una fuerza de inyección menor.

25 El "gradiente de viscosidad", tal como se utiliza aquí, se refiere a la velocidad de cambio de la viscosidad de una solución proteica a medida que aumenta la concentración de proteína. El gradiente de viscosidad puede aproximarse a partir de un gráfico de la viscosidad en función de la concentración de proteínas para una serie de formulaciones que, por lo demás, 30 son iguales pero tienen diferentes concentraciones de proteínas. La viscosidad aumenta de forma aproximadamente exponencial con el aumento de la concentración de proteínas. El gradiente de viscosidad a una concentración específica de proteína puede aproximarse a partir de la pendiente de una línea tangente al gráfico de la viscosidad en función de la concentración de proteína. El gradiente de viscosidad puede aproximarse a partir de una aproximación lineal al gráfico de la viscosidad en función de cualquier concentración de proteína o sobre una ventana estrecha de concentraciones de 35 proteína. En algunas realizaciones, se dice que una formulación tiene un gradiente de viscosidad disminuido si, cuando la viscosidad como función de la concentración de proteína se aproxima como una función exponencial, el exponente de la función exponencial es menor que el exponente obtenido para la misma formulación sin el agente reductor de la viscosidad. De manera similar, puede decirse que una formulación tiene un gradiente de viscosidad menor/mayor en comparación con una segunda formulación si el exponente de la formulación es menor/mayor que el exponente de la segunda formulación. El gradiente de viscosidad puede aproximarse numéricamente a partir de un gráfico de la viscosidad en función de la concentración de proteína mediante otros métodos conocidos por los investigadores expertos en formulación.

40 El término "formulación de viscosidad reducida", como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a una formulación líquida que tiene una alta concentración de una proteína de alto peso molecular, como un mAb, o una proteína de bajo peso molecular que se modifica por la presencia de uno o más aditivos para reducir la viscosidad, en comparación con una formulación correspondiente que no contiene el aditivo o aditivos reductores de la viscosidad.

45 El término "osmolaridad", tal como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere al número total de componentes disueltos por litro. La osmolaridad es similar a la molaridad, pero incluye el número total de moles de especies disueltas en la solución. Una osmolaridad de 1 Osm/L significa que hay 1 mol de componentes disueltos por L de solución. Algunos solutos, como los solutos iónicos que se disocian en solución, aportarán más de 1 mol de componentes disueltos por mol de soluto en la solución. Por ejemplo, el NaCl se disocia en Na^+ y Cl^- en solución y proporciona así 2 moles de componentes disueltos por 1 mol de NaCl disuelto en solución. La osmolaridad fisiológica suele estar entre 280 mOsm/L y 310 mOsm/L.

50 El término "tonicidad", tal como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere al gradiente de presión osmótica resultante de la separación de dos soluciones por una membrana semipermeable. En concreto, la tonicidad se utiliza para describir la presión osmótica que se crea a través de la membrana celular cuando una célula se expone a una solución externa. Los solutos que pueden atravesar la membrana celular no contribuyen al gradiente de presión osmótica final. Sólo las especies disueltas que no atraviesan la membrana celular contribuirán a las diferencias de presión osmótica y, por tanto, a la tonicidad.

60 El término "hipertónica", tal y como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a una solución con una concentración de solutos superior a la presente en el interior de la célula. Cuando se sumerge una célula en una solución hipertónica, el agua tiende a salir de la célula para equilibrar la concentración de solutos.

65 El término "hipotónica", tal y como se utiliza generalmente en el presente documento, se refiere a una solución con una concentración de solutos inferior a la presente en el interior de la célula. Cuando una célula se sumerge en una solución hipotónica, el agua fluye hacia el interior de la célula para equilibrar la concentración de los solutos.

El término "isotónica", tal y como se utiliza aquí, se refiere a una solución en la que el gradiente de presión osmótica a través de la membrana celular está esencialmente equilibrado. Una formulación isotónica es aquella que tiene esencialmente la misma presión osmótica que la sangre humana. Las formulaciones isotónicas tendrán generalmente una presión osmótica de aproximadamente 250 mOsm/kg a 350 mOsm/kg.

5 El término "formulación líquida", tal como se utiliza aquí, es una proteína que se suministra en un diluyente farmacéutico aceptable o que se reconstituye en un diluyente farmacéutico aceptable antes de su administración al paciente.

10 Los términos "de marca" y "de referencia", cuando se emplean para referirse a una proteína o producto biológico, se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse al producto biológico único autorizado en virtud de la sección 351(a) de la Ley de Servicios de Salud Pública de EE. UU. (42 U.S.C. § 262).

15 El término "biosimilar", tal y como se utiliza en el presente documento, suele emplearse indistintamente con "un equivalente genérico" o "de continuación". Por ejemplo, un "mAb biosimilar" se refiere a una versión posterior de un mAb innovador fabricado normalmente por una empresa diferente. "Biosimilar" cuando se utiliza en referencia a una proteína de marca o biológico de marca puede referirse a un producto biológico evaluado frente a la proteína de marca o biológico de marca y autorizado en virtud de la sección 351(k) de la Ley de Servicios de Salud Pública de EE. UU. (42 U.S.C. § 262). Un mAb biosimilar puede ser uno que satisfaga una o más directrices adoptadas el 30 de mayo de 2012 por el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) de la Agencia Europea de Medicamentos y publicadas por la Unión Europea como "Directriz sobre medicamentos biológicos similares que contienen anticuerpos monoclonales - aspectos no clínicos y clínicos" (Referencia de documento EMA/CHMP/BMWP/403543/2010).

20 25 Los biosimilares pueden ser producidos por células microbianas (procariotas, eucariotas), líneas celulares de origen humano o animal (por ejemplo, mamíferos, aves, insectos) o tejidos derivados de animales o plantas. La construcción de expresión para un producto biosimilar propuesto codificará generalmente la misma secuencia primaria de aminoácidos que su producto de referencia. Puede haber modificaciones menores, como truncamientos de los terminales N o C que no afecten a la seguridad, pureza o potencia.

30 35 Un mAb biosimilar es similar al mAb de referencia desde el punto de vista fisicoquímico o biológico, tanto en términos de seguridad como de eficacia. El mAb biosimilar puede evaluarse frente a un mAb de referencia mediante uno o más estudios *in vitro* que incluyan ensayos que detallen la unión al antígeno o antígenos diana; la unión a isoformas de los receptores gamma Fc (FcγRI, FcγRII y FcγRIII), FcRn y complemento (C1q); funciones asociadas a Fab (p. ej., neutralización del ligando soluble, activación o bloqueo del receptor); o funciones asociadas a Fc (p. ej., citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, activación o bloqueo del complemento). Las comparaciones *in vitro* pueden combinarse con datos *in vivo* que demuestren la similitud de la farmacocinética, la farmacodinámica y/o la seguridad. Las evaluaciones clínicas de un mAb biosimilar frente a un mAb de referencia pueden incluir comparaciones de propiedades farmacocinéticas (por ejemplo, AUC_{0-inf}, AUC_{0-t}, C_{max}, t_{max}, C_{trough}); criterios de valoración farmacodinámicos; o similitud de la eficacia clínica (por ejemplo, mediante ensayos clínicos comparativos aleatorizados de grupos paralelos). La comparación de calidad entre un mAb biosimilar y un mAb de referencia puede evaluarse mediante procedimientos establecidos, incluidos los descritos en la "Guía sobre medicamentos biológicos similares que contienen proteínas derivadas de la biotecnología como principio activo": Cuestiones de calidad" (EMEA/CHMP/BWP/49348/2005), y la "Directriz sobre desarrollo, producción, caracterización y especificaciones para anticuerpos monoclonales y sustancias relacionadas" (EMEA/CHMP/BWP/157653/2007).

40 45 50 Las diferencias entre un mAb biosimilar y un mAb de referencia pueden incluir la modificación postraduccional, por ejemplo, uniendo al mAb otros grupos bioquímicos como un fosfato, varios lípidos y carbohidratos; por escisión proteolítica tras la traducción; cambiando la naturaleza química de un aminoácido (por ejemplo, formilación); o por muchos otros mecanismos. Otras modificaciones postraduccionales pueden ser consecuencia de las operaciones del proceso de fabricación; por ejemplo, la glicación puede producirse con la exposición del producto a azúcares reductores. En otros casos, las condiciones de almacenamiento pueden permitir ciertas vías de degradación, como la oxidación, la desamidación o la agregación. Como todas estas variantes relacionadas con el producto pueden incluirse en un mAb biosimilar.

55 60 65 El término "agente reductor de la viscosidad", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un compuesto que actúa para reducir la viscosidad de una solución en relación con la viscosidad de la solución sin el agente reductor de la viscosidad. El agente reductor de la viscosidad puede ser un único compuesto o una mezcla de uno o más compuestos. Cuando el agente reductor de la viscosidad es una mezcla de dos o más compuestos, la concentración indicada se refiere a cada agente individual, a menos que se especifique lo contrario. A modo de ejemplo, una formulación que contiene aproximadamente 0,25 M de ácido canforsulfónico arginina como agente reductor de la viscosidad es una solución que tiene ácido canforsulfónico en una concentración de 0,25 M, y arginina en una concentración de 0,25 M. Algunos agentes reductores de la viscosidad contienen grupos funcionales ácidos o básicos. La ionización total o parcial de estos grupos funcionales depende del pH de la formulación en la que se encuentran. A menos que se especifique lo contrario, la referencia a una formulación que contiene un agente reductor de la viscosidad con un grupo funcional ionizable incluye tanto el compuesto original como cualquier posible estado ionizado.

Como se utiliza aquí, el término "donante de enlace de hidrógeno" se refiere a un átomo de hidrógeno conectado a un

átomo relativamente electronegativo, que crea una carga positiva parcial en el átomo de hidrógeno. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "aceptor de enlace de hidrógeno" se refiere a un átomo o grupo funcional relativamente electronegativo capaz de interactuar con un átomo de hidrógeno con una carga positiva parcial. Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "enlace de rotación libre" se refiere a cualquier par de átomos de no hidrógeno enlazados individualmente.

5 Tal como se utiliza aquí, el término "área de superficie polar molecular" se refiere al área polar total expuesta en la superficie de la molécula de interés.

10 Tal como se utiliza aquí, el término "volumen molar" se refiere al volumen total que ocupa un mol de la molécula de interés en su estado nativo (es decir, sólido, líquido).

15 Tal como se utiliza aquí, el término "polarizabilidad" se refiere al momento dipolar inducido cuando la molécula de interés se coloca en un campo eléctrico de intensidad unitaria.

20 Como se utiliza aquí, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de ácidos y bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos y bases inorgánicos, y ácidos y bases orgánicos. Los ácidos no tóxicos adecuados incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos como acético, bencenosulfónico, benzoico, canforesulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetonico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mágico, nítrico, pamólico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares. Entre los contraíones de carga positiva adecuados se encuentran el sodio, el potasio, el litio, el calcio y el magnesio.

25 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "líquido iónico" se refiere a una sal cristalina o amorfa, zwitterión o mezcla de los mismos que es un líquido a temperaturas iguales o cercanas a las temperaturas a las que la mayoría de las sales convencionales son sólidas: a menos de 200°C, preferiblemente a menos de 100°C o más preferiblemente a menos de 80°C. Algunos líquidos iónicos tienen temperaturas de fusión en torno a la temperatura ambiente, por ejemplo entre 10°C y 40°C, o entre 15°C y 35°C. El término "zwitterión" se utiliza aquí para describir una molécula con carga neutra global que lleva cargas formales positivas y negativas en diferentes grupos químicos de la molécula. Algunos ejemplos de líquidos iónicos se describen en Riduan et al., *Chem. Soc. Rev.*, 42:9055-9070, 2013; Rantwijk et al., *Chem. Rev.*, 107:2757-2785, 2007; Earle et al., *Pure Appl. Chem.*, 72(7):1391-1398, 2000; y Sheldon et al., *Green Chem.*, 4:147-151, 2002.

30 Tal como se utiliza aquí, el término "organofosfato" se refiere a un compuesto que contiene uno o más grupos fosforilo, al menos uno de los cuales está unido covalentemente a un grupo orgánico mediante un enlace fosfoéster.

35 Como se utiliza aquí, un "tinte orgánico soluble en agua" es una molécula orgánica que tiene una solubilidad molar de al menos 0,001 M a 25°C y pH 7, y que absorbe ciertas longitudes de onda de la luz, preferentemente en la porción visible a infrarroja del espectro electromagnético, mientras que posiblemente transmite o refleja otras longitudes de onda de la luz.

40 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "calcógeno" se refiere a los elementos del Grupo 16, incluidos el oxígeno, el azufre y el selenio, en cualquier estado de oxidación. Por ejemplo, a menos que se especifique lo contrario, el término "calcógeno" también incluye el SO₂.

45 Tal como se utiliza aquí, el término "grupo alquilo" se refiere a grupos de hidrocarburos de cadena recta, ramificada y cíclica. A menos que se especifique lo contrario, el término grupo alquilo engloba los grupos hidrocarburos que contienen uno o más enlaces dobles o triples. Un grupo alquilo que contiene al menos un sistema de anillos es un grupo "cicloalquilo". Un grupo alquilo que contenga al menos un doble enlace es un "grupo alquenilo", y un grupo alquilo que contenga al menos un triple enlace es un "grupo alquinilo".

50 El término "arilo" se refiere a los sistemas de anillos de carbono aromáticos, incluidos los sistemas de anillos fusionados. En un grupo "arilo", cada uno de los átomos que forman el anillo son átomos de carbono.

55 El término "heteroarilo" se refiere a los sistemas de anillos aromáticos, incluidos los sistemas de anillos fusionados, en los que al menos uno de los átomos que forman el anillo es un heteroátomo.

60 El término aquí utilizado "heterociclo" se refiere a sistemas de anillos que, incluidos los sistemas de anillos fusionados, no son aromáticos, en los que al menos uno de los átomos que forman el anillo es un heteroátomo.

65 El término "heteroátomo" es cualquier átomo distinto del carbono o del hidrógeno. Los heteroátomos preferidos incluyen oxígeno, azufre y nitrógeno. Los anillos heteroarilo y heterociclico ejemplares incluyen: bencimidazolilo, benzofuranoilo, benzotifuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzoxazolinilo, benziazolilo, benztriazolilo, benztetrazolilo, benzisoxazolilo, benzisotiazolilo, benzimidazolinilo, carbazolilo, 4aH carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinolinilo, decahidroquinolinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, dihidro[2,3 b]tetrahidrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizinilo, indolilo, 3H-indolilo, isatinoyilo, isobenzofuranoilo,

5 isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, metilendioxifenilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxindolilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidonilo, 4-piperidonilo, piperonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2H-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4H-quinolizinilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahydroquomolinilo, tetrazolilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tian trenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo y xantenilo.

10

II. FORMULACIONES

15 Las soluciones proteicas biocompatibles y de baja viscosidad, como las de mAbs, pueden utilizarse para administrar cantidades terapéuticamente eficaces de proteínas en volúmenes útiles para inyecciones subcutáneas (SC) e intramusculares (IM), típicamente menos de o aproximadamente 2 mL para SC y menos de o aproximadamente 5 mL para IM, más preferiblemente menos de o aproximadamente 1 mL para SC y menos de o aproximadamente 3 mL para IM. En general, las proteínas pueden tener cualquier peso molecular, aunque en algunas realizaciones se prefieren las proteínas de alto peso molecular. Las formulaciones de la invención comprenden un anticuerpo.

20

25 Las formulaciones pueden tener concentraciones de proteínas entre aproximadamente 10 mg/mL y aproximadamente 5.000 mg/mL. Las formulaciones, incluidas las formulaciones de mAb, pueden tener una concentración de proteínas superior a 100 mg/mL, preferiblemente superior a 150 mg/mL, más preferiblemente superior a aproximadamente 175 mg/mL, aún más preferiblemente superior a aproximadamente 200 mg/mL, aún más preferiblemente superior a aproximadamente 225 mg/mL, aún más preferiblemente superior a aproximadamente 250 mg/mL, y lo más preferiblemente superior o aproximadamente 300 mg/mL. En ausencia de un agente reductor de la viscosidad, la viscosidad de una formulación proteica aumenta exponencialmente a medida que se incrementa la concentración. Tales formulaciones proteicas, en ausencia de un agente reductor de la viscosidad, pueden tener viscosidades superiores a 100 mPa.s (cP), superiores a 150 mPa.s (cP), superiores a 200 mPa.s (cP), superiores a 300 mPa.s (cP), superiores a 500 mPa.s (cP), o incluso superiores a 1.000 mPa.s (cP), cuando se miden a 25° C. Tales formulaciones son a menudo inadecuadas para la inyección SC o IM. El uso de uno o más agentes reductores de la viscosidad permite preparar formulaciones con una viscosidad inferior o igual a 100 mPa.s (cP), preferiblemente inferior o igual a 75 mPa.s (cP), más preferiblemente inferior o igual a 50 mPa.s (cP), aún más preferiblemente inferior o igual a 30 mPa.s (cP), aún más preferiblemente inferior o igual a 20 mPa.s (cP), o más preferiblemente inferior o igual a 10 mPa.s (cP), cuando se mide a 25° C.

35

40 Aunque los agentes reductores de la viscosidad pueden utilizarse para reducir la viscosidad de las formulaciones proteínicas concentradas, también pueden utilizarse en formulaciones menos concentradas. En algunas realizaciones, las formulaciones pueden tener concentraciones de proteínas entre aproximadamente 10 mg/mL y aproximadamente 100 mg/mL. Las formulaciones pueden tener una concentración de proteínas superior a aproximadamente 20 mg/mL, superior a aproximadamente 40 mg/mL o superior a aproximadamente 80 mg/mL.

45 Para ciertas proteínas, las formulaciones que no tienen un agente reductor de la viscosidad pueden tener viscosidades superiores a aproximadamente 20 mPa.s (cP), superiores a aproximadamente 50 mPa.s (cP) o superiores a aproximadamente 80 mPa.s (cP). El uso de uno o más agentes reductores de la viscosidad permite la preparación de formulaciones con una viscosidad inferior o aproximadamente 80 mPa.s (cP), preferiblemente inferior o aproximadamente 50 mPa.s (cP), aún más preferiblemente inferior o aproximadamente 20 mPa.s (cP), o más preferiblemente inferior o aproximadamente 10 mPa.s (cP), cuando se mide a 25° C.

50

55 En algunas realizaciones, las formulaciones acuosas de proteínas tienen una viscosidad que es al menos un 30% menor que la formulación análoga sin el agente o agentes reductores de la viscosidad, cuando se mide en las mismas condiciones. En otras realizaciones, las formulaciones tienen una viscosidad que es 40% menos, 50% menos, 60% menos, 70% menos, 80% menos, 90% menos, o incluso más de 90% menos que la formulación análoga sin el(s) agente(s) reductor(es) de la viscosidad. En una realización preferida, la formulación contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de una o más proteínas de alto peso molecular, como mAbs, en un volumen de menos de aproximadamente 2 mL, preferiblemente menos de aproximadamente 1 mL, o más preferiblemente menos de aproximadamente 0,75 mL.

60

65 Las formulaciones de viscosidad reducida tienen una inyectabilidad mejorada y requieren menos fuerza de inyección en comparación con la formulación análoga sin el agente reductor de la viscosidad (por ejemplo, en tampón fosfato) en las mismas condiciones. En algunas realizaciones, la fuerza de inyección disminuye en más de un 20%, más de un 30%, más de un 40%, más de un 50% o más de dos veces, en comparación con las formulaciones estándar sin los agentes reductores de la viscosidad en las mismas condiciones de inyección. En algunas realizaciones, las formulaciones poseen "características de flujo newtoniano", definidas como aquellas cuya viscosidad es sustancialmente independiente de la velocidad de cizallamiento. Las formulaciones proteínicas pueden inyectarse fácilmente a través de agujas de calibre 18-32 aproximadamente. Los calibres de aguja preferidos para la administración de las formulaciones de baja viscosidad incluyen los calibres 27, 29 y 31, opcionalmente de pared fina.

Las formulaciones contienen un disolvente farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones pueden contener uno o más excipientes adicionales, como tampones, tensioactivos, azúcares y alcoholes de azúcar, otros polioles, conservantes, antioxidantes y agentes quelantes. Las formulaciones tienen un pH y una osmolaridad adecuados para su administración sin causar efectos secundarios adversos significativos. En algunas realizaciones, las formulaciones concentradas de baja viscosidad tienen un pH entre 5 y 8, entre 5,5 y 7,6, entre 6,0 y 7,6, entre 6,8 y 7,6, o entre 5,5 y 6,5.

5 Las formulaciones proteicas de baja viscosidad pueden permitir una mayor flexibilidad en el desarrollo de la formulación. Las formulaciones de baja viscosidad pueden mostrar cambios en la viscosidad que son menos dependientes de la concentración de proteína en comparación con la misma formulación sin el agente reductor de la viscosidad. Las 10 formulaciones proteicas de baja viscosidad pueden permitir aumentar las concentraciones y disminuir las frecuencias de dosificación de la proteína. En algunas realizaciones, las formulaciones proteicas de baja viscosidad contienen 2 o más, 3 o más, o 4 o más proteínas diferentes. Por ejemplo, se pueden proporcionar combinaciones de 2 o más mAbs en una única formulación proteica de baja viscosidad.

15 20 Dado que las formulaciones proteicas (como los mAb) pueden administrarse a los pacientes a concentraciones proteicas más elevadas que otras formulaciones proteicas similares que no contengan un agente reductor de la viscosidad, puede reducirse la frecuencia de dosificación de la proteína. Por ejemplo, las proteínas que antes debían administrarse una vez al día pueden administrarse una vez cada dos días, cada tres días o incluso con menos frecuencia cuando las proteínas se formulan con agentes reductores de la viscosidad. Las proteínas que actualmente requieren múltiples administraciones en el mismo día (ya sea al mismo tiempo o en diferentes momentos del día) pueden administrarse en menos inyecciones al día. En algunos casos, la frecuencia puede reducirse a una única inyección una vez al día. Multiplicando la dosis administrada por inyección se puede reducir la frecuencia de dosificación, por ejemplo de una vez cada 2 semanas a una vez cada 6 semanas.

25 30 35 En algunas realizaciones, las formulaciones líquidas tienen una osmolaridad fisiológica, por ejemplo, entre 280 mOsm/L y 310 mOsm/L aproximadamente. En algunas realizaciones, las formulaciones líquidas tienen una osmolaridad superior a aproximadamente 250 mOsm/L, superior a aproximadamente 300 mOsm/L, superior a aproximadamente 350 mOsm/L, superior a aproximadamente 400 mOsm/L o superior a aproximadamente 500 mOsm/L. En algunas realizaciones, las formulaciones tienen una osmolaridad de aproximadamente 200 mOsm/L a aproximadamente 2,000 mOsm/L o de aproximadamente 300 mOsm/L a aproximadamente 1,000 mOsm/L. En algunas realizaciones, las formulaciones líquidas son esencialmente isotónicas para la sangre humana. En algunos casos, las formulaciones líquidas pueden ser hipertónicas.

40 45 50 Los aditivos, incluidos los agentes reductores de la viscosidad, pueden incluirse en cualquier cantidad para alcanzar los niveles de viscosidad deseados de la formulación líquida, siempre que las cantidades no sean tóxicas o perjudiciales de otro modo, y no interfieran sustancialmente con la estabilidad química y/o física de la formulación. En algunas realizaciones, los agentes reductores de la viscosidad pueden estar presentes independientemente en una concentración inferior a aproximadamente 1,0 M, preferiblemente inferior a aproximadamente 0,50 M, inferior o igual a aproximadamente 0,30 M o inferior o igual a 0,15 M. Las concentraciones especialmente preferidas incluyen aproximadamente 0,15 M y aproximadamente 0,30 M. En algunas realizaciones que tienen dos o más agentes reductores de la viscosidad, los agentes están presentes preferiblemente, pero no necesariamente, en la misma concentración.

55 Los agentes reductores de la viscosidad permiten una reconstitución más rápida de una unidad de dosificación liofilizada. La unidad de dosificación es una torta liofilizada de proteína, agente reductor de la viscosidad y otros excipientes, a la que se añade agua, solución salina u otro fluido farmacéuticamente aceptable. En ausencia de agentes reductores de la viscosidad, a menudo se requieren períodos de 10 minutos o más para disolver completamente la torta liofilizada con una concentración elevada de proteínas. Cuando la torta liofilizada contiene uno o más agentes reductores de la viscosidad, el periodo necesario para disolver completamente la torta suele reducirse en un factor de dos, cinco o incluso diez. En ciertas realizaciones, se requiere menos de un minuto para disolver completamente una torta liofilizada que contenga más o aproximadamente 150, 200 o incluso 300 mg/mL de proteína.

60 65 Las formulaciones proteicas de baja viscosidad permiten una mayor flexibilidad en el desarrollo de la formulación. Las formulaciones de baja viscosidad presentan una viscosidad que cambia menos con el aumento de las concentraciones de proteínas en comparación con la misma formulación sin el agente o agentes reductores de la viscosidad. Las formulaciones proteicas de baja viscosidad presentan un gradiente de viscosidad menor que la misma formulación sin el agente reductor de la viscosidad.

70 El gradiente de viscosidad de la formulación proteica puede ser 2 veces menor, 3 veces menor o incluso más de 3 veces menor que el gradiente de viscosidad de la misma formulación proteica sin el agente o agentes reductores de la viscosidad. El gradiente de viscosidad de la formulación proteica puede ser inferior a 2,0 cP mL/mg, inferior a 1,5 cP mL/mg, inferior a 1,0 cP mL/mg, inferior a 0,8 cP mL/mg, inferior a 0,6 cP mL/mg, o inferior a 0,2 cP mL/mg para una formulación proteica que tenga una concentración proteica entre 10 mg/mL y 2.000 mg/mL. Al reducir el gradiente de viscosidad de la formulación, la concentración de proteínas puede aumentarse en mayor medida antes de que se observe un aumento exponencial de la viscosidad.

A. Proteínas

En las formulaciones de la invención, la proteína es un anticuerpo (incluyendo fragmentos de anticuerpos y anticuerpos recombinantes). En ciertas realizaciones, la proteína tiene un peso molecular superior a aproximadamente 150 kDa, superior a 160 kDa, superior a 170 kDa, superior a 180 kDa, superior a 190 kDa o incluso superior a 200 kDa.

5 En ciertas realizaciones, la proteína puede ser una proteína PEGilada. El término "proteína PEGilada", tal como se utiliza aquí, se refiere a una proteína que tiene uno o más grupos de poli(etylenglicol) u otro polímero de sigilo unidos covalentemente a ella, opcionalmente a través de un enlazador químico que puede ser diferente de los uno o más grupos poliméricos. Las proteínas pEGiladas se caracterizan por su filtración renal típicamente reducida, su menor captación por el sistema reticulendoendotelial y su menor degradación enzimática, lo que conduce, por ejemplo, a vidas medias prolongadas 10 y a una mayor biodisponibilidad. Los polímeros sigilosos incluyen poli(etylenglicol); poli(propilenglicol); polímeros de polí(aminoácidos) como poli(ácido glutámico), poli(hidroxietil-L-asparagina) y poli(hidroxietil-L-glutamina); poli(glicerol); polímeros de poli(2-oxazolina) como poli(2-metil-2-oxazolina) y poli(2-etyl-2-oxazolina); poli(acrilamida); poli(vinilpirrolidona); poli(N-(2-hidroxipropil)metacrilamida); y copolímeros y mezclas de los mismos. En realizaciones preferidas, el polímero de sigilo en una proteína PEGilada es poli(etylenglicol) o un copolímero del mismo. Las proteínas PEGiladas pueden ser PEGiladas al azar, es decir, tener uno o más polímeros sigilosos unidos covalentemente en sitio(s) 15 no específico(s) de la proteína, o pueden ser PEGiladas de una manera sitio-específica uniendo covalentemente el polímero sigiloso a sitio(s) específico(s) de la proteína. La PEGilación en sitios específicos puede lograrse, por ejemplo, utilizando polímeros sigilosos activados que tengan uno o más grupos funcionales reactivos. Algunos ejemplos se describen, por ejemplo, en Hoffman et al., *Progress in Polymer Science*, 32:922-932, 2007.

20 La proteína es un anticuerpo. En la realización preferida, la proteína es de alto peso molecular, más preferiblemente un mAb, y tiene una alta viscosidad en solución acuosa tamponada cuando se concentra lo suficiente como para inyectar una cantidad terapéuticamente eficaz en un volumen que no excede de 1,0 a 2,0 ml para la administración SC y de 3,0 a 5,0 ml para la administración IM. Las proteínas de alto peso molecular pueden incluir las descritas en Scolnik, mAbs 1:179-184, 2009; Beck, mAbs 3:107-110, 2011; Baumann, *Curr. Metanfetamina*. 7:15-21, 2006; or Federici, *Biologicals* 41:131-147, 2013. Las proteínas para su uso en las formulaciones aquí descritas son preferiblemente esencialmente puras y esencialmente homogéneas (es decir, sustancialmente libres de proteínas contaminantes y/o agregados irreversibles de las mismas).

25 30 Los mAbs preferidos incluyen natalizumab (TYSABRI®), cetuximab (ERBITUX®), bevacizumab (AVASTIN®), trastuzumab (HERCEPTIN®), infliximab (REMICADE®), rituximab (RITUXAN®), panitumumab (VECTIBIX®), ofatumumab (ARZERRA®) y biosimilares de los mismos. Algunos ejemplos de proteínas de alto peso molecular son el tocilizumab (ACTEMRA®), el alemtuzumab (comercializado con varios nombres comerciales), el brodalumab (desarrollado por Amgen, Inc ("Amgen")), el denosumab (PROLIA® y XGEVA®) y sus biosimilares.

35 40 45 Las dianas moleculares ejemplares para los anticuerpos descritos en el presente documento incluyen proteínas CD, como CD3, CD4, CD8, CD19, CD20 y CD34; miembros de la familia de receptores HER, como el receptor EGF, HER2, HER3 o HER4; moléculas de adhesión celular, como LFA-1, Mol, p150,95, VLA-4, ICAM-1, VCAM, e integrina α v/ β 3, incluidas las subunidades α o β de las mismas (p. ej, anticuerpos anti-CD11a, anti-CD18 o anti-CD11b); factores de crecimiento, como VEGF; IgE;抗ígenos del grupo sanguíneo; receptor flk2/flt3; receptor de la obesidad (OB); proteína C; PCSK9; etc.

Terapias con anticuerpos actualmente en el mercado

50 Muchas de las terapias proteicas actualmente en el mercado, especialmente los anticuerpos tal y como se definen en el presente documento, se administran mediante infusiones intravenosas debido a los elevados requisitos de dosificación. Las formulaciones pueden incluir uno de los anticuerpos terapéuticos actualmente en el mercado o un biosimilar del mismo. Algunas de las proteínas terapéuticas que se comercializan actualmente no son de alto peso molecular, pero se siguen administrando por infusión intravenosa porque se necesitan dosis elevadas para lograr una eficacia terapéutica. En algunas realizaciones, se proporcionan formulaciones líquidas de estas proteínas de bajo peso molecular definidas en el presente documento con concentraciones para administrar cantidades terapéuticamente eficaces para inyecciones SC o IM.

55 Entre los anticuerpos terapéuticos comercializados actualmente figuran belimumab (BENLYSTA®), golimumab (SIMPONI ARIA®), abciximab (REOPRO®), la combinación de tositumomab y tositumomab con yodo 131 comercializado como BEXXAR®, alemtuzumab (CAMPATH®), palivizumab (SYNAGIS®), basiliximab (SIMULECT®), ado-trastuzumab emtansina (KADCYLA®), pertuzumab (PERJETA®), capromab pendetida (PROSTASCINT KIT®), caclizumab (ZENAPAX®), ibritumomab tiuxetan (ZEVALIN®), eculizumab (SOLIRIS®), ipilimumab (YERVOY®), muromonab-CD3 (ORTHOCLONE OKT3®), raxibacumab, nimotuzumab (THERACIM®), brentuximab vedotin (ADCETRIS®), adalimumab (HUMIRA®), golimumab (SIMPONI®), palivizumab (SYNAGIS®), omalizumab (XOLAIR®) y ustekinumab (STELARA®).

60 65 70 El natalizumab, un mAb humanizado contra la molécula de adhesión celular α 4-integrina, se utiliza en el tratamiento de la esclerosis múltiple y la enfermedad de Crohn. Comercializado anteriormente con el nombre comercial de ANTEGREN®, el natalizumab se comercializa actualmente como TYSABRI® por Biogen Idec ("Biogen") y Elan Corp. ("Elan") TYSABRI® se produce en células de mieloma murino. Cada dosis de 15 ml contiene 300 mg de natalizumab; 123 mg de cloruro sódico, USP; 17,0 mg de fosfato sódico, monobásico, monohidrato, USP; 7,24 mg de fosfato sódico, dibásico, heptahidrato, USP; 3,0 mg de polisorbato 80, USP/NF, en agua para inyección intravenosa, USP a pH 6,1. El natalizumab

suele administrarse mediante infusiones intravenosas (IV) mensuales y ha demostrado su eficacia en el tratamiento de los síntomas tanto de la esclerosis múltiple como de la enfermedad de Crohn, así como para prevenir las recaídas, la pérdida de visión y el deterioro cognitivo, y mejorar significativamente la calidad de vida de los pacientes.

5 Tal como se utiliza aquí, el término "natalizumab" incluye el mAb contra la molécula de adhesión celular α 4-integrina conocida bajo la Denominación Común Internacional "NATALIZUMAB" o una porción de unión a antígeno de la misma. Natalizumab incluye los anticuerpos descritos en Patente de EE.UU. nº 5.840.299, Patente de EE.UU. nº 6.033.665, Patente de EE.UU. nº 6.602.503, Patente de EE.UU. nº 5.168.062, Patente de EE. UU. N.º 5,385,839 y Patente de EE. UU. N.º 5,730,978. Natalizumab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial 10 TYSABRI® por Biogen Idec o un producto biosimilar del mismo.

El cetuximab es un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) utilizado para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico y el cáncer de cabeza y cuello. El cetuximab es un mAb quimérico (ratón/humano) que suele administrarse mediante infusión intravenosa. Bristol-Myers Squibb Company (Norteamérica; "Bristol-Myers Squibb"), Eli Lilly and Company (Norteamérica; "Eli Lilly") y Merck KGaA comercializan cetuximab sólo para uso intravenoso con el nombre comercial ERBITUX®. ERBITUX® se produce en cultivos celulares de mamíferos (mieloma murino). Cada vial de un solo uso de 50 ml de ERBITUX® contiene 100 mg de cetuximab a una concentración de 2 mg/mL y está formulado en una solución sin conservantes que contiene 8,48 mg/mL de cloruro sódico, 1,88 mg/mL de fosfato sódico dibásico heptahidratado, 0,42 mg/mL de fosfato sódico monobásico monohidratado y agua para inyección intravenosa, USP.

20 El cetuximab está indicado para el tratamiento de pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCRm) de tipo KRAS salvaje que expresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), en combinación con quimioterapia y como agente único en pacientes en los que ha fracasado el tratamiento con oxaliplatin y irinotecán o que no toleran el 25 irinotecán. Cetuximab está indicado para el tratamiento de pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello en combinación con quimioterapia basada en platino para el tratamiento de primera línea de la enfermedad recurrente y/o metastásica y en combinación con radioterapia para la enfermedad localmente avanzada. Aproximadamente el 75% de los pacientes con cáncer colorrectal metastásico tienen un tumor que expresa EGFR y, por tanto, se consideran aptos para el tratamiento con cetuximab o panitumumab, según las directrices del FDA.

30 Tal como se utiliza aquí, el término "cetuximab" incluye el mAb conocido bajo la Denominación Común Internacional "CETUXIMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. Cetuximab incluye los anticuerpos descritos en Patente de EE. UU. N.º 6,217,866. El cetuximab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial ERBITUX® y sus productos biosimilares. Los biosimilares de ERBITUX® pueden incluir los que están desarrollando 35 actualmente Amgen, AlphaMab Co., Ltd. ("AlphaMab") y Actavis plc ("Actavis"). ("AlphaMab") y Actavis plc ("Actavis").

40 El bevacizumab, un mAb humanizado que inhibe el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A), actúa como agente antiangiogénico. Genentech, Inc. ("Genentech") y F. Hoffmann-La Roche, LTD ("Roche") lo comercializan con el nombre comercial AVASTIN®. Está autorizado para tratar varios tipos de cáncer, como el colorrectal, el de pulmón, el de mama (fuera de EE.UU.), el glioblastoma (sólo en EE.UU.), el de riñón y el de ovario. AVASTIN® fue aprobado por el FDA en 2004 para su uso en el cáncer colorrectal metastásico cuando se utiliza con el tratamiento estándar de quimioterapia (como tratamiento de primera línea) y con la terapia basada en 5-fluorouracilo para el cáncer colorrectal metastásico de 45 segunda línea. En 2006, el FDA aprobó el uso de AVASTIN® en el cáncer de pulmón no microcítico no escamoso avanzado de primera línea en combinación con quimioterapia con carboplatino/paclitaxel. AVASTIN® se administra en perfusión intravenosa cada tres semanas a dosis de 15 mg/kg o 7,5 mg/kg. La dosis más alta suele administrarse con quimioterapia basada en carboplatino, mientras que la dosis más baja se administra con quimioterapia basada en cisplatino. En 2009, el FDA aprobó el uso de AVASTIN® en el carcinoma metastásico de células renales (una forma de cáncer de riñón). El FDA también concedió la aprobación acelerada de AVASTIN® para el tratamiento del glioblastoma multiforme recurrente en 2009. El tratamiento para el crecimiento inicial aún se encuentra en fase III de ensayo clínico.

50 La Red Nacional Integral del Cáncer ("NCCN") recomienda bevacizumab como tratamiento estándar de primera línea en combinación con cualquier quimioterapia basada en platino, seguido de bevacizumab de mantenimiento hasta la progresión de la enfermedad. La NCCN actualizó sus Guías de Práctica Clínica en Oncología (Guías NCCN) para el cáncer de mama en 2010 para afirmar la recomendación relativa al uso de bevacizumab (AVASTIN®, Genentech/Roche) 55 en el tratamiento del cáncer de mama metastásico.

60 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "bevacizumab" incluye el mAb que inhibe el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A) conocido bajo la Denominación Común Internacional "BEVACIZUMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. Bevacizumab se describe en Patente de EE. UU. N.º 6,054,297. El bevacizumab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial AVASTIN® y sus productos biosimilares. Los biosimilares de AVASTIN® pueden incluir los que están desarrollando actualmente Amgen, Actavis, AlphaMab y Pfizer, Inc ("Pfizer"). Los biosimilares de AVASTIN® pueden incluir el biosimilar conocido como BCD-021 producido por Biocad y actualmente en ensayos clínicos en EE.UU.

65 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "trastuzumab" incluye el mAb que interfiere con el receptor HER2/neu. Genentech, Inc. comercializa el trastuzumab con el nombre comercial de HERCEPTIN. HERCEPTIN® es producida por una línea celular de mamífero (ovario de hámster

chino [CHO]). HERCEPTIN® es un polvo liofilizado estéril, de color blanco a amarillo pálido, sin conservantes, para administración intravenosa. Cada vial de HERCEPTIN® contiene 440 mg de trastuzumab, 9,9 mg de L-histidina HCl, 6,4 mg de L-histidina, 400 mg de a,a-trehalosa dihidrato y 1,8 mg de polisorbato 20, USP. La reconstitución con 20 mL de agua produce una solución multidosis que contiene 21 mg/mL de trastuzumab. En la actualidad, HERCEPTIN® se administra mediante infusión intravenosa con una frecuencia semanal y a una dosis que oscila entre 2 mg/kg y 8 mg/kg. El trastuzumab se utiliza principalmente para tratar determinados cánceres de mama. El gen HER2 está amplificado en el 20-30% de los cánceres de mama en fase inicial, lo que hace que sobreexprese receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGF) en la membrana celular. El trastuzumab se administra generalmente como terapia de mantenimiento para pacientes con cáncer de mama HER2-positivo, normalmente durante un año tras la quimioterapia. Actualmente, el trastuzumab se administra mediante infusión intravenosa con una frecuencia semanal y a una dosis que oscila entre aproximadamente 2 mg/kg y aproximadamente 8 mg/kg.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "trastuzumab" incluye el mAb que interfiere con el receptor HER2/neu conocido bajo la Denominación Común Internacional "TRASTUZUMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. El trastuzumab se describe en Patente de EE. UU. N.º 5,821,337. Trastuzumab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial HERCEPTIN® y sus biosimilares. El término "trastuzumab" incluye el agente activo de los productos biosimilares HERCEPTIN® comercializados con los nombres comerciales HERTRAZ® por Mylan, Inc. ("Mylan") y CANMAB® por Biocon, Ltd. ("Biocon"). ("Biocon"). El trastuzumab puede incluir el agente activo de los productos biosimilares HERCEPTIN® que están siendo desarrollados por Amgen y por PlantForm Corporation, Canadá.

Infliximab es un mAb contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) utilizado para tratar enfermedades autoinmunes. Se comercializa bajo el nombre comercial REMICADE® por Janssen Global Services, LLC ("Janssen") en los EE.UU., Mitsubishi Tanabe Pharma en Japón, Xian Janssen en China, y Merck & Co ("Merck"); en otros lugares. Infliximab es un anticuerpo monoclonal químérico ratón/humano con un elevado peso molecular de aproximadamente 144 kDa. En algunas realizaciones, las formulaciones contienen un biosimilar de REMICADE®, como REMSIMA™ o INFLECTRA™. Tanto REMSIMA™, desarrollado por Celltrion, Inc. ("Celltrion"), como INFLECTRA™, desarrollado por Hospira Inc, Reino Unido, han sido recomendados para su aprobación reglamentaria en Europa. Celltrion ha presentado una solicitud de REMSIMA™ al FDA. Infliximab se administra actualmente mediante infusión intravenosa a dosis que oscilan entre aproximadamente 3 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg.

Infliximab contiene aproximadamente un 30% de secuencia de aminoácidos de región variable murina, lo que le confiere especificidad de unión a antígenos del TNF α humano. El 70% restante corresponde a una región constante de la cadena pesada IgG1 humana y a una región constante de la cadena ligera kappa humana. El infliximab tiene gran afinidad por el TNF α humano, que es una citocina con múltiples acciones biológicas, entre ellas la mediación de las respuestas inflamatorias y la modulación del sistema inmunitario.

Infliximab es un anticuerpo recombinante producido y secretado generalmente a partir de células de mieloma de ratón (células SP2/0). El anticuerpo se fabrica actualmente mediante cultivo celular en perfusión continua. El anticuerpo monoclonal infliximab se expresa utilizando genes de anticuerpos químéricos compuestos por las secuencias de la región variable clonadas a partir del hibridoma murino anti-TNF α A2, y secuencias de la región constante del anticuerpo humano suministradas por los vectores de expresión plasmídica. La generación del hibridoma murino anti-TNF α se realiza mediante la inmunización de ratones BALB/c con TNF α humano recombinante purificado. Las construcciones de vectores de cadena pesada y ligera se linealizan y transfecitan en las células Sp2/0 mediante electroporación. Los pasos de purificación estándar pueden incluir la purificación cromatográfica, la inactivación viral, la nanofiltración y la ultrafiltración/diafiltración.

Tal como se utiliza aquí, el término "infliximab" incluye el anticuerpo monoclonal químérico ratón/humano conocido bajo la Denominación Común Internacional "INFLIXIMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. Infliximab neutraliza la actividad biológica del TNF α al unirse con gran afinidad a las formas soluble y transmembrana del TNF α e inhibe la unión del TNF α con sus receptores. Infliximab se describe en Patente de EE. UU. N.º 5,698,195. El término "Infliximab" incluye el agente activo de los productos comercializados o propuestos para su comercialización con los nombres comerciales REMICADE® por múltiples entidades; REMSIMA™ por Celltrion e INFLECTRA™ por Hospira, Inc ("Hospira"). Infliximab se suministra como una torta liofilizada estéril para reconstitución y dilución. Cada vial de infliximab contiene 100 mg de infliximab y excipientes como fosfato sódico monobásico monohidratado, fosfato sódico dibásico dihidratado, sacarosa y polisorbato 80.

El denosumab (PROLIA® y XGEVA®) es un mAb humano -y el primer inhibidor del RANKL- aprobado para su uso en mujeres posmenopáusicas con riesgo de osteoporosis y en pacientes con metástasis óseas de tumores sólidos. El denosumab se encuentra en ensayos de fase II para el tratamiento de la artritis reumatoide.

El panitumumab es un mAb totalmente humano aprobado por el FDA para el tratamiento del cáncer metastásico que expresa EGFR con progresión de la enfermedad. Amgen comercializa el panitumumab con el nombre comercial de VECTIBIX®. VECTIBIX® se presenta como un concentrado de panitumumab de 20 mg/ml en viales de 5 ml, 10 ml y 15 ml para perfusión intravenosa. Cuando se prepara según las instrucciones del envase, la concentración final de panitumumab no supera los 10 mg/ml. VECTIBIX® se administra a una dosis de 6 mg/kg cada 14 días en infusión

intravenosa. Tal como se utiliza aquí, el término "panitumumab" incluye el anti-receptor del factor de crecimiento epidérmico humano conocido por la Denominación Común Internacional "PANITUMUMAB". El término "panitumumab" incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial VECTIBIX® por Amgen y sus biosimilares. El término "panitumumab" incluye los anticuerpos monoclonales descritos en Patente de EE. UU. N.º 6,235,883. El término "panitumumab" incluye el agente activo de los productos biosimilares VECTIBIX®, incluido el biosimilar VECTIBIX® que está desarrollando BioXpress, SA ("BioXpress").

Belimumab (BENLYSTA®) es un mAb humano con un peso molecular de aproximadamente 151,8 kDa que inhibe el factor activador de las células B (BAFF). El belimumab está autorizado en Estados Unidos, Canadá y Europa para el tratamiento del lupus eritematoso sistémico. Actualmente, el belimumab se administra a pacientes con lupus mediante infusión intravenosa a una dosis de 10 mg/kg. Una formulación proteica de alto peso molecular y baja viscosidad puede incluir Belimumab, preferentemente en una concentración de aproximadamente 400 mg/mL a aproximadamente 1.000 mg/mL. Los rangos preferidos se calculan en base a un peso corporal de 40-100 kg (aproximadamente 80-220 lbs) en un volumen de 1 mL.

15 Abciximab (REOPRO®) es fabricado por Janssen Biologics BV y distribuido por Eli Lilly & Company ("Eli Lilly"). El abciximab es un fragmento Fab del anticuerpo monoclonal quimérico humano-murino 7E3. El abciximab se une al receptor de la glucoproteína (GP) IIb/IIIa de las plaquetas humanas e inhibe la agregación plaquetaria impidiendo la unión del fibrinógeno, el factor von Willebrand y otras moléculas adhesivas. También se une al receptor de vitronectina (avß3) que se encuentra en las plaquetas y en las células endoteliales y musculares lisas de la pared vascular. El abciximab es un inhibidor de la agregación plaquetaria que se utiliza principalmente durante y después de intervenciones coronarias. El abciximab se administra mediante perfusión IV, primero en bolo de 0,25 mg/kg y después en perfusión IV continua de 0,125 mcg/kg/minuto durante 12 horas.

25 25 El tositumomab (BEXXAR®) es un fármaco para el tratamiento del linfoma folicular. Es un mAb IgG2a anti-CD20 derivado de células de ratón inmortalizadas. El tositumomab se administra en infusiones secuenciales: mAb frío seguido de tositumomab yodado (131I), el mismo anticuerpo unido covalentemente al radionúcleo yodo-131. Los ensayos clínicos han establecido la eficacia del régimen tositumomab/yodo tositumomab en pacientes con linfoma folicular refractario recidivante. BEXXAR® se administra actualmente a una dosis de 450 mg mediante perfusión intravenosa.

30 30 El alemtuzumab (comercializado como CAMPATH®, MABCAMPATH® o CAMPATH-1H® y actualmente en fase de desarrollo como LEMTRADA®) es un mAb utilizado en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC), el linfoma cutáneo de células T (LCCT) y el linfoma de células T. También se utiliza en protocolos de ensayos clínicos para el tratamiento de algunas enfermedades autoinmunes, como la esclerosis múltiple. El alemtuzumab tiene un peso aproximado de 145,5 kDa. Se administra en infusiones intravenosas diarias de 30 mg a pacientes con leucemia linfocítica crónica de células B.

35 Palivizumab (SYNAGIS®) es un mAb humanizado dirigido contra un epítopo en el sitio antigenético A de la proteína F del virus respiratorio sincitial. En dos ensayos clínicos de fase III en la población pediátrica, palivizumab redujo el riesgo de hospitalización por infección por el virus respiratorio sincitial en un 55% y un 45%. Palivizumab se administra una vez al mes mediante inyección IM de 15 mg/kg.

40 Ofatumumab es un mAb anti-CD20 humano que parece inhibir la activación de los linfocitos B en fase inicial. El ofatumumab se comercializa bajo el nombre comercial de ARZERRA® por GlaxoSmithKline, plc ("GlaxoSmithKline"). ARZERRA® se distribuye en viales de un solo uso que contienen 100 mg/5 mL y 1.000 mg/50 mL de ofatumumab para perfusión intravenosa. El ofatumumab está aprobado por el FDA para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica y también ha demostrado su potencial en el tratamiento del linfoma folicular no hodgkiniano, el linfoma difuso de células B grandes, la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple remitente recidivante. El ofatumumab tiene un peso molecular de aproximadamente 149 kDa. Actualmente se administra mediante infusión intravenosa a una dosis inicial de 300 mg, seguida de infusiones semanales de 2.000 mg. Tal como se utiliza aquí, el término "ofatumumab" incluye el mAb anti-CD20 conocido por la Denominación Común Internacional "OFATUMUMAB". El término "ofatumumab" incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial ARZERRA® y sus biosimilares. El término "ofatumumab" incluye el agente activo de los productos biosimilares ARZERRA® que está desarrollando BioExpress. Las formulaciones de proteínas líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir ofatumumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 300 mg/mL a aproximadamente 2.000 mg/mL.

45 55 El trastuzumab emtansina (en EE.UU., ado-trastuzumab emtansina, comercializado como KADCYLA®) es un conjugado anticuerpo-fármaco formado por el mAb trastuzumab unido al agente citotóxico mertansina (DM1®). El trastuzumab, descrito anteriormente, detiene el crecimiento de las células cancerosas uniéndose al receptor HER2/neu, mientras que la mertansina penetra en las células y las destruye uniéndose a la tubulina. En Estados Unidos, el trastuzumab emtansina se aprobó específicamente para el tratamiento del cáncer de mama metastásico HER2-positivo recurrente. En 2014 están previstos o en curso múltiples ensayos de fase III de trastuzumab emtansina. Trastuzumab emtansina se administra actualmente mediante infusión intravenosa de 3,6 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir trastuzumab emtansina, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 144 mg/mL a aproximadamente 360 mg/mL.

60 65 El pertuzumab (PERJETA®) es un mAb que inhibe la dimerización de HER2. El pertuzumab recibió la aprobación del FDA

para el tratamiento del cáncer de mama metastásico HER2-positivo en 2012. La dosis actualmente recomendada de Pertuzumab es de 420 mg a 840 mg por perfusión intravenosa. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir pertuzumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 420 mg/mL a aproximadamente 840 mg/mL.

5 El daclizumab es un mAb humanizado anti-CD25 y se utiliza para prevenir el rechazo en los trasplantes de órganos, especialmente en los de riñón. El fármaco también se está investigando para el tratamiento de la esclerosis múltiple. El daclizumab tiene un peso molecular de aproximadamente 143 kDa. El daclizumab fue comercializado en EE.UU. por Hoffmann-La Roche, Ltd. ("Roche") como ZENAPAX® y administrado mediante infusión intravenosa de 1 mg/kg. ("Roche") como ZENAPAX® y se administraba mediante infusión intravenosa de 1 mg/kg. Daclizumab High-Yield Process (DACP; BIIB019; Biogen Idec ("Biogen") y AbbVie, Inc. ("AbbVie")) se encuentra en ensayos clínicos de fase III como inyección subcutánea de 150 mg una vez al mes para tratar la esclerosis múltiple remitente recidivante. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir daclizumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 40 mg/mL a aproximadamente 300 mg/mL.

10 15 Eculizumab (SOLIRIS®) es un mAb humanizado aprobado para el tratamiento de enfermedades hematológicas raras, como la hemoglobinuria paroxística nocturna y el síndrome urémico hemolítico atípico. Eculizumab, con un peso molecular de aproximadamente 148 kDa, está siendo desarrollado por Alexion Pharmaceuticals, Inc ("Alexion"). Se administra por infusión intravenosa en una cantidad de aproximadamente 600 mg a aproximadamente 1.200 mg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir eculizumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 500 mg/mL a aproximadamente 1.200 mg/mL.

20 25 El tocilizumab (ACTEMRA®) es un mAb humanizado contra el receptor de la interleucina-6. Es un fármaco inmunosupresor, principalmente para el tratamiento de la artritis reumatoide (AR) y la artritis idiopática juvenil sistémica, una forma grave de AR en niños. El tocilizumab suele administrarse mediante infusión intravenosa en dosis de entre 6 mg/kg y 8 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir tocilizumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 240 mg/mL a aproximadamente 800 mg/mL.

30 Rituximab (RITUXAN®) es un mAb quimérico anti-CD20 utilizado para tratar diversas enfermedades caracterizadas por un número excesivo de linfocitos B, linfocitos B hiperactivos o linfocitos B disfuncionales. El rituximab se utiliza para tratar los cánceres del sistema sanguíneo blanco, como las leucemias y los linfomas, incluido el linfoma de Hodgkin y su subtipo con predominio linfocítico. Ha demostrado ser un tratamiento eficaz contra la artritis reumatoide. El rituximab se utiliza ampliamente para tratar casos difíciles de esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico y anemias autoinmunes.

35 40 Rituximab se comercializa conjuntamente en EE.UU. bajo el nombre comercial RITUXAN® por Biogen y Genentech y fuera de EE.UU. bajo el nombre comercial MABTHERA® por Roche. RITUXAN® se distribuye en viales de un solo uso conteniendo 100 mg/10 mL y 500 mg/50 mL. RITUXAN® se administra normalmente mediante infusión IV de aproximadamente 375 mg/m². El término "rituximab", tal como se utiliza aquí, incluye el mAb anti-CD20 conocido bajo la Denominación Común Internacional "RITUXIMAB". Rituximab incluye mAbs descritos en Patente de EE. UU. N.º 5,736,137. El rituximab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial de RITUXAN® y MABTHERA® y sus biosimilares.

45 Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir rituximab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 475 mg/mL a aproximadamente 875 mg/mL (aproximada utilizando un rango de superficie corporal de 1,3 a 2,3 metros cuadrados, derivado de la fórmula de Mosteller para personas de 1,5 m (5 pies), 40 kg a 1,8 m (6 pies), 100 kg). Las concentraciones se calculan para una formulación de 1 mL.

50 55 El ipilimumab es un mAb humano desarrollado por Bristol-Myers Squibb Company ("Bristol-Myers Squibb"). Comercializado como YERVOY®, se utiliza para el tratamiento del melanoma y también se está sometiendo a ensayos clínicos para el tratamiento del carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM), el cáncer pulmonar microcítico (CPM) y el cáncer de próstata metastásico refractario a las hormonas. Actualmente, el ipilimumab se administra mediante infusión intravenosa de 3 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir ipilimumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 120 mg/mL a aproximadamente 300 mg/mL.

60 65 El raxibacumab (ABthrax®) es un mAb humano destinado a la profilaxis y el tratamiento del carbunclo inhalado. Actualmente se administra por infusión intravenosa. La dosis sugerida en adultos y niños de más de 50 kg es de 40 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir raxibacumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 1.000 mg/mL a aproximadamente 4.000 mg/mL.

65 70 El nimotuzumab (THERACIM®, BIOMAB EGFR®, THERALOC®, CIMAherr®) es un mAb humanizado con un peso molecular de aproximadamente 151 kDa utilizado para tratar carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, glioma maligno de alto grado recurrente o refractario, astrocitomas anaplásicos, glioblastomas y glioma pontino intrínseco difuso. El nimotuzumab suele administrarse mediante infusión intravenosa de aproximadamente 200 mg semanales. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir nimotuzumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 200 mg/mL.

5 El brentuximab vedotina (ADCETRIS®) es un conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra la proteína CD30, expresada en el linfoma de Hodgkin clásico y el linfoma anaplásico de células grandes sistémico. Se administra mediante infusión intravenosa de aproximadamente 1,8 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir brentuximab vedotin, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 80 mg/mL a aproximadamente 200 mg/mL.

10 10 Itolizumab (ALZUMAB®) es un mAb IgG1 humanizado desarrollado por Biocon. Itolizumab completó con éxito estudios de fase III en pacientes con psoriasis de moderada a grave. Itolizumab ha recibido la aprobación de comercialización en la India; no se ha presentado una solicitud de aprobación al FDA.

15 15 El obinutuzumab (GAZYVA®), desarrollado originalmente por Roche y perfeccionado en virtud de un acuerdo de colaboración con Biogen, es un mAb humanizado anti-CD20 aprobado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica. También se está investigando en ensayos clínicos de fase III para pacientes con diversos linfomas. Se están administrando dosis de aproximadamente 1.000 mg mediante infusión intravenosa.

20 20 Certolizumab pegol (CIMZIA®) es un fragmento Fab' de anticuerpo recombinante humanizado, con especificidad para el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) humano, conjugado con un polietilenglicol de aproximadamente 40kDa (PEG2MAL40K). El peso molecular del certolizumab pegol es de aproximadamente 91 kDa.

25 25 Otros anticuerpos terapéuticos que pueden formularse con agentes reductores de la viscosidad son CT-P6 de Celltrion, Inc. (Celltrion).

Terapias con anticuerpos en las últimas fases de ensayo y desarrollo

30 30 35 35 La progresión de las terapias con anticuerpos hasta las últimas fases de desarrollo clínico y revisión reglamentaria avanza a gran velocidad. En 2014, hay más de 300 mAbs en ensayos clínicos y 30 terapias de anticuerpos patrocinadas comercialmente que se están evaluando en estudios de fase avanzada. Recientemente se han presentado al FDA las primeras solicitudes de comercialización de dos mAbs (vedolizumab y ramucirumab). En la actualidad, Amgen patrocina varios ensayos de fase III en curso sobre el uso de brodalumab en pacientes con psoriasis en placas, y hay otros ensayos previstos o que están reclutando pacientes. XBiotech, Inc. ha patrocinado dos ensayos clínicos de fase I de NIABp1 (Xilonix) para pacientes con cáncer avanzado o diabetes de tipo 2. Otros ensayos con MABp1 están reclutando pacientes. Múltiples ensayos están patrocinados por MedImmune, LLC ("MedImmune") y en curso o reclutando pacientes para el tratamiento de la leucemia con moxetumomab pasudotox. Se están llevando a cabo estudios de seguridad y eficacia a largo plazo para el uso de tildrakizumab en el tratamiento de la psoriasis crónica en placas. Recientemente se han completado múltiples ensayos de fase II para el uso de rilotumumab en el tratamiento de diversos tipos de cáncer.

40 40 45 45 Al menos 28 mAbs son proteínas de alto peso molecular que se encuentran actualmente en estudios de fase III, o los han finalizado recientemente, para el tratamiento de trastornos inflamatorios o inmunológicos, cánceres, hipercolesterolemia, osteoporosis, enfermedad de Alzheimer y enfermedades infecciosas. Los mAbs en ensayos de fase III o que han finalizado recientemente incluyen AMG 145, elotuzumab, epratuzumab, farletuzumab (MORAb-003), gantenerumab (RG1450), gevokizumab, inotuzumab ozogamicina, itolizumab, ixekizumab, lebrikizumab, mepolizumab, naptumomab estafenatox, necitumumab, nivolumab, ocrelizumab, onartuzumab, racotumomab, ramucirumab, reslizumab, romosozumab, sarilumab, secukinumab, sirukumab, solanezumab, tabalumab y vedolizumab. También se está evaluando una mezcla de mAb (actoxumab y bezlotoxumab) en ensayos de fase III. Véase, por ejemplo, Reichert, MAbs 5:1-4, 2013.

50 50 55 55 Vedolizumab es un mAb desarrollado por Millennium Pharmaceuticals, Inc ("Millennium"; filial de Takeda Pharmaceuticals Company, Ltd. ("Takeda"). ("Takeda")). Vedolizumab resultó seguro y muy eficaz para inducir y mantener la remisión clínica en pacientes con colitis ulcerosa de moderada a grave. Los ensayos clínicos de fase III demostraron que cumple los objetivos de inducir una respuesta clínica y mantener la remisión en pacientes con Crohn y colitis ulcerosa. Los estudios que evalúan los resultados clínicos a largo plazo muestran que cerca del 60% de los pacientes alcanzan la remisión clínica. Una dosis común de vedolizumab son 6 mg/kg por infusión IV.

60 60 65 65 Ramucirumab es un mAb humano que se está desarrollando para el tratamiento de tumores sólidos. Se están realizando ensayos clínicos de fase III para el tratamiento del cáncer de mama, el adenocarcinoma gástrico metastásico, el cáncer de pulmón no microcítico y otros tipos de cáncer. Ramucirumab, en algaproximadamente ensayos de fase III, se administra a aproximadamente 8 mg/kg mediante infusión intravenosa.

El rilotumumab es un mAb humano que inhibe la acción del factor de crecimiento de hepatocitos/factor de dispersión. Desarrollado por Amgen, se encuentra en ensayos de fase III como tratamiento de tumores sólidos. En un estudio abierto de fase III sobre el tratamiento con rilotumumab en pacientes con cáncer de esófago avanzado o metastásico se administrará rilotumumab a razón de aproximadamente 15 mg/kg mediante infusión intravenosa.

65 65 Evolocumab (AMG 145), también desarrollado por Amgen, es un mAb que se une a la PCSK9. Evolocumab está indicado para la hipercolesterolemia y la hiperlipidemia.

Alirocumab (REGN727) es un mAb humano de Regeneron Pharmaceuticals, Inc. ("Regeneron") y Sanofi-Aventis U.S.

LLC ("Sanofi"), indicado para la hipercolesterolemia y el síndrome coronario agudo.

Naptumomab estafenatox, ABR-217620 de Active Biotech AB ("Active Biotech") es un mAb indicado para el carcinoma de células renales.

5

Racotumomab de CIMAB, SA ("CIMAB"); Laboratorio Elea S.A.C.I.F.y A. es un mAb indicado para el cáncer de pulmón no microcítico.

Otros anticuerpos que pueden formularse con agentes reductores de la viscosidad son bococizumab (PF-04950615) y tanezumab; ganitumab, blinatumomab, trebananib de Amgen; inmunoglobulina de ántrax de Cangene Corporation; teplizumab de MacroGenics, Inc.MK-3222, MK-6072 de Merck & Co ("Merck"); girentuximab de Wilex AG; RIGScan de Navidea Biopharmaceuticals ("Navidea"); PF-05280014 de Pfizer; SA237 de Chugai Pharmaceutical Co. Ltd. ("Chugai") ("Chugai"); guselkumab de Janssen/ Johnson and Johnson Services, Inc. ("J&J"); Antithrombin Gamma (KW-3357) de Kyowa; y CT-P10 de Celltrion.

15

Anticuerpos en ensayos clínicos iniciales

Muchos mAbs han entrado recientemente, o están entrando, en ensayos clínicos. Pueden incluir proteínas que actualmente se administran por infusión intravenosa, preferentemente las que tienen un peso molecular superior a 20 aproximadamente 120 kDa, típicamente de aproximadamente 140 kDa a aproximadamente 180 kDa. También pueden incluir proteínas de alto peso molecular, como fármacos conjugados con albúmina o péptidos que también están entrando en ensayos clínicos o han sido aprobados por el FDA. Muchos mAbs de Amgen se encuentran actualmente en ensayos clínicos. Puede tratarse de proteínas de alto peso molecular, por ejemplo, AMG 557, que es un anticuerpo monoclonal humano desarrollado conjuntamente por Amgen y AstraZeneca y actualmente en ensayos de fase I para el tratamiento 25 del lupus. Asimismo, AMG 729 es un mAb humanizado desarrollado por Amgen y actualmente en ensayos de fase I para el tratamiento del lupus y la artritis reumatoide. Además, el AMG 110 es un mAb para la molécula de adhesión celular epitelial; el AMG 157, desarrollado conjuntamente por Amgen y AstraZeneca, es un mAb humano actualmente en fase I para el tratamiento del asma; el AMG 167 es un mAb humanizado que ha sido evaluado en múltiples ensayos de fase I para el tratamiento de la osteopenia; AMG 334, que ha completado los estudios de dosificación de fase I y se encuentra 30 actualmente en estudios de fase II para el tratamiento de las migrañas y los sofocos, es un mAb humano que inhibe el péptido relacionado con el gen de la calcitonina; AMG 780 es un mAb humano antiangiopietina que inhibe la interacción entre el receptor Tie2 selectivo de las células endoteliales y sus ligandos Ang1 y Ang2, y que ha finalizado recientemente los ensayos de fase I como tratamiento del cáncer; AMG 811 es un anticuerpo monoclonal humano que inhibe el interferón gamma y que se está investigando como tratamiento del lupus eritematoso sistémico; AMG 820 es un mAb humano que inhibe la c-fms y disminuye la función de los macrófagos asociados a tumores (TAM) y se está investigando como 35 tratamiento contra el cáncer; AMG 181, desarrollado conjuntamente por Amgen y AstraZeneca, es un mAb humano que inhibe la acción de alfa4/beta7 y se encuentra en ensayos de fase II como tratamiento de la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn.

40

Muchos mAbs se encuentran actualmente en fase de ensayo clínico para el tratamiento de trastornos autoinmunitarios. Estos mAbs pueden incluirse en formulaciones líquidas de baja viscosidad y alto peso molecular. RG7624 es un mAb totalmente humano diseñado para unirse específica y selectivamente a la familia de citoquinas interleucina-17 humana. Está en curso un ensayo clínico de fase I que evalúa el RG7624 para enfermedades autoinmunes. BIIB033 es un mAb anti-LINGO-1 de Biogen actualmente en ensayos de fase II para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

45

Las proteínas de alto peso molecular también pueden incluir el AGS-009, un mAb dirigido al IFN-alfa desarrollado por Argos Therapeutics, Inc. que recientemente completó los ensayos de fase I para el tratamiento del lupus. Se administra a los pacientes hasta 30 mg/kg de AGS-009 mediante infusión intravenosa. El BT-081, desarrollado por AbbVie, se encuentra en ensayos de fase II para pacientes con artritis reumatoide. Certolizumab pegol (CIMZIA®) es un mAb en 50 ensayos de fase II para la espondilitis anquilosante y la artritis reumatoide juvenil. El clazakizumab, un mAb anti-IL6, está siendo probado en fase II por Bristol-Myers Squibb.

55

CNTO-136 (sirukumab) y CNTO-1959 son mAB que Janssen ha sometido recientemente a ensayos de fase II y fase III. El dacizumab (anteriormente comercializado como ZENAPAX® por Roche) está siendo sometido o ha sido sometido recientemente por AbbVie a múltiples ensayos de fase III para el tratamiento de la esclerosis múltiple. El epratuzumab es un mAb humanizado en ensayos de fase III para el tratamiento del lupus. El canakinumab (ILARIS®) es un mAb humano dirigido contra la interleucina-1 beta. Se aprobó para el tratamiento de los síndromes periódicos asociados a la criopirina. El canakinumab se encuentra en ensayos de fase I como posible tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la gota y la arteriopatía coronaria. El mavrilimumab es un mAb humano diseñado para el tratamiento de la artritis 60 reumatoide. Descubierto como CAM-3001 por Cambridge Antibody Technology, el mavrilimumab está siendo desarrollado por MedImmune.

65

MEDI-546 y MEDI-570 son mAbs actualmente en fase I y II de ensayo por AstraZeneca para el tratamiento del lupus. MEDI-546 se administra en el estudio de fase II mediante infusiones intravenosas regulares de 300-1.000 mg. MEDI-551, otro mAb que AstraZeneca está desarrollando para numerosas indicaciones, también se administra actualmente por infusión intravenosa. NN8209, un mAb que bloquea el receptor C5aR desarrollado por Novo Nordisk A/S ("Novo Nordisk"),

ha completado un estudio de dosificación de fase II para el tratamiento de la artritis reumatoide. El NN8210 es otro mAb antiC5aR que está desarrollando Novo Nordisk y que actualmente se encuentra en ensayos de fase I. IPH2201 (NN8765) es un mAb humanizado dirigido contra NKG2A que está siendo desarrollado por Novo Nordisk para tratar a pacientes con afecciones inflamatorias y enfermedades autoinmunes. El NN8765 ha finalizado recientemente los ensayos de fase I.

5 El olokizumab es un mAb humanizado que actúa de forma potente contra la citocina IL-6. La IL-6 interviene en varias vías autoinmunes e inflamatorias. Olokizumab ha finalizado los ensayos de fase II para el tratamiento de la artritis reumatoide. Otelixizumab, también conocido como TRX4, es un mAb que se está desarrollando para el tratamiento de la diabetes de tipo 1, la artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunes. El ozoralizumab es un mAb humanizado que ha completado los ensayos de fase II.

10 Pfizer tiene en marcha ensayos de fase I de los mAbs PD-360324 y PF-04236921 para el tratamiento del lupus. Pfizer ha desarrollado un biosimilar del rituximab, PF-05280586, que se encuentra en ensayos de fase I/fase II para la artritis reumatoide.

15 El rontalizumab es un mAb humanizado desarrollado por Genentech. Recientemente ha finalizado los ensayos de fase II para el tratamiento del lupus. SAR113244 (anti-CXCR5) es un mAb de Sanofi en ensayos de fase I. Sifalimumab (mAb anti-IFN-alfa) es un mAb en ensayos de fase II para el tratamiento del lupus.

20 Una formulación líquida de bajo peso molecular y baja viscosidad puede incluir uno de los mAbs en fase inicial de desarrollo clínico para el tratamiento de diversos trastornos sanguíneos. Por ejemplo, Belimumab (BENLYSTA®) ha finalizado recientemente los ensayos de fase I en pacientes con vasculitis. Otros mAbs en fase inicial de ensayo para trastornos sanguíneos son el BI-655075 de Boehringer Ingelheim GmbH "Boehringer Ingelheim", el mAb de ferroportina y el mAb de hepcidina de Eli Lilly, y el SelG1 de Selexys Pharmaceuticals, Corp. ("Selexys").

25 En una formulación líquida de baja viscosidad y alto peso molecular pueden incluirse uno o más mAbs en fase inicial de desarrollo para el tratamiento de diversos tipos de cáncer y afecciones relacionadas. United Therapeutics, Corporation tiene dos mAbs en ensayos de fase I, 8H9 mAb y ch14.18 mAb. Los mAbs ABT-806, enavatuzumab y volociximab de AbbVie se encuentran en las primeras fases de desarrollo. Actinium Pharmaceuticals, Inc ha realizado ensayos en fase inicial de los mAbs Actimab-A (M195 mAb), anti-CD45 mAb e Iomab-B. Seattle Genetics, Inc. ("Seattle Genetics") tiene varios mAbs en ensayos de fase inicial para el cáncer y afecciones relacionadas, como el ADC anti-CD22 (RG7593; pinatuzumab vedotin), el ADC anti-CD79b (RG7596), el ADC anti-STEAPI (RG7450), ASG-5ME y ASG-22ME de Agensys, Inc. ("Agensys"), el conjugado anticuerpo-fármaco RG7458, y vorsetuzumab mafodotin. Los tratamientos oncológicos en fase inicial de Genentech pueden incluirse en formulaciones de baja viscosidad, como ALT-836, los conjugados anticuerpo-fármaco RG7600 y DEDN6526A, el ADC anti-CD22 (RG7593), el mAb anti-EGFL7 (RG7414), el mAb anti-HER3/EGFR DAF (RG7597), el mAb anti-PD-L1 (RG7446), DFRF4539A y MINT1526A. Bristol-Myers Squibb está desarrollando mAbs en fase inicial para la terapéutica del cáncer, entre ellos los identificados como anti-CXCR4, anti-PD-L1, IL-21 (BMS-982470), lirilumab y urelumab (anti-CD137). Otros mAbs en fase inicial de ensayos terapéuticos contra el cáncer son APN301 (hu14.18-IL2) de Apeiron Biologics AG, AV-203 de AVEO Pharmaceuticals, Inc. ("AVEO"), AVX701 y AVX901 de AlphaVax, BAX-69 de Baxter International, Inc. ("Baxter"), BAY 79-4620 y BAY 20-10112 de Bayer HealthCare AG, BHQ880 de Novartis AG, 212-Pb-TCMTrastuzumab de AREVA Med, AbGn-7 de AbGenomics International Inc, y ABIO-0501 (TALL-104) de Abiogen Pharma S.p.A.

30 Otros anticuerpos terapéuticos que pueden formularse con agentes reductores de la viscosidad son alzumab, GA101, daratumumab, siltuximab, ALX-0061, ALX-0962, ALX-0761, bimagumab (BYM338), CT-011 (pidilizumab), actoxumab/bezlotoxumab (MK-3515A), MK-3475 (pembrolizumab), dalotuzumab (MK-0646), icrucumab (IMC-18F1, LY3012212), AMG 139 (MEDI2070), SAR339658, dupilumab (REGN668), SAR156597, SAR256212, SAR279356, SAR3419, SAR153192 (REGN421, enotucumab), SAR307746 (nesvacumab), SAR650984, SAR566658, SAR391786, SAR228810, SAR252067, SGN-CD19A, SGN-CD33A, SGN-LIVIA, ASG 15ME, Anti-LINGO, BIIB037, ALXN1007, 35 teprotumumab, concizumab, anrukizumab (IMA-638), ponezumab (PF-04360365), PF-03446962, PF-06252616, etrolizumab (RG7413), quilizumab, ranibizumab, lampalizumab, onclacumab, gentenerumab, crenezumab (RG7412), IMC-RON8 (narnatumab), tremelimumab, vantictumab, eemcizumab, ozanezumab, mapatumumab, tralokinumab, XmAb5871, XmAb7195, cixutumumab (LY3012217), LY2541546 (blosozumab), olaratumab (LY3012207), MEDI4893, MEDI573, MEDI0639, MEDI3617, MEDI4736, MEDI6469, MEDI0680, MEDI5872, PF-05236812 (AAB-003), PF-40

40 y AVX901 de AlphaVax, BAX-69 de Baxter International, Inc. ("Baxter"), BAY 79-4620 y BAY 20-10112 de Bayer HealthCare AG, BHQ880 de Novartis AG, 212-Pb-TCMTrastuzumab de AREVA Med, AbGn-7 de AbGenomics International Inc, y ABIO-0501 (TALL-104) de Abiogen Pharma S.p.A.

45 Otros anticuerpos terapéuticos que pueden formularse con agentes reductores de la viscosidad son alzumab, GA101, daratumumab, siltuximab, ALX-0061, ALX-0962, ALX-0761, bimagumab (BYM338), CT-011 (pidilizumab), actoxumab/bezlotoxumab (MK-3515A), MK-3475 (pembrolizumab), dalotuzumab (MK-0646), icrucumab (IMC-18F1, LY3012212), AMG 139 (MEDI2070), SAR339658, dupilumab (REGN668), SAR156597, SAR256212, SAR279356, SAR3419, SAR153192 (REGN421, enotucumab), SAR307746 (nesvacumab), SAR650984, SAR566658, SAR391786, SAR228810, SAR252067, SGN-CD19A, SGN-CD33A, SGN-LIVIA, ASG 15ME, Anti-LINGO, BIIB037, ALXN1007, teprotumumab, concizumab, anrukizumab (IMA-638), ponezumab (PF-04360365), PF-03446962, PF-06252616, etrolizumab (RG7413), quilizumab, ranibizumab, lampalizumab, onclacumab, gentenerumab, crenezumab (RG7412), IMC-RON8 (narnatumab), tremelimumab, vantictumab, eemcizumab, ozanezumab, mapatumumab, tralokinumab, XmAb5871, XmAb7195, cixutumumab (LY3012217), LY2541546 (blosozumab), olaratumab (LY3012207), MEDI4893, MEDI573, MEDI0639, MEDI3617, MEDI4736, MEDI6469, MEDI0680, MEDI5872, PF-05236812 (AAB-003), PF-05082566, BI 1034020, RG7116, RG7356, RG7155, RG7212, RG7599, RG7636, RG7221, RG7652 (MPSK3169A), RG7686, HuMaxTFADC, MOR103, BT061, MOR208, OMP59R5 (anti-notch 2/3), VAY736, MOR202, BAY94-9343, LJM716, OMP52M51, GSK933776, GSK249320, GSK1070806, NN8828, CEP-37250/KHK2804 AGS-16M8F, AGS-16C3F, LY3016859, LY2495655, LY2875358 y LY2812176.

50 Otros mAbs en fase inicial que pueden formularse con agentes reductores de la viscosidad son benralizumab, MEDI-8968, anifrolumab, MEDI7183, sifalimumab, MEDI-575, tralokinumab de AstraZeneca y MedImmune; BAN2401 de Biogen Idec/Eisai Co. LTD ("Eisai")/ BioArctic Neuroscience AB; CDP7657 un fragmento de anticuerpo Fab pegilado monovalente anti-CD40L, STX-100 un mAb anti-avB6, BIIB059, Anti-TWEAK (BIIB023), y BIIB022 de Biogen; fulranumab de Janssen y Amgen; BI-204/RG7418 de BioInvent International/Genentech; BT-062 (indatuximab ravidansina) de Biotest Pharmaceuticals Corporation; XmAb de Boehringer Ingelheim/Xencor; anti-IP10 de Bristol-Myers Squibb; J 591 Lu-177 de BZL Biologics LLC; CDX-011 (glembatumumab vedotin), CDX-0401 de Celldex Therapeutics; foravirumab de Crucell;

5 tigatuzumab de Daiichi Sankyo Company Limited; MORAb-004, MORAb-009 (amatuximab) de Eisai; LY23 82770 de Eli
Lilly; DI17E6 de EMD Serono Inc; zanolimumab de Emergent BioSolutions, Inc.FG-3019 de FibroGen, Inc; catumaxomab
de Fresenius SE & Co. KGaA; pateclizumab, rontalizumab de Genentech; fresolimumab de Genzyme & Sanofi; GS-6624
6 (simtuzumab) de Gilead; CNTO-328, bapineuzumab (AAB-001), carlumab, CNTO-136 de Janssen; KB003 de KaloBios
Pharmaceuticals, Inc.; ASKP1240 de Kyowa; RN-307 de Labrys Biologics Inc.ecromeximab de Life Science
7 Pharmaceuticals; LY2495655, LY2928057, LY3015014, LY2951742 de Eli Lilly; MBL-HCV1 de MassBiologics; AME-133v
de MENTRIK Biotech, LLC; abituzumab de Merck KGaA; MM-121 de Merrimack Pharmaceuticals, Inc.MCS110, QAX576,
8 QBX258, QGE031 de Novartis AG; HCD122 de Novartis AG y XOMA Corporation ("XOMA"); NN8555 de Novo Nordisk;
9 bavituximab, cotara de Peregrine Pharmaceuticals, Inc.PSMA-ADC de Progenies Pharmaceuticals, Inc; oregovomab de
10 Quest Pharmatech, Inc; fasinumab (REGN475), REGN1033, SAR231893, REGN846 de Regeneron; RG7160, CIM331,
RG7745 de Roche; ibalizumab (TMB-355) de TaiMed Biologics Inc.TCN-032 de Theraclone Sciences; TRC105 de
11 TRACON Pharmaceuticals, Inc; UB-421 de United Biomedical Inc; VB4-845 de Viventia Bio, Inc; ABT-110 de AbbVie;
12 Caplacizumab, Ozoralizumab de Ablynx; PRO 140 de CytoDyn, Inc; GS-CDA1, MDX-1388 de Medarex, Inc.AMG 827,
13 AMG 888 de Amgen; ublituximab de TG Therapeutics Inc; TOL101 de Tolera Therapeutics, Inc; huN901-DM1
14 (lrvotuzumab mertansine) de ImmunoGen Inc; combinación epratuzumab Y-90/veltuzumab (IMMU-102) de
15 Immunomedics, Inc.mAb antifibrina/ 3B6/22 Tc-99m de Agenix, Limited; ALD403 de Alder Biopharmaceuticals, Inc; RN6G/
PF-04382923 de Pfizer; CG201 de CG Therapeutics, Inc; KB001-A de KaloBios Pharmaceuticals/Sanofi; KRN-23 de
16 Kyowa; Y-90 hPAM 4 de Immunomedics, Inc.Tarextumab de Morphosys AG y OncoMed Pharmaceuticals, Inc; LFG316
de Morphosys AG y Novartis AG; CNT03157, CNT06785 de Morphosys AG y Janssen; RG6013 de Roche y Chugai; MM-
17 111 de Merrimack Pharmaceuticals, Inc. ("Merrimack"); GSK2862277 de GlaxoSmithKline; AMG 282, AMG 172, AMG
18 595, AMG 745, AMG 761 de Amgen; BVX-20 de Biocon; CT-P19, CT-P24, CT-P25, CT-P26, CT-P27, CT-P4 de Celltrion;
19 GSK284933, GSK2398852, GSK2618960, GSK1223249, GSK933776A de Glaxo SmithKline; anetumab ravidansine de
20 Morphosys AG y Bayer AG; BI-836845 de Morphosys AG y Boehringer Ingelheim; NOV-7, NOV- 8 de Morphosys AG y
21 Novartis AG; MM-302, MM-310, MM-141, MM-131, MM-151 de Merrimack, RG7882 de Roche & Seattle Genetics; RG7841
de Roche/ Genentech; PF-06410293, PF-06438179, PF-06439535, PF-04605412, PF-05280586 de Pfizer; RG7716,
22 RG7936, gentenerumab, RG7444 de Roche; MEDI-547, MEDI-565, MEDI1814, MEDI4920, MEDI8897, MEDI-4212,
23 MEDI-5117, MEDI-7814 de AstraZeneca; ulocuplumab, adnectina PCSK9 de Bristol-Myers Squibb; FPA009, FPA145 de
24 FivePrime Therapeutics, Inc.GS-5745 de Gilead; BIW-8962, KHK4083, KHK6640 de Kyowa Hakko Kirin; MM-141 de
25 Merck KGaA; REGN1154, REGN1193, REGN1400, REGN1500, REGN1908-1909, REGN2009, REGN2176-3, REGN728
de Regeneron; SAR307746 de Sanofi; SGN-CD70A de Seattle Genetics; ALX-0141, ALX-0171 de Ablynx; milatuzumab-
26 DOX, milatuzumab, TF2, de Immunomedics, Inc.MLN0264 de Millennium; ABT-981 de AbbVie; AbGn-168H de
27 AbGenomics International Inc; fclatuzumab de AVEO; BI-505 de BioInvent International; CDX-1127, CDX-301 de Celldex
Therapeutics; CLT-008 de Cellerant Therapeutics Inc.VGX-100 de Circadian; U3-1565 de Daiichi Sankyo Company
28 Limited; DKN-01 de Dekkun Corp; flanvotumab (proteína TYRP1), anticuerpo IL-1 β , IMC-CS4 de Eli Lilly; VEGFR3 mAb,
29 IMC-TR1 (LY3022859) de Eli Lilly e ImClone, LLC; Anthim de Elusys Therapeutics Inc.Hul2G7 de Galaxy Biotech LLC;
30 IMGB853, IMGN529 de ImmunoGen Inc; CNTO-5, CNTO-5825 de Janssen; KD-247 de Kaketsuken; KB004 de KaloBios
31 Pharmaceuticals; MGA271, MGAH22 de MacroGenics, Inc.XmAb5574, de MorphoSys AG/Xencor; ensituximab (NPC-
32 1C), de Neogenix Oncology, Inc; LFA102, de Novartis AG y XOMA; ATI355, de Novartis AG; SAN-300, de Santarus Inc;
33 SelG1, de Selexys; HuM195/rGel, de Targa Therapeutics, Corp; VX15, de Teva Pharmaceuticals, Industries Ltd. ("Teva").
34 ("Teva") y Vaccinex Inc.; TCN-202 de Theraclone Sciences; XmAb2513, XmAb5872 de Xencor; XOMA 3AB de XOMA y
35 National Institute for Allergy and Infectious Diseases; vacuna de anticuerpos contra el neuroblastoma de MabVax
Therapeutics; Cytolin de CytoDyn, Inc.Thrivixa de Emergent BioSolutions Inc. y FB 301 de Cytovance Biologics; mAb
contra la rabia de Janssen y Sanofi; mAb contra la gripe de Janssen y financiado en parte por los Institutos Nacionales de
36 Salud; MB-003 y ZMapp de Mapp Biopharmaceutical, Inc. y ZMAb de Defyrus Inc.

45 B. Agentes reductores de la viscosidad

La viscosidad de las formulaciones de proteínas líquidas, incluidas las proteínas de bajo y/o alto peso molecular, se reduce
50 mediante la adición de uno o más agentes reductores de la viscosidad. Las formulaciones farmacéuticas pueden
convertirse de fluidos no newtonianos a newtonianos mediante la adición de una cantidad eficaz de uno o más agentes
reductores de la viscosidad. Las formulaciones de la invención comprenden cimetidina o una sal farmacéuticamente
aceptable de la misma.

Cuando se emplean en una formulación destinada a ser administrada a un ser humano u otro mamífero, los agentes
55 reductores de la viscosidad, al igual que la propia formulación, deben ser farmacéuticamente aceptables. Los agentes
reductores de la viscosidad suelen ser compuestos orgánicos que contienen al menos un átomo de no carbono y no
hidrógeno. Preferentemente, los agentes reductores de la viscosidad contienen hidrógeno, carbono, oxígeno y al menos
otro tipo de átomo. En ciertas realizaciones, los agentes reductores de la viscosidad adicionales se caracterizan por al
menos uno de los siguientes:

60 1) compuestos orgánicos que tengan al menos cuatro átomos de carbono y cuatro de hidrógeno, y al menos un
átomo de azufre, oxígeno, nitrógeno o fósforo;
2) un peso molecular comprendido entre aproximadamente 85 y 1.000 Da;
3) la presencia de al menos una fracción cargada u otra fracción hidrófila;
4) la presencia de al menos uno, preferiblemente dos, y más preferiblemente tres, enlaces de rotación libre;
5) la presencia de al menos un anillo sustituido;

6) una superficie molecular polar de al menos 24 Å², preferiblemente de al menos 50 Å², y más preferiblemente de al menos 80 Å²;

7) un volumen molar de al menos 75 cm³, preferiblemente de al menos 85 cm³, más preferiblemente de al menos 100 cm³, y lo más preferiblemente de al menos 120 cm³;

5 8) una polarizabilidad de al menos 10 cm³, preferiblemente de al menos 15 cm³, más preferiblemente de al menos 20 cm³, y más preferiblemente de al menos 25 cm³; y

9) la presencia de al menos uno, preferiblemente dos, y más preferiblemente tres donantes y/o aceptores de enlaces de hidrógeno.

10 En ciertas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad adicional se caracteriza por al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o los nueve atributos enumerados anteriormente. En ciertas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad se caracteriza además porque no contiene un grupo funcional aldehído o de triple enlace carbono-carbono.

15 En otras realizaciones, el agente reductor de la viscosidad adicional es una combinación de dos o más compuestos, cada uno de los cuales se caracteriza por al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o los nueve atributos enumerados anteriormente.

20 En algunas realizaciones, los agentes reductores de la viscosidad adicionales están catalogados como GRAS por el Organismo para el Control de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. ("el FDA"), a 11 de septiembre de 2014. "GRAS" es el acrónimo de la frase **G**enerally **R**ecognized **A**s **S**afe (Generalmente reconocido como seguro). En virtud de las secciones 201(s) y 409 de la Ley federal sobre comestibles, medicamentos y cosméticos (la Ley), cualquier sustancia que se añada intencionadamente a los alimentos es un aditivo alimentario y está sujeta a revisión y aprobación previas a la comercialización por parte del FDA, a menos que los expertos cualificados reconozcan de forma general que la sustancia ha demostrado adecuadamente su inocuidad en las condiciones de uso previstas, o a menos que el uso de la sustancia esté excluido de otro modo de la definición de aditivo alimentario. Otra fuente de compuestos es la Guía de Ingredientes Inactivos del FDA (IIG), y los equivalentes listados por el Consejo Internacional de Excipientes Farmacéuticos (IPEC) y la Agencia Europea del Medicamento (EMA), a 11 de septiembre de 2014. Las sustancias utilizadas en las fórmulas deben ser seguras para la inyección. Preferiblemente, el agente reductor de la viscosidad incluido en la lista GRAS se caracteriza por al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o los nueve atributos enumerados anteriormente.

25 30 En otras realizaciones, el agente reductor de la viscosidad adicional es un medicamento aprobado por el FDA o la EMA a fecha de 11 de septiembre de 2014. Al igual que los compuestos extraídos de las listas GRAS e IIG, los perfiles de toxicidad y seguridad de los medicamentos aprobados por el FDA y la EMA están bien establecidos. Además de reducir la viscosidad de la solución proteica, el uso de un medicamento aprobado por el FDA o la EMA brinda la oportunidad de realizar terapias combinadas. Preferiblemente, un agente reductor de la viscosidad para medicamentos aprobado por el FDA o la EMA se caracteriza por al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o los nueve atributos enumerados anteriormente.

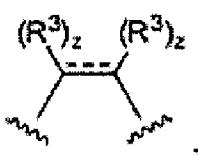
35 En algunas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad adicional incluye al menos un compuesto de Fórmula (I):



Fórmula (I),



representa un enlace simple o doble, A es un seleccionado entre O, S, SO₂, NR³, C(R³)₂ o:



5 donde R^3 se selecciona independientemente entre hidrógeno, R^2 , -OH, NH_2 , -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, -C(=O) R^{4a} , -C(=NR 4a) R^4 , -C(=O)OH, -C(=O)OR 4 , -OC(=O)R 4 , -OC(=O)OR 4 , -SO₃H, -SO₂N(R 4a)₂, -SO₂R 4 , -SO₂NR 4a C(=O)R 4 , -PO₃H₂, -R 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NHC(=NR 4a)NH-CN, -NR 4a C(=O)R 4 , -NR 4a C(=NR 4a)NR 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, donde R^2 se selecciona independientemente entre alquilo C₁₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂ y heterociclico C₂₋₁₂;

10 en el que cada alquilo C₁₋₁₂ puede estar sustituido una o más veces por cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂, heterociclico C₂₋₁₂, -OH, NH_2 , (=O), (=NR 4a), -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, -C(=O)R 4a , -C(=NR 4a)R 4 , -C(=O)OH, -C(=O)OR 4 , -OC(=O)R 4 , -OC(=O)OR 4 , -SO₃H, -SO₂N(R 4a)₂, -SO₂R 4 , -SO₂NR 4a C(=O)R 4 , -PO₃H₂, -R 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NHC(=NR 4a)NH-CN, -NR 4a C(=O)R 4 , -NR 4a SO₂R 4 , -NR 4a C(=NR 4a)NR 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NR 4a C(=O)N(R 4a)₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R 4a)₂, -OR 4 , -SR 4a , o -N(R 4a)₂;

15 en el que cada cicloalquilo C₃₋₁₂ puede estar sustituido una o más veces por alquilo C₁₋₁₂, C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂, heterociclico C₂₋₁₂, -OH, NH_2 , -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, -C(=O)R 4a , -C(=NR 4a)R 4 , -C(=O)OH, -C(=O)OR 4 , -OC(=O)R 4 , -OC(=O)OR 4 , -SO₃H, -SO₂N(R 4a)₂, -SO₂R 4 , -SO₂NR 4a C(=O)R 4 , -PO₃H₂, -R 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NHC(=NR 4a)NH-CN, -NR 4a C(=O)R 4 , -NR 4a SO₂R 4 , -NR 4a C(=NR 4a)NR 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NR 4a C(=O)N(R 4a)₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R 4a)₂, -OR 4 , -SR 4a , o -N(R 4a)₂;

20 en el que cada arilo C₆₋₁₂ puede estar sustituido una o más veces por alquilo C₁₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂, heterociclico C₂₋₁₂, -OH, NH_2 , -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, -C(=O)R 4a , -C(=NR 4a)R 4 , -C(=O)OH, -C(=O)OR 4 , -OC(=O)R 4 , -OC(=O)OR 4 , -SO₃H, -SO₂N(R 4a)₂, -SO₂R 4 , -SO₂NR 4a C(=O)R 4 , -PO₃H₂, -R 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NHC(=NR 4a)NH-CN, -NR 4a C(=O)R 4 , -NR 4a SO₂R 4 , -NR 4a C(=NR 4a)NR 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NR 4a C(=O)N(R 4a)₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R 4a)₂, -OR 4 , -SR 4a , o -N(R 4a)₂;

25 en el que cada heteroarilo C₁₋₁₂ puede estar sustituido una o más veces con alquilo C₁₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heterociclico C₂₋₁₂, -OH, NH_2 , -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, -C(=O)R 4a , -C(=NR 4a)R 4 , -C(=O)OH, -C(=O)OR 4 , -OC(=O)R 4 , -OC(=O)OR 4 , -SO₃H, -SO₂N(R 4a)₂, -SO₂R 4 , -SO₂NR 4a C(=O)R 4 , -PO₃H₂, -R 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NHC(=NR 4a)NH-CN, -NR 4a C(=O)R 4 , -NR 4a SO₂R 4 , -NR 4a C(=NR 4a)NR 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NR 4a C(=O)N(R 4a)₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R 4a)₂, -OR 4 , -SR 4a , o -N(R 4a)₂;

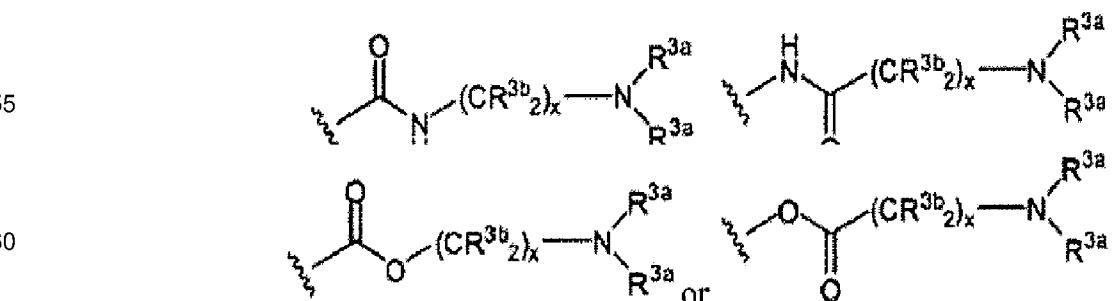
30 en el que cada heterociclico C₂₋₁₂ puede estar sustituido una o más veces con C₁₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂, -OH, NH_2 , -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, -C(=O)R 4a , -C(=NR 4a)R 4 , -C(=O)OH, -C(=O)OR 4 , -OC(=O)R 4 , -OC(=O)OR 4 , -SO₃H, -SO₂N(R 4a)₂, -SO₂R 4 , -SO₂NR 4a C(=O)R 4 , -PO₃H₂, -R 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NHC(=NR 4a)NH-CN, -NR 4a C(=O)R 4 , -NR 4a SO₂R 4 , -NR 4a C(=NR 4a)NR 4a C(=NR 4a)N(R 4a)₂, -NR 4a C(=O)N(R 4a)₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R 4a)₂, -OR 4 , -SR 4a , o -N(R 4a)₂;

35 donde R 4 se selecciona independientemente entre alquilo C₁₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂, heterociclico C₂₋₁₂, cada uno de los cuales puede estar sustituido una o más veces por -OH, -NH₂, -F, -Cl, -Br, -I, - NO_2 , -CN, -C(=O)OH, -SO₃H, -PO₃H₂, o -C(=O)NH₂;

40 donde R 4a puede ser R 4 o hidrógeno;

45 En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula (1) contiene al menos un sustituyente seleccionado entre -C(=O)OH, -SO₃H, -SO₂NHC(=O)R 4 , y -PO₃H₂. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (1) contiene al menos un grupo -SO₃H.

50 En ciertas realizaciones, uno o más de los sustituyentes R 3 pueden ser:



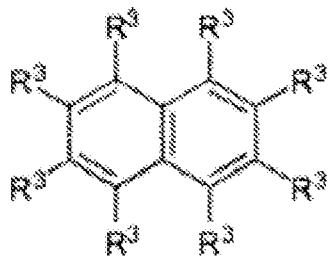
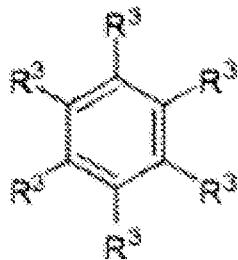
65 donde R 3a y R 3b se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂ y heterociclico C₂₋₁₂, C(=O)R 4a , -C(=O)OH, -C(=O)OR 4 , -SO₃H, -SO₂N(R 4a)₂, -SO₂R 4 , -SO₂NHC(=O)R 4 , C(=O)NH₂, -C(=O)N(R 4a)₂, -OR 4 , -SR 4a , y -N(R 4a)₂, y cuando dos R 3b cualesquiera están

enlazados al mismo átomo de carbono, los dos grupos R^{3b} pueden formar juntos un (=O), (=NR^{4a}), o (=C(R^{4a})₂); donde cada alquilo C₁₋₁₂, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, heteroarilo C₁₋₁₂ y heterociclico C₂₋₁₂ puede estar sustituido una o más veces con -OH, NH₂, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -C(=O)R^{4a}, -C(=NR^{4a})R⁴, -C(=O)OH, -C(=O)OR⁴, -OC(=O)R⁴, -OC(=O)OR⁴, -SO₃H, -SO₂N(R^{4a})₂, -SO₂R⁴, -SO₂NR^{4a}C(=O)R⁴, -PO₃H₂, -R^{4a}C(=NR^{4a})N(R^{4a})₂, -NHC(=NR^{4a})NH-CN, -NR^{4a}C(=O)R⁴, -NR^{4a}SO₂R⁴, -NR^{4a}C(=NR^{4a})NR^{4a}C(=NR^{4a})N(R^{4a})₂, -NR^{4a}C(=O)N(R^{4a})₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R^{4a})₂, -OR⁴, -SR^{4a}, o -N(R^{4a})₂; en el que R⁴ y R^{4a} son como se han definido anteriormente; donde x se selecciona entre 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 o 10; y en el que dos o más grupos cualesquiera de R³, R^{3a}, R⁴ y R^{4a} pueden formar juntos un anillo.

5

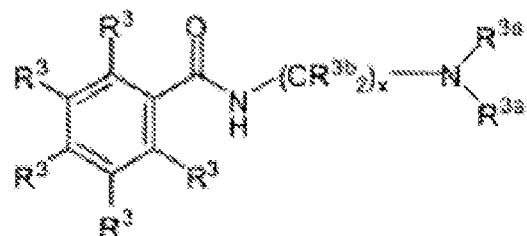
10

En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula (1) puede estar representado por el compuesto de Fórmula (1a) o (1b):

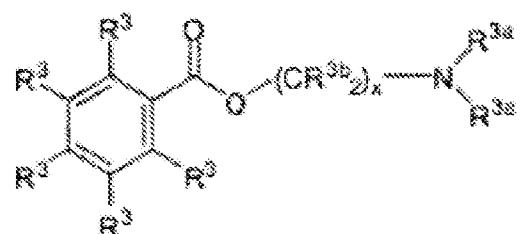


25 donde R³ tiene los significados indicados anteriormente.

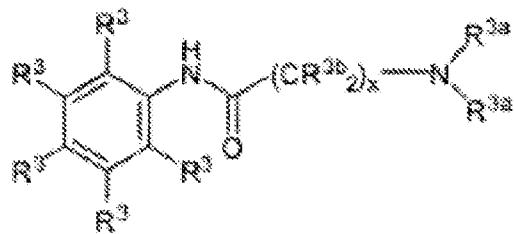
En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula (1a) puede estar representado por los compuestos de las Fórmulas (1a-i-iv):



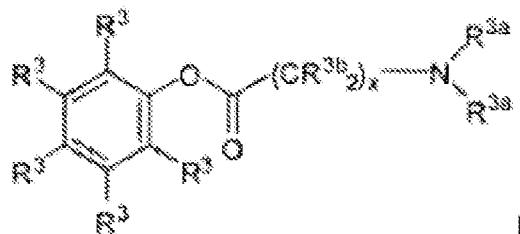
Fórmula (1a-i)



Fórmula (1a-ii),



Fórmula (1a-iii),



Fórmula (1a-iv)

45 donde R^3 se selecciona independientemente entre hidrógeno, NH_2 , CH_3 , Cl , OR^4 y NHR^4 ;

donde $x = 1$ ó 2 ;

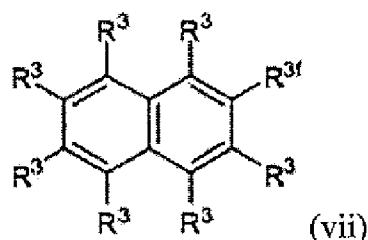
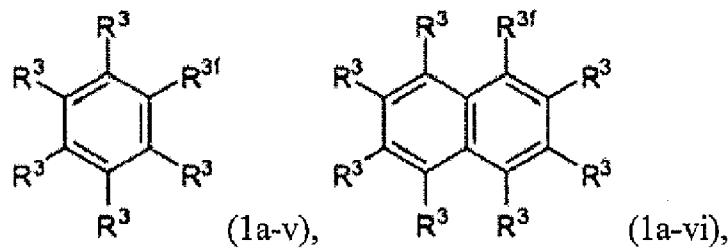
50 donde R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente entre hidrógeno y alquilo C_{1-12} ;

donde dicho alquilo C_{1-12} puede estar sustituido una o más veces por cicloalquilo C_{3-12} , arilo C_{6-12} , heteroarilo C_{1-12} , heterocílico C_{2-12} , -OH, NH_2 , -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -C(=O)R^{4a}, -C(=NR^{4a})R⁴, -C(=O)OH, -C(=O)OR⁴, -OC(=O)R⁴, -OC(=O)OR⁴, -SO₃H, -SO₂N(R^{4a})₂, -SO₂R⁴, -SO₂NR^{4a}C(=O)R⁴, -PO₃H₂, -R^{4a}C(=NR^{4a})N(R^{4a})₂, -NHC(=NR^{4a})NH-CN, -NR^{4a}C(=O)R⁴, -NR^{4a}SO₂R⁴, -NR^{4a}C(=NR^{4a})NR^{4a}C(=NR^{4a})N(R^{4a})₂, -NR^{4a}C(=O)N(R^{4a})₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R^{4a})₂, -OR⁴, -SR^{4a}, o -N(R^{4a})₂;

R^4 y R^{4a} son como se han definido anteriormente; y

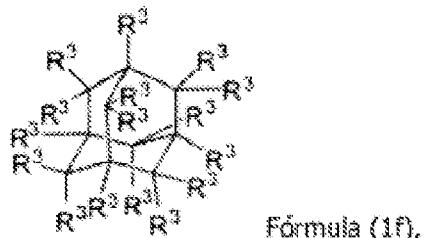
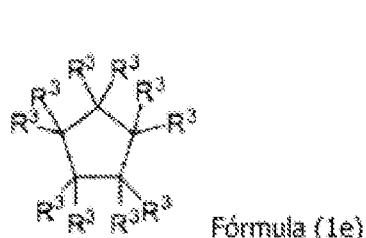
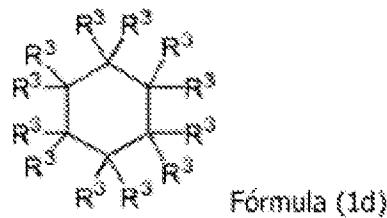
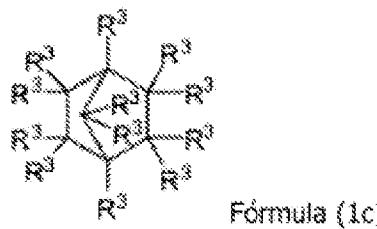
55 donde dos o más R^{3a} , R^{3b} , R^4 , R^{4a} cualesquiera pueden formar juntos un anillo.

El compuesto de Fórmula (1) puede estar representado por el compuesto de Fórmula (1a-v, vi o vii):



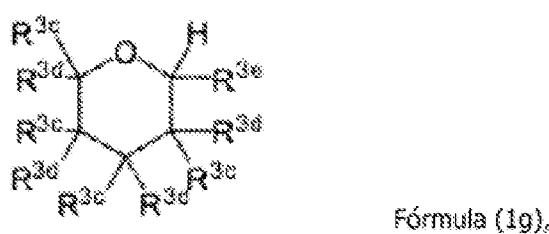
donde R^{3f} se selecciona entre $-C(=O)OH$, $-SO_3H$, $-SO_2NHC(=O)R^4$, y $-PO_3H_2$, y R^3 es como se ha definido anteriormente. En ciertas realizaciones preferidas, R^3 se selecciona independientemente entre hidrógeno, OH, NH₂, alquilo C₁₋₆ y COOH.

25 En otras realizaciones, el compuesto de Fórmula (1) puede estar representado por cualquiera de los compuestos de las Fórmulas (1c), (1d), (1e) o (1f):



donde R^3 tiene los significados indicados anteriormente.

50 En otras realizaciones, el compuesto de Fórmula (1) puede estar representado por un compuesto de Fórmula (1g):



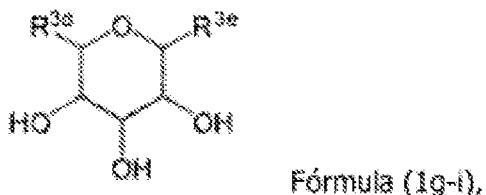
en el que R^{3c} se selecciona independientemente entre hidrógeno y R², en el que R² tiene los significados indicados anteriormente;

donde R^{3d} se selecciona independientemente entre hidrógeno, OH, NH₂, NH(alquilo C₁₋₆), N(alquilo C₁₋₆)₂; NHC(=O)(alquilo C₁₋₆), COOH y CH₂OH;

65 o dos grupos R^{3c} y R^{3d} cualesquiera conectados al mismo carbono pueden formar juntos un oxo (=O), un imino (=NR^{4a}) o una olefina (=C(R^{4a})₂), donde R^{4a} tiene los significados indicados anteriormente;

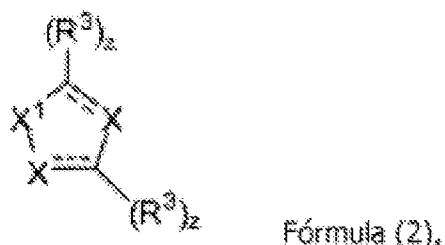
5 donde R^{3e} se selecciona entre hidrógeno, -OH u OR⁴; y
donde R⁴ tiene los significados indicados anteriormente.

10 En ciertas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad incluye un compuesto de Fórmula (1g-i):



en la que R^{3e} se selecciona entre OH y -alquilo OC₁₋₁₂, que está además sustituido con al menos un OH y al menos un COOH; y
donde R^{3d} se selecciona entre COOH y CH₂OH.

En algunas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad incluye un compuesto de fórmula (2):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

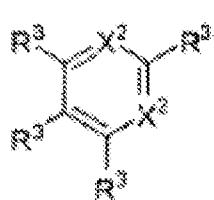
donde representa un enlace simple o doble;
X se selecciona independientemente entre calcógeno, N(R³)_z y C(R³)_z;
X¹ está ausente, o es calcógeno, (R³)_z, C(R³)_z o:



donde R³ tiene los significados dados para el compuesto de Fórmula (1); siempre que cuando el substituyente (R³)_z esté conectado a un nitrógeno hibridizado sp², z sea 0 ó 1, cuando el substituyente (R³)_z esté conectado a un carbono hibridizado sp² o a un nitrógeno hibridizado sp³, z sea 1, y cuando el substituyente (R³)_z esté conectado a un carbono hibridizado sp³, z sea 2;
donde al menos uno de X o X¹ es calcógeno o N(R³)_z.

En ciertas realizaciones, el compuesto puede ser un anillo aromático. Los anillos aromáticos ejemplares incluyen los compuestos de las fórmulas (2a-e):

5



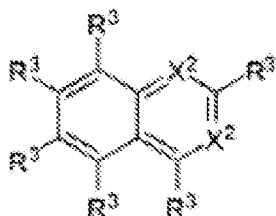
Fórmula (2a),



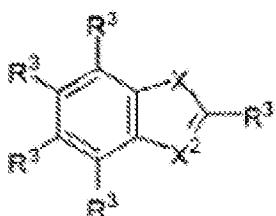
Fórmula (2b),

10

15



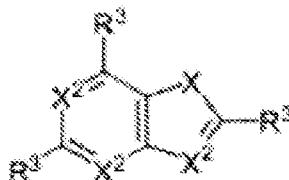
Fórmula (2c),



Fórmula (2d),

20

25



Fórmula (2e),

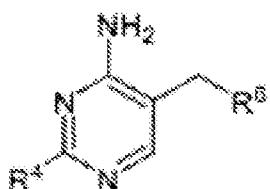
30

donde R³ y X tienen los significados anteriores, y X² se selecciona entre N(R³)₂ y C(R³)₂.

En ciertas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad es un compuesto de fórmula (2a-i):

35

40



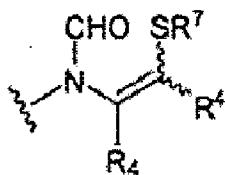
(Fórmula 2a-i),

45

donde R⁴ es como se ha definido anteriormente y es preferentemente hidrógeno o CH₃; en el que R⁶ es heteroarilo C₁₋₁₂, que puede estar sustituido una o más veces por alquilo C₁₋₆; donde dicho alquilo C₁₋₆ puede estar sustituido una o más veces por OH, -NH₂, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -C(=O)R⁴, -C(=NR^{4a})R⁴, -C(=O)OH, -C(=O)OR⁴, -SO₃H, -SO₂NR⁴-, -SO₂R⁴, -PO₃H₂, -NHC(=O)R⁴, -NHC(=O)N(R⁴)₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R⁴)₂, -OR^{4b}, -SR^{4b}, -N(R^{4b})₂, donde R⁴ tiene los significados indicados anteriormente; o

50

55



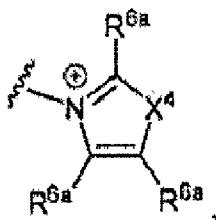
60

donde R⁴ es como se ha definido anteriormente, y R⁷ se selecciona entre SR⁴ y -C(=O)R⁴. El doble enlace en el grupo anterior puede estar en geometría E o Z.

En realizaciones preferidas, R⁶ es un heterociclo que tiene la estructura:

65

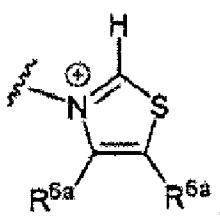
5



10 donde X^4 es un calcógeno y R^{6a} es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , donde el alquilo C_{1-6} puede estar sustituido una o más veces por -OH, -NH₂, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -CN, -C(=O)OH. En una realización aún más preferida, R^6 es un heterociclo que tiene la estructura:

15

20

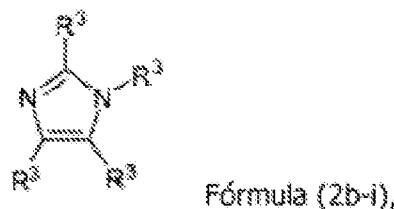


25 donde R^{6a} se selecciona entre alquilo C_{1-6} no sustituido y alquilo C_{1-6} sustituido una o más veces con -OH.

El agente reductor de la viscosidad puede ser un imidazol de fórmula (2b-i)

30

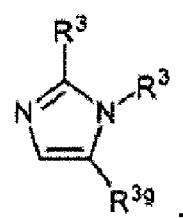
35



en el que R^3 es como se ha definido anteriormente. En ciertas realizaciones, R^3 se selecciona independientemente entre hidrógeno, NO₂, y R⁴. En ciertas realizaciones preferidas, el compuesto de Fórmula (2b-i) tiene la estructura:

40

45



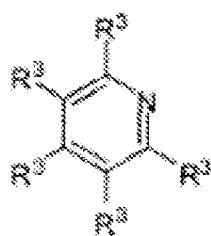
50

en el que R^3 se selecciona independientemente entre alquilo C_{1-6} , que puede estar sin sustituir o sustituido una o más veces con un grupo seleccionado entre OH, NH₂, SR⁴, F, Cl, Br y I; y R^{3g} es hidrógeno o NO₂.

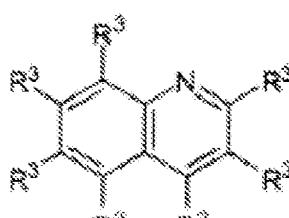
En otras realizaciones, el agente reductor de la viscosidad tiene la estructura de la Fórmula (2a-ii) o de la Fórmula (2c-i):

55

60



Fórmula (2a-ii),



Fórmula (2c-i),

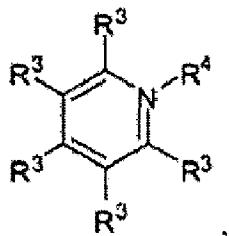
65

donde R^3 se selecciona independientemente entre OH, Cl, Br, F, I, N(R^{4a})₂, C(=O)OH, C(=O)NH₂.

En otras realizaciones, al menos un sustituyente R^3 es NHR^4 , en el que R^4 es un alquilo- C_{1-6} , opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados entre Cl, Br, F, I, OH, $C(=O)OH$, NH_2 , $NH(alquilo C_{1-6})$ y $N(alquilo C_{1-6})_2$.

En otras realizaciones, el agente reductor de la viscosidad es una sal de piridinio de Fórmula (2a-iii):

5

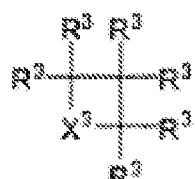


15

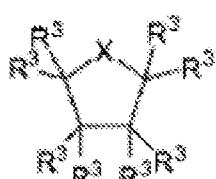
en el que R^3 y R^4 son como se han definido anteriormente.

En otras realizaciones, el anillo heterocíclico no es un anillo heteroarilo. Los anillos no aromáticos ejemplares incluyen los compuestos de las fórmulas (2f-k):

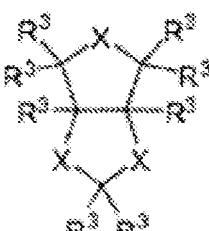
20



Fórmula (2f)

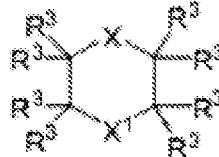


Fórmula (2g),

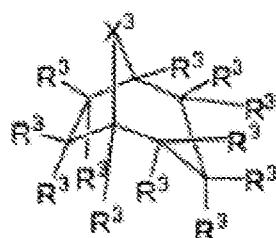


Fórmula (2h)

30

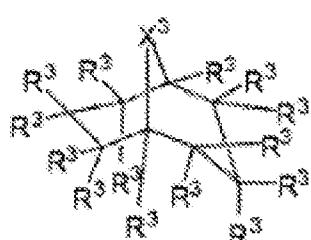


Fórmula (2i),



Fórmula (2j),

35



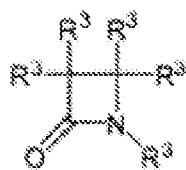
Fórmula (2k)

50

donde R^5 y X tienen los significados anteriores, y X^3 es calcógeno o $N(R^3)_2$.

En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula (2f) es una betalactama de Fórmula (2f-i),

60

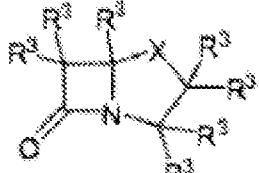


Fórmula (2f-i).

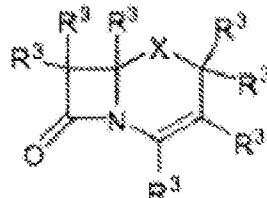
65

La betalactama de fórmula (2f-i) incluye compuestos de tipo penicilina, así como compuestos de tipo cefalosporina y cefamicina de fórmula (2f-ii) y (2f-iii):

5



Fórmula (2f-i)



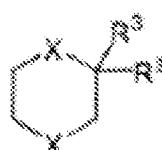
Fórmula (2f-ii).

15

donde X y R³ son como se han definido anteriormente. En realizaciones preferidas, X es azufre.

En ciertas realizaciones, el compuesto de Fórmula (2i) es un compuesto de Fórmula (2i-i):

20



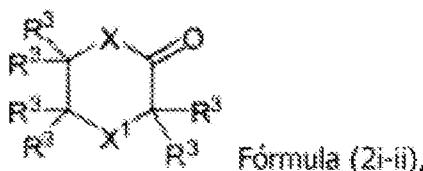
Fórmula (2i-i)

25

donde X y R³ son como se han definido anteriormente. En ciertas realizaciones, X es en ambos casos NR⁴, donde R⁴ tiene los significados dados anteriormente, y R³ es en ambos casos hidrógeno.

En otras realizaciones, el compuesto de Fórmula (2) está representado por un compuesto de Fórmula (2i-ii):

35



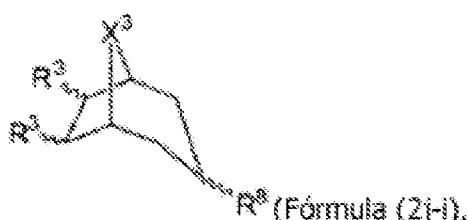
Fórmula (2i-ii),

40

donde X, X¹ y R³ son como se han definido anteriormente.

El compuesto de fórmula (2j) puede estar representado por el compuesto de fórmula (2j-i):

45

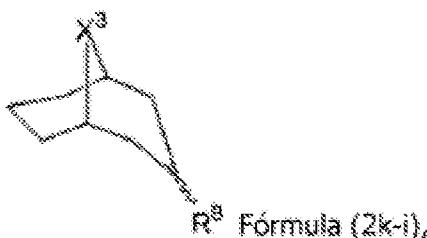
R⁸ (Fórmula (2j-i)).

55

donde X³ y R³ son como se han definido anteriormente, y R⁸ se selecciona entre NHC(=O)R² y OC(=O)R². En realizaciones preferidas, X³ es N⁺(CH₃)₂, R³ son ambos hidrógeno, o R³ juntos forman un epóxido o doble enlace.

El compuesto de fórmula (2k) puede estar representado por el compuesto de fórmula (2k-i):

5

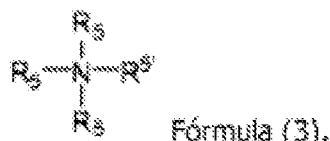


10

en el que X^3 y R^8 son como se han definido anteriormente.

En otras realizaciones, el agente reductor de la viscosidad incluye un compuesto de la estructura de la fórmula (3):

15



20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

donde R^5 se selecciona en cada caso independientemente entre hidrógeno y R^2 ,

25

R^5' es R^5 o está ausente;

siempre que al menos un sustituyente R^5 no sea hidrógeno, en el que R^2 tiene los mismos significados dados para el compuesto o Fórmula (1).

30

En determinadas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad es una mezcla de dos o más compuestos seleccionados entre compuestos de Fórmula (1), Fórmula (2) y Fórmula (3).

35

En realizaciones preferidas, el agente reductor de la viscosidad adicional es el ácido canfor sulfónico (CSA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como una sal de metal alcalino o alcalinotérreo. El ácido canforsulfónico o su sal se combina con uno o más compuestos de Fórmula (1), (2) o (3) para dar mezclas como CSA-piperazina, CSA-TRIS, CSA-4-aminopiridina, CSA-1-(o-tolil)biguanida, CSA-procaína, ácido carboxílico CSA-Na-aminociclohexano, CSA-Na-creatinina y CSA-Na-ornidazol. Otros agentes adicionales preferidos para reducir la viscosidad son tiamina, procaína, biotina, creatinina, metoclopramida, escopolamina, fosfato de cloroquina, mepivacaína, granisetrón, sucralosa, HEPES-tris, nicotinamida, ácido lactobiónico-TRIS, ácido glucurónico-TRIS, sulfacetamida, CSA-4-aminopiridina, CSA-piperazina y cefazolina. Pueden combinarse en la misma formulación dos o más de los agentes reductores de la viscosidad enumerados anteriormente.

40

En otras realizaciones, el agente reductor de la viscosidad adicional es un ácido organosulfónico. Los ácidos organosulfónicos ejemplares incluyen, entre otros, el ácido canfor sulfónico, el ácido naftaleno-2-sulfónico, el ácido bencenosulfónico, el ácido toluenosulfónico, el ácido ciclohexilsulfónico, los ácidos xilenosulfónicos (incluidos el ácido *p*-xileno-2-sulfónico, el ácido *m*-xileno-2-sulfónico, el ácido *m*-xileno-4-sulfónico y el ácido *o*-xileno-3-sulfónico), ácido metanosulfónico, ácido 1,2 etano disulfónico, ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina etano sulfónico, ácido 2-hidroxietano-1-sulfónico, ácido 3-hidroxipropano-1-sulfónico, ácido címenosulfónico, ácido 4-hidroxibutano-1-sulfónico y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. El ácido organosulfónico puede estar en forma de sal metálica alcalina o alcalinotérrea, como la sal de litio, sodio, potasio, magnesio y calcio. El ácido organosulfónico (o sal del mismo) puede combinarse con uno o más compuestos de Fórmula (2) o Fórmula (3).

45

En determinadas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad adicional contiene al menos un ácido carboxílico. El ácido carboxílico puede estar en forma de sal metálica alcalina o alcalinotérrea, como la sal de litio, sodio, potasio, magnesio y calcio. Entre los compuestos de ácido carboxílico ejemplares se incluyen el ácido lactobiónico, el ácido glucurónico, el ácido 1-aminociclohexano carboxílico, la biotina, el brocrinat, el ácido ciclopentano propiónico, el ácido hidroxinaftoico, el ácido fenilpropiónico, el ácido gentísico, el ácido salicílico, el ácido alcanforico, ácido mandélico, ácido sulfosalicílico, ácido hidroxibenzoilbenzoico, ácido fenilacético, ácido acetilsalicílico, ácido cinámico, ácido t-butilacético, ácido ftálico, ácido trimetilacético, ácido antrálico y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. El ácido carboxílico (o sal del mismo) puede combinarse con uno o más compuestos de Fórmula (2) o Fórmula (3).

50

También pueden utilizarse los siguientes compuestos como agentes adicionales reductores de la viscosidad: colistina, articaína, tetracaína, proximetacaína, metoclopramida, procaína, lidocaína, ciclometilcaína, piperocaína, cloroprocaina, etidocaína, benzocaína, fenilefrina, bupivacaína, mepivacaína, cincocaína, mezclas de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

55

Otros agentes que pueden emplearse como reductores adicionales de la viscosidad son el ácido 1-aminociclohexano

carboxílico, 1-(o-tolil)biguanida, cloruro de bencetonio, ácido benzoico, brocrinat, carragenano cálcico, ciclamato cálcico, calcobutrol, ácido caloxético, ácido canfor sulfónico, creatinina, dalfampridina, ácido deshidroacético, diazolidinil urea, alcohol diclorobencílico, dimetil isosorbida, epitetraciclina, maltol etílico, vainillina etílica, ornidazol, etanolamida del ácido gentísico, HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina etano sulfónico), ácido gentísico, ácido glucurónico, ácido yodoxámico, mentol, galactosa, ácido medrónico, m-cresol, glutatión, ácido lactobiónico, maltitol, octisalato, oxiquinolina, ácido pentético, piperazina, propenil guaetol, propil galato, propil carbonato, propilparabeno, sulfato de protamina, QUATERNIO-15, QUATERNIO-52, satialgina H, 1,2-etanodisulfonato sódico, cocoil sarcosinato sódico, lauroil sarcosinato sódico, polimetafosfato sódico, pirofosfato sódico, ácido piroglutámico, trimetafosfato sódico, tripolifosfato sódico, sorbitán, ácido tartárico, ácido láctico, iofetamina, sucralosa, cloruro de 1-(4-píridil)piridinio, ácido aminobenzoico, sulfacetamida sódica, ácido naftaleno-2-sulfónico, terc-butilhidroquinona, timerosal, trolamina, tromantadina, vainillina, versetamida, nioxima, niacinamida, metilisotiazolinona, manosa D, maltosa, lidofenina, lactosa, lactitol, isomalt, imidurea, gluconolactona, ácido metanosulfónico, ácido xilenosulfónico, sulfobutiléter β -ciclodextrina y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 En determinadas realizaciones, el agente reductor de la viscosidad adicional incluye una base orgánica. Las bases orgánicas ejemplares incluyen N-metilglucamina, morfolina, piperidina y aminas primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias, aminas sustituidas y aminas cíclicas. Por ejemplo, pueden ser isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dietilaminoetanol, trimetamina, diciclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, lidocaína, hidrabamina, colinas, betainas, colina, betaina, etilendiamina, teobromina, purinas, 20 piperazina, N-etylpiridina, N-metilpiridinopoliamina. Bases orgánicas particularmente preferidas son arginina, histidina, lisina, etanolamina, tiamina, 2-amino-2-hidroximetil-propane-1,3-diol (TRIS), 4-aminopiridina, ácido aminociclohexano carboxílico, 1-o-tolibiguanida, ornidazol, urea, nictoinamida, cloruro de bencetonio, 5-amino-1-pentanol, 2-(2-aminoetoxi)etanol, *trans-ciclohexano-1,4-diamina*, *trans-eyelohexano-1R, 2R-diamina*, etilendiamina, propano-1,3-diamina, butano-1,4-diamina, pentano-1,5-diamina, hexano-1,6-diamina, octano-1,8-diamina, 5-amino-1-pentanol, 2-(2-aminoetoxi)etanamina, 2-(2-(2-aminoetoxi)-etoxi)etanamina, 3-(4-(3-aminopropoxi)-butoxi)propan-1-amina, 3-(2-(3-aminopropoxi)-etoxi)-etoxi)propan-1-amina, N-(2-(2-aminoetilamino)etil)etano-1,2-diamina, N-(2-aminoetil)etano-1,2-diamina, N-1-(2-(2-aminoetilamino)etilamino)-etil)etano-1,2-diamina, N,N-dimetilhexano-1,6-diamina, N,N,N-tetrametilbutano-1,4-diamina, sales de feniltrimetilamonio, isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetamina, colina, 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol, piperazina, 1-(2-aminoetil)piperazina, 1-[3-(dimetilamino)propil]piperazina, 1-(2-aminoetil)piperidina, 2-(2-aminoetil-1-metilpirrolidina, mezclas de las mismas y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.

25 Los betalactámicos ejemplares incluyen bencilpenicilina (penicilina G), fenoximetilpenicilina (penicilina V), cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, meticilina, naftilina, oxacilina, temocilina, amoxicilina, ampicilina, mecillinam, carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, mezlocilina, piperacilina, cefoxitina, cefazolina, cefalexina, cefalosporina C, cefalotina, cefaclor, cefamandole, cefuroxima, cefotetán, cefixima, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefepima, cefpirome, ceftobiprol, biapenem, doripenem, ertapenem faropenem, imipenem, meropenem, panipenem, razupenem, tebipenem, tienamicina, aztreonam, tigemonam, nocardicina a, tabtoxinina, ácido clavulánico, ácido clavulánico, tazobactam, sulbactam y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

30 40 Otros agentes adicionales reductores de la viscosidad son los N-heterociclos de tropano, como la atropina, la hiosciamina, la escopolamina y sus sales, así como las sales de tiotropio e ipratropio, la tiamina, la alitiamina, la prosultiamina, la fursultiamina, la benfotiamina, la sulbutiamina, el cuaternio 15 dihidrocloruro de 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol; creatinina; biotina, piperocaína, ciclometilcaína, gransetron, moxifloxacino, cloroquina, mepivacaína, levetriacetam, bupivacaína, cincocaína, clindamicina y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. La tiamina es un agente reductor de la viscosidad adicional especialmente preferido.

45 En determinadas formulaciones, no se prefieren los siguientes compuestos: creatinina, cadaverina, lidocaína, arginina y lisina, y se excluyen del ámbito de las fórmulas y definiciones anteriores de agentes reductores de la viscosidad útiles.

50 **C. Excipientes**

55 Los expertos en la materia conocen una gran variedad de excipientes farmacéuticos útiles para las formulaciones proteínicas líquidas. Incluyen uno o más aditivos, como disolventes o cosolventes líquidos; azúcares o alcoholes de azúcar como manitol, trehalosa, sacarosa, sorbitol, fructosa, maltosa o dextranos; tensioactivos como TWEEN® 20, 60 u 80 (polisorbato 20, 60 u 80); agentes tamponadores; conservantes como cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, sales de amonio terciario y clorhexidinodiacetato; portadores como poli(etylenglicol) (PEG); antioxidantes como ácido ascórbico, metabisulfito sódico y metionina; agentes quelantes como EDTA o ácido cítrico; o polímeros biodegradables como poliésteres solubles en agua; crioprotectores; lioprotectores; agentes de carga; y agentes estabilizadores.

60 65 Otros portadores, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables, como los descritos en Remington: "The Science and Practice of Pharmacy", 20^a edición, Alfonso R. Gennaro, Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2000) también pueden incluirse en una formulación proteica descrita en el presente documento, siempre que no afecten negativamente a las características deseadas de la formulación.

65 Los agentes reductores de la viscosidad aquí descritos pueden combinarse con uno o más tipos de agentes reductores

de la viscosidad, por ejemplo, los organofosfatos descritos en la solicitud PCT presentada conjuntamente y titulada "LIQUID PROTEIN FORMULATIONS CONTAIN ORGANOPHOSPHATES" de Arsia Therapeutics; colorantes solubles en agua descritos en la solicitud PCT presentada conjuntamente y titulada "LIQUID PROTEIN FORMULATIONS CONTAINING WATER SOLUBLE ORGANIC DYES" de Arsia Therapeutics; líquidos iónicos descritos en la solicitud PCT presentada conjuntamente y titulada "LIQUID PROTEIN FORMULATIONS CONTAINING IONIC LIQUIDS" de Arsia Therapeutics.

III. Métodos de fabricación

10 La proteína, como un mAb, que se va a formular puede producirse mediante cualquier técnica conocida, como el cultivo de células transformadas o transfectadas con un vector que contenga una o más secuencias de ácido nucleico que codifiquen la proteína, como es bien conocido en la técnica, o mediante técnicas sintéticas (como técnicas recombinantes y síntesis de péptidos o una combinación de estas técnicas), o puede aislarse de una fuente endógena de la proteína.

15 La purificación de la proteína que se va a formular puede realizarse mediante cualquier técnica adecuada conocida en la materia, como, por ejemplo, precipitación con etanol o sulfato amónico, HPLC en fase inversa, cromatografía sobre sílice o resina de intercambio catiónico (p. ej., DEAE-celulosa), diálsis, cromatoenfoque, filtración en gel utilizando columnas SEPHAROSE® de proteína A (por ejemplo, SEPHADEX® G-75) para eliminar contaminantes, columnas de quelación de metales para unir formas marcadas con epítopos, y ultrafiltración/diafiltración (ejemplos no limitantes incluyen la filtración centrífuga y la filtración de flujo tangencial (TFF)).

20 La inclusión de agentes reductores de la viscosidad a concentraciones reductoras de la viscosidad tales como 0,010 M a 1,0 M, preferiblemente 0,050 M a 0,50 M, más preferiblemente 0,10 M a 0,30 M, permite purificar y/o concentrar una solución del mAb farmacéuticamente activo a concentraciones más altas de mAb utilizando métodos comunes conocidos por los expertos en la materia, incluyendo pero sin limitarse a filtración de flujo tangencial, concentración centrífuga y diálsis.

25 En algunas realizaciones, se proporcionan formulaciones liofilizadas de las proteínas y/o se utilizan en la preparación y fabricación de las formulaciones proteicas concentradas de baja viscosidad. En algunas realizaciones, la proteína preliofilizada en forma de polvo se reconstituye por disolución en una solución acuosa. En esta realización, la formulación líquida se introduce en un recipiente de unidad de dosificación específica, como un vial o una jeringa de mezcla precargada, se liofiliza, opcionalmente con lioprotectores, conservantes, antioxidantes y otros excipientes típicos farmacéuticamente aceptables, y luego se almacena en condiciones estériles hasta poco antes de su uso, momento en el que se reconstituye con un volumen definido de diluyente, para llevar el líquido a la concentración y viscosidad deseadas.

30 Las formulaciones aquí descritas pueden almacenarse por cualquier método adecuado conocido por un experto en la materia. Ejemplos no limitantes de métodos para preparar las formulaciones proteicas para su almacenamiento incluyen la congelación, la liofilización y el secado por pulverización de la formulación proteica líquida. En algaproximadamente 40 casos, la formulación liofilizada se congela para su almacenamiento a temperaturas bajo cero, como a aproximadamente -80°C o en nitrógeno líquido. En algunos casos, una formulación liofilizada o acuosa se almacena a 2-8°C.

45 Ejemplos no limitantes de diluyentes útiles para reconstituir una formulación liofilizada antes de la inyección incluyen agua estéril, agua bacteriostática para inyección (BWF), una solución de pH tamponado (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer, solución de dextrosa o soluciones acuosas de sales y/o tampones. En algunos casos, la formulación se seca por pulverización y luego se almacena.

IV. Administración a una persona necesitada

50 Las formulaciones proteicas de la invención, incluidas, entre otras, las formulaciones reconstituidas, pueden utilizarse en un método de administración a una persona que lo necesite mediante inyección intramuscular, intraperitoneal (es decir, en una cavidad corporal), intracerebrospinal o subcutánea utilizando una aguja de calibre 18-32 (opcionalmente una aguja de pared fina), en un volumen inferior a aproximadamente 5 mL, inferior a aproximadamente 3 mL, preferiblemente inferior a aproximadamente 2 mL, más preferiblemente inferior a aproximadamente 1 mL.

55 La dosis adecuada ("cantidad terapéuticamente eficaz") de la proteína, como un mAb, dependerá de la afección a tratar, la gravedad y el curso de la enfermedad o afección, si la proteína se administra con fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, el historial clínico del paciente y su respuesta a la proteína, el tipo de proteína utilizada y la discreción del médico tratante. La proteína se administra de una sola vez en inyecciones únicas o múltiples, o a lo largo de una serie de tratamientos, como único tratamiento o junto con otros fármacos o terapias.

60 Las fórmulas de dosificación están diseñadas para que las inyecciones no causen signos significativos de irritación en el lugar de la inyección, por ejemplo, cuando el índice de irritación primaria es inferior a 3 al evaluarse mediante un sistema de puntuación Draize. En una realización alternativa, las inyecciones causan niveles macroscópicamente similares de irritación cuando se comparan con inyecciones de volúmenes equivalentes de solución salina. En otra realización, la biodisponibilidad de la proteína es mayor en comparación con la misma formulación sin el agente o agentes reductores

de la viscosidad administrada de la misma manera. En otra realización, la formulación es al menos aproximadamente tan eficaz farmacéuticamente como aproximadamente la misma dosis de la proteína administrada por infusión intravenosa.

5 En una realización preferida, la formulación puede inyectarse para aumentar los niveles de la proteína terapéutica. Por ejemplo, el valor AUC puede ser al menos un 10%, preferiblemente al menos un 20%, mayor que el mismo valor calculado para la misma formulación sin el agente o agentes reductores de la viscosidad administrados de la misma manera.

10 El agente reductor de la viscosidad también puede afectar a la biodisponibilidad. Por ejemplo, el porcentaje de biodisponibilidad de la proteína puede ser al menos 1,1 veces, preferiblemente al menos 1,2 veces el porcentaje de biodisponibilidad de la misma formulación sin el agente o agentes reductores de la viscosidad administrados de la misma manera.

15 El agente reductor de la viscosidad también puede afectar a la farmacocinética. Por ejemplo, la C_{MAX} tras la inyección SC o IM puede ser al menos un 10%, preferiblemente al menos un 20%, menor que la C_{MAX} de una dosis administrada por vía intravenosa aproximadamente equivalente y farmacéuticamente eficaz.

20 En algunas realizaciones, las proteínas pueden administrarse a una dosis mayor y con una frecuencia menor que las mismas formulaciones sin el agente o agentes reductores de la viscosidad.

25 Las formulaciones de menor viscosidad requieren menos fuerza de inyección. Por ejemplo, la fuerza de inyección puede ser al menos un 10%, preferiblemente al menos un 20%, menor que la fuerza de inyección para la misma formulación sin el/los agente(s) reductor(es) de la viscosidad administrado(s) de la misma manera. En una realización, la inyección se administra con una aguja de calibre 27 y la fuerza de inyección es inferior a 30 N. Las formulaciones pueden administrarse en la mayoría de los casos utilizando una aguja de calibre muy pequeño, por ejemplo, entre 27 y 31, típicamente 27, 29 o 31 de calibre.

30 El agente reductor de la viscosidad puede utilizarse para preparar una formulación de unidad de dosificación adecuada para la reconstitución para hacer una formulación farmacéutica líquida para inyección subcutánea o intramuscular. La unidad de dosificación puede contener un polvo seco de una o más proteínas; uno o más agentes reductores de la viscosidad; y otros excipientes. Las proteínas están presentes en la unidad de dosificación de tal manera que tras la reconstitución en un disolvente farmacéuticamente aceptable, la formulación resultante tiene una concentración de proteínas de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 2.000 mg por 1 mL (mg/mL). Dichas formulaciones reconstituidas pueden tener una viscosidad absoluta de aproximadamente 1 mPa.s (cP) a aproximadamente 50 mPa.s (cP) a 25°C.

35 La formulación de baja viscosidad puede suministrarse como solución o en forma de unidad de dosificación en la que la proteína se liofiliza en un vial, con o sin el agente reductor de la viscosidad y los demás excipientes, y el disolvente, con o sin el agente reductor de la viscosidad y los demás excipientes, se suministra en un segundo vial. En esta realización, el disolvente se añade a la proteína poco antes o en el momento de la inyección para asegurar una mezcla y disolución uniformes.

40 El agente o agentes reductores de la viscosidad están presentes en las formulaciones en concentraciones que no causan signos significativos de toxicidad y/o signos irreversibles de toxicidad cuando se administran por vía subcutánea, intramuscular u otros tipos de inyección. Tal como se utiliza en el presente documento, los "signos significativos de toxicidad" incluyen intoxicación, letargo, modificaciones del comportamiento como las que se producen con daños en el sistema nervioso central, infertilidad, signos de cardiotoxicidad grave como arritmia cardíaca, cardiomiopatía, infartos de miocardio e insuficiencia cardiaca o congestiva, insuficiencia renal, insuficiencia hepática, dificultad respiratoria y muerte.

45 En realizaciones preferidas, las formulaciones no causan irritación significativa cuando se administran no más de dos veces al día, una vez al día, dos veces a la semana, una vez a la semana o una vez al mes. Las formulaciones proteicas pueden administrarse sin causar signos significativos de irritación en el lugar de la inyección, medidos por un índice de irritación primaria inferior a 3, inferior a 2 o inferior a 1 cuando se evalúa mediante un sistema de puntuación Draize. Tal como se utiliza aquí, los "signos significativos de irritación" incluyen eritema, enrojecimiento y/o hinchazón en el lugar de la inyección con un diámetro superior a 10 cm, superior a 5 cm o superior a 2,5 cm, necrosis en el lugar de la inyección, 55 dermatitis exfoliativa en el lugar de la inyección y dolor intenso que impide la actividad diaria y/o requiera atención médica u hospitalización. En algunas realizaciones, las inyecciones de las formulaciones proteicas causan niveles macroscópicamente similares de irritación cuando se comparan con inyecciones de volúmenes equivalentes de solución salina.

60 Las formulaciones proteicas pueden presentar una mayor biodisponibilidad en comparación con la misma formulación proteica sin los agentes reductores de la viscosidad cuando se administran mediante inyección subcutánea o intramuscular. Por "biodisponibilidad" se entiende el grado y la velocidad a la que la especie bioactiva, como un mAb, llega a la circulación o al lugar de acción. La biodisponibilidad global puede aumentar en las inyecciones SC o IM en comparación con las mismas formulaciones sin los agentes reductores de la viscosidad. "Porcentaje de biodisponibilidad" 65 se refiere a la fracción de la dosis administrada de la especie bioactiva que entra en circulación, determinada con respecto a una dosis administrada por vía intravenosa. Una forma de medir la biodisponibilidad consiste en comparar el "área bajo

la curva" (AUC) en un gráfico de la concentración plasmática en función del tiempo. El AUC puede calcularse, por ejemplo, mediante la regla lineal trapezoidal. "AUC_{0-t}", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al área bajo la curva de concentración plasmática desde el tiempo cero hasta un tiempo en el que la concentración plasmática vuelve a los niveles basales. "AUC_{0-t}", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere al área bajo la curva de concentración plasmática desde el tiempo cero hasta un tiempo, t, posterior, por ejemplo hasta el momento de alcanzar el valor basal. El tiempo se medirá normalmente en días, aunque también pueden utilizarse horas, como se verá por el contexto. Por ejemplo, el AUC puede aumentar más de un 10%, 20%, 30%, 40% o 50% en comparación con la misma formulación sin el agente o agentes reductores de la viscosidad y administrada de la misma manera.

5 10 Como se utiliza aquí, " t_{max} " se refiere al tiempo tras la administración en el que la concentración plasmática alcanza un máximo.

15 En el presente documento, " C_{max} " se refiere a la concentración plasmática máxima tras la administración de una dosis y antes de la administración de una dosis posterior.

15 20 En el presente documento, " C_{min} " o " C_{trough} " se refiere a la concentración plasmática mínima tras la administración de una dosis y antes de la administración de una dosis posterior.

20 25 La C_{max} tras la inyección SC o IM puede ser menor, por ejemplo, al menos un 10%, más preferiblemente al menos un 20%, menor que la C_{max} de una dosis administrada por vía intravenosa. Esta reducción de la C_{max} también puede dar lugar a una disminución de la toxicidad.

30 35 Los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos pueden aproximarse entre especies utilizando enfoques conocidos por el experto. La farmacocinética y la farmacodinámica de los tratamientos con anticuerpos pueden diferir notablemente en función del anticuerpo específico. Se demostró que un mAb murino aprobado tiene una semivida en humanos de ~ 1 día, mientras que un mAb humano suele tener una semivida de ~ 25 días (Waldmann et al., Int. Immunol., 2001, 13:1551-1559). La farmacocinética y la farmacodinámica de los anticuerpos terapéuticos pueden diferir notablemente en función de la vía de administración. El tiempo necesario para alcanzar la concentración plasmática máxima tras la inyección IM o SC de IgG suele oscilar entre 2 y 8 días, aunque pueden encontrarse tiempos más cortos o más largos (Wang et al., Clin. Pharm. Ther., 2008, 84(5):548-558). La farmacocinética y la farmacodinámica de los anticuerpos terapéuticos pueden diferir notablemente en función de la formulación.

40 45 50 Las formulaciones proteicas de baja viscosidad pueden permitir una mayor flexibilidad en la dosificación y una disminución de las frecuencias de dosificación en comparación con las formulaciones proteicas sin agente(s) reductor(es) de la viscosidad. Por ejemplo, al aumentar varias veces la dosis administrada por inyección, la frecuencia de dosificación puede reducirse en algunas realizaciones de una vez cada 2 semanas a una vez cada 6 semanas. Las formulaciones proteicas, incluidas, entre otras, las formulaciones reconstituidas, pueden administrarse utilizando una jeringa o autoinyector calentado y/o automezclador. Las formulaciones proteínicas también pueden precalentarse en una unidad de calentamiento separada antes de llenar la jeringa.

i. Jeringas térmicas

55 60 65 La jeringa calentada puede ser una jeringa estándar precalentada con un calentador de jeringas. El calentador de jeringas tendrá generalmente una o más aberturas, cada una de ellas capaz de recibir una jeringa que contenga la formulación proteica y un medio para calentar y mantener la jeringa a una temperatura específica (típicamente por encima de la temperatura ambiente) antes de su uso. En lo sucesivo se denominará jeringa precalentada. Entre los calentadores de jeringas adecuados se encuentran los de Vista Dental Products e Inter-Med. Los calentadores son capaces de alojar jeringuillas de diversos tamaños y calentarlas, normalmente con una precisión de 1°C, a cualquier temperatura hasta aproximadamente 130°C. En algunas realizaciones, la jeringa se precalienta en un baño calefactor, como un baño de agua mantenido a la temperatura deseada.

60 65 La jeringa calentada puede ser una jeringa autocalentable, es decir, capaz de calentar y mantener la formulación líquida en el interior de la jeringa a una temperatura específica. Entre los dispositivos calefactores adecuados que pueden acoplarse a una jeringa se incluyen los calentadores de jeringa o la cinta calefactora de jeringa disponibles en Watlow Electric Manufacturing Co. de St. Louis, MO, y los bloques calefactores de jeringa, calentadores de platina y calentadores de perfusión en línea disponibles en Warner Instruments de Hamden, CT, como el calentador de jeringa modelo SW-61. El calentador puede controlarse a través de un controlador central, por ejemplo, los controladores de calentador modelo TC-324B o TC-344B disponibles en Warner Instruments.

65 70 75 La jeringa calentada mantiene la formulación proteica líquida a una temperatura especificada o dentro de 1°C, dentro de 2°C, o dentro de 5°C de una temperatura especificada. La jeringa calentada puede mantener la formulación proteica a cualquier temperatura, desde la temperatura ambiente hasta aproximadamente 80°C, hasta aproximadamente 60°C, hasta aproximadamente 50°C o hasta aproximadamente 45°C, siempre que la formulación proteica sea suficientemente estable a esa temperatura. La jeringa calentada puede mantener la formulación proteica a una temperatura entre 20°C y 60°C, entre 21°C y 45°C, entre 22°C y 40°C, entre 25°C y 40°C, o entre 25°C y 37°C. Al mantener las formulaciones proteicas a una temperatura elevada durante la inyección, disminuye la viscosidad de la formulación líquida, aumenta la

solubilidad de la proteína en la formulación, o ambas cosas.

ii. Jeringas automezcladoras

5 La jeringa puede ser automezcladora o llevar un mezclador incorporado. El mezclador puede ser estático o dinámico. Algunos ejemplos de mezcladores estáticos son los descritos en Patentes de EE.UU. N.º 5,819,988, 6,065,645, 6,394,314, 6,564,972 y 6,698,622. Ejemplos de algunos mezcladores dinámicos pueden incluir los divulgados en Patentes de EE.UU. N.º 6,443,612 y 6,457,609, así como Solicitud de Patente de EE. UU. N.º US 2002/0190082. La jeringa puede incluir varios cilindros para mezclar los componentes de la formulación proteínica líquida. La Publicación de Patente de EE. UU. N.º 5,819,998 describe jeringuillas con dos cilindros y una punta mezcladora para mezclar sustancias viscosas de dos componentes.

10

iii. Autoinyectores y jeringas precargadas de formulaciones proteínicas

15 La formulación proteínica líquida puede administrarse mediante un autoinyector de jeringa precargada o un dispositivo de inyección sin aguja. Los autoinyectores incluyen un soporte de cartucho manual, a menudo similar a un bolígrafo, para sostener cartuchos precargados reemplazables y un mecanismo basado en un resorte o análogo para inyecciones subcutáneas o intramusculares de dosis de fármacos líquidos a partir de un cartucho precargado. Los autoinyectores suelen estar diseñados para la autoadministración o la administración por personal no formado. Los autoinyectores están 20 disponibles para dispensar dosis únicas o dosis múltiples a partir de un cartucho precargado. Los autoinyectores permiten diferentes ajustes por parte del usuario, como la profundidad de inyección, la velocidad de inyección, etc. Otros sistemas de inyección pueden incluir los descritos en Patente de EE. UU. N.º 8,500,681.

25 La formulación proteica liofilizada puede suministrarse en jeringas precargadas o de dosis unitaria. La Publicación de Patente de EE. UU. Patentes de EE.UU. N.º 3,682,174; 4,171,698; y 5,569,193 describen jeringas estériles que contienen dos cámaras que pueden precargarse con una formulación seca y un líquido que puede mezclarse inmediatamente antes de la inyección. La Publicación de Patente de EE. UU. N.º 5,779,668 describe un sistema de jeringa para la liofilización, reconstitución y administración de una composición farmacéutica. En algunas realizaciones, la formulación proteica se suministra en forma liofilizada en una jeringa precargada o de dosis unitaria, se reconstituye en la jeringa antes de la administración y se administra como una única inyección subcutánea o intramuscular. Los autoinyectores para la 30 administración de fármacos liofilizados en dosis unitarias se describen en el documento WO 2012/010,832. Los autoinyectores como el Safe Click Lyo™ (comercializado por Future Injection Technologies, Ltd., Oxford, Reino Unido) pueden utilizarse para administrar una formulación proteica de dosis unitaria en la que la formulación se almacena en forma liofilizada y se reconstituye justo antes de la administración. En algunas realizaciones, la formulación proteica se suministra en cartuchos de dosis unitaria para fármacos liofilizados (a veces denominados cartuchos Vetter). Ejemplos de 35 cartuchos adecuados pueden ser los descritos en Patentes de EE.UU. N.º 5,334,162 y 5,454,786.

V. Métodos de purificación y concentración

40 Los agentes reductores de la viscosidad también pueden utilizarse para ayudar en la purificación y concentración de proteinas. El agente o agentes reductores de la viscosidad y los excipientes se añaden a la proteína en una cantidad eficaz para reducir la viscosidad de la solución proteica. Por ejemplo, el agente reductor de la viscosidad se añade a una concentración de entre 0,01 M y 1,0 M aproximadamente, preferiblemente entre 0,01 M y 0,50 M aproximadamente, y más preferiblemente entre 0,01 M y 0,25 M aproximadamente.

45 A continuación, la solución de agente reductor de la viscosidad que contiene proteínas se purifica o concentra mediante un método seleccionado del grupo que consiste en ultrafiltración/diafiltración, filtración de flujo tangencial, concentración centrífuga y diálisis.

Ejemplos

50 Lo anterior se entenderá mejor mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Todas las viscosidades de las soluciones acuosas de mAb bien mezcladas se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico mVROC (RheoSense) o un viscosímetro de cono y placa DV2T (Brookfield; "C & P") tras un equilibrado de 55 5 minutos a 25°C (a menos que se indique lo contrario). El viscosímetro mVROC estaba equipado con un chip "A" o "B", cada uno fabricado con un canal de 50 micras. Típicamente, 0,10 mL de solución de proteína fueron cargados en una jeringa hermética para instrumentos de laboratorio (Hamilton; 100 µL), fijada al chip, y medida a múltiples velocidades de flujo, aproximadamente 20%, 40%, y 60% de la presión máxima para cada chip. Por ejemplo, una muestra de aproximadamente 50 mPa.s (cP) se mediría a unos 10, 20 y 30 µL/min (aproximadamente 180, 350 y 530 s⁻¹, respectivamente, en un chip "A") hasta que la viscosidad se estabilizara, normalmente después de al menos 30 segundos. A continuación, se calculó una viscosidad absoluta media y una desviación estándar a partir de al menos estas tres mediciones. El viscosímetro C & P estaba equipado con un husillo CPE40 o CPE52 (ángulo de cono de 0,8° y 3,0°, respectivamente) y se midieron muestras de 0,50 mL a múltiples velocidades de cizallamiento entre 2 y 400 s⁻¹. Concretamente, las muestras se midieron durante 30 segundos cada una a 22,58, 24,38, 26,25, 28,13, 30, 31,88, 45, 67,5, 90, 112,5, 135, 157,5, 180, 202,5, 247, 270, 292,5, 315, 337,5, 360, 382, 400 s⁻¹, comenzando a una velocidad de cizallamiento que diera al menos un 10% de par, y continuando hasta que el par del instrumento alcanzara el 100%. A 60 65

continuación, se determinó una viscosidad de cizallamiento cero extrapolada a partir de un gráfico de la viscosidad dinámica frente a la velocidad de cizallamiento para las muestras medidas en un viscosímetro de cono y placa DV2T. Las viscosidades de cizallamiento cero extrapoladas que se indican son la media y la desviación estándar de al menos tres mediciones.

5

Ejemplo de Referencia 1: Efecto de un agente reductor de la viscosidad, la lisina de ácido canfor sulfónico (CSAL), sobre la viscosidad de las soluciones del biosimilar ERBITUX

Materiales y Métodos

10

Se purificó un biosimilar ERBITUX® obtenido comercialmente (100-400 mg) que contenía excipientes farmacéuticos (Polisorbato 80, tampón fosfato y NaCl). En primer lugar, se eliminó el polisorbato 80 utilizando las columnas DETERGENT-OUT® TWEEN® Medi (G-Biosciences). A continuación, las soluciones resultantes se intercambiaron ampliamente en tampón fosfato sódico 20 mM (PB; pH 7,0) o CSAL 20 mM (pH 7,0) y se concentraron hasta un volumen final inferior a 10 mL en concentradores centrífugos Jumbosep (Pall Corp.). La solución proteica recogida se liofilizó. Las tortas de proteínas desecadas, que contenían proteínas y sales tampón o agente, se reconstituyeron hasta un volumen final de 0,15 - 1,3 mL. Estas muestras se reconstituyeron utilizando PB (pH 7,0) o CSAL (pH 7,0) adicionales suficientes para llevar la concentración final de PB o CSAL a 0,25 M. La concentración final de mAb en solución se determinó por absorbancia luminosa a 280 nm. Las concentraciones de proteínas indicadas representan el intervalo de todas las muestras de proteínas incluidas en cada tabla o figura. En concreto, los valores notificados son la mediana más o menos la mitad del intervalo. El cizallamiento cero extrapolado utilizando un coeficiente de extinción determinado experimentalmente de 1,4 L/g-cm y las viscosidades indicadas se midieron en un viscosímetro de cono y placa DV2T.

15

20

Resultados

25

Los datos de la Figura 1 demuestran el efecto reductor de la viscosidad del CSAL en soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX®. La viscosidad de una solución del biosimilar ERBITUX® en tampón fosfato (PB) aumenta exponencialmente con el incremento de la concentración de mAb. Se observa que la viscosidad de una solución del biosimilar ERBITUX® en presencia de CSAL aumenta exponencialmente con el incremento de la concentración de mAb, pero en menor medida que la formulación en PB, es decir, se reduce el gradiente de viscosidad. Los datos de la Figura 1 muestran que cuanto mayor es la concentración de mAb, mayor es el efecto reductor de la viscosidad. La magnitud de los efectos de reducción de la viscosidad producidos por la sustitución de PB por CSAL varió de 1,1 veces a 100 ± 5 mg/mL a 10,3 veces a 227 ± 5 mg/mL de mAb.

35

Ejemplo de Referencia 2: Efecto reductor de la viscosidad de un agente reductor de la viscosidad, la lisina de ácido canfor sulfónico (CSAL), en función de la concentración del biosimilar AVASTIN®.

Materiales y Métodos

40

Un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente y que contenía excipientes farmacéuticos (Polisorbato 20, tampón fosfato, tampón citrato, manitol y NaCl) se purificó, se intercambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,7 L/g-cm a 280 nm). La proteína se formuló para contener tampón fosfato 0,25 M o CSAL 0,25 M.

45

Resultados

La Figura 2 representa la viscosidad de las soluciones acuosas de mAb en función de la concentración de mAb en solución acuosa tamponada y con CSAL. La viscosidad del biosimilar AVASTIN® en tampón fosfato acuoso y en presencia de CSAL aumenta exponencialmente con el aumento de la concentración; sin embargo, como en el caso del biosimilar ERBITUX®, este aumento es mucho menos marcado para la formulación que contiene CSAL, es decir, el gradiente de viscosidad se reduce. En general, cuanto mayor es la concentración de mAb, mayor es el efecto de disminución de la viscosidad observado. La magnitud de los efectos de reducción de la viscosidad producidos por la sustitución de PB por CSAL varió de 2,1 veces a 80 mg/mL a 3,7 veces a 230 ± 5 mg/mL de mAb.

55

Ejemplo de Referencia 3: Efecto reductor de la viscosidad en función de la concentración de CSAL para soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX

Materiales y Métodos

60

Las muestras se purificaron, se intercambiaron con tampón, se concentraron, se secaron, se reconstituyeron y se analizaron de forma similar al Ejemplo de Referencia 1 anterior. La concentración final de CSAL tras la reconstitución en una solución acuosa de CSAL osciló entre 0,25 M y 0,50 M.

65

Resultados

La Tabla 1 muestra la viscosidad de las soluciones del biosimilar ERBITUX® formuladas en tampón fosfato 0,25 M (sin

CSAL como control) y con concentraciones variables de CSAL. Se observa que el efecto reductor de la viscosidad del CSAL aumenta de 8,4 a 12,1 veces al aumentar la concentración del agente reductor de la viscosidad. Los datos de la Tabla 1 muestran que cuanto mayor es la concentración de CSAL, mayor es el efecto reductor de la viscosidad, al menos dentro del intervalo de concentración de agente ensayado.

5

Tabla 1. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® (155 ± 5 mg/mL, pH 7,0) en presencia de diferentes concentraciones de CSAL a 25°C.

10

15

[CSAL], M	Viscosidad, mPa.s (cP)	Veces de reducción de viscosidad (en comparación a sin CSAL)	
		0	1
0	154 ± 0		1
0,25	18,3 ± 0,0		8,4
0,38	14,9 ± 0,1		10,3
0,50	12,7 ± 0,1		12,1

20

25

30

35

40

45

55

60

65

Ejemplo de Referencia 4: Viscosidades de soluciones del biosimilar ERBITUX® en función de la temperatura en presencia de diversos agentes reductores de la viscosidad

Materiales y Métodos

Se prepararon soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® que contenían diversos agentes reductores de la viscosidad como se describe en el Ejemplo de Referencia 1. Concretamente, se utilizaron soluciones 20 mM de los agentes reductores de la viscosidad de interés para el intercambio de tampones, y las tortas liofilizadas se reconstituyeron a 0,25 M de cada agente reductor de la viscosidad. Para la muestra que contenía CSAAPMI, el biosimilar ERBITUX® se intercambió ampliamente en tampón en PB 2 mM (pH 7,0), y se concentró hasta un volumen final inferior a 10 mL en concentradores centrífugos Jumbosep (Pall Corp.). Primero se alicuotó la muestra. A continuación, se añadió a cada alícuota una cantidad adecuada de solución de CSAAPMI (pH 7,0) de modo que, tras la reconstitución con agua, la concentración final del excipiente sea de 0,25 M. A continuación, las soluciones proteicas se liofilizaron. Las tortas de proteínas secas, que contienen proteínas y agente reductor de la viscosidad (y una cantidad insignificante de sales tampón) se reconstituyeron hasta un volumen final de aproximadamente 0,10 mL y una concentración de agente reductor de la viscosidad como se ha descrito previamente.

Resultados

La Tabla 2 muestra los datos de viscosidad del biosimilar ERBITUX® en presencia de seis agentes reductores de la viscosidad - lisina de ácido canforesulfónico (CSAL), arginina de ácido canforesulfónico (CSAA) lisina de ácido bencenosulfónico (BSAL), arginina de ácido bencenosulfónico (BSAA), arginina de ácido naftalenosulfónico (NSAA) y 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol de ácido canforsulfónico (CSAAPMI). Los datos de la Tabla 2 muestran una reducción de la viscosidad de al menos unas 9 veces para los seis agentes reductores de la viscosidad en comparación con una solución del biosimilar ERBITUX® en tampón fosfato en las mismas condiciones. El agente reductor de la viscosidad más eficaz, el CSAAPMI, redujo la viscosidad en más de 40 veces.

Adicionalmente, los datos de la Tabla 3 muestran que a múltiples temperaturas que van de 20°C a 30°C, una solución de 225 mg/mL del biosimilar ERBITUX® preparada con 0,25 M CSAA tuvo la viscosidad más baja de los cinco agentes reductores de viscosidad. Así, las tendencias observadas en las viscosidades a 25°C parecen predecir las de temperaturas de al menos 20°C y 30°C.

Tabla 2. Reducción de la viscosidad de las soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® (226 ± 6 mg/mL, pH 7,0) formuladas con diversos agentes reductores de la viscosidad 0,25 M, en comparación con la del tampón fosfato sódico (PB) 0,25 M a 25°C.

	Agente	Viscosidad, mPa.s (cP)	Veces de Reducción
5	PS	1130 ± 7	1
	CSAL	109 ± 1	10.4
10	CSAA	58.0 ± 0.3	19.5
	BSAL	126 ± 1	9.0
15	BSAA	61.3 ± 0.9	18.4
	NSAA	69.4 ± 0.6	16.3
20	CSAAPMI	25.7 ± 1.5	44.0

Tabla 3. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® (225 ± 5 mg/mL, pH 7,0) formuladas con varios agentes reductores de la viscosidad 0,25 M.

	Temp.	Viscosidad, mPa.s (cP)					
		Agente					
		PS	CSAL	CSAA	BSAL	BSAA	NSAA
35	20°C	1810 ±		79.6 ±		85.2 ±	103 ±
		10	166 ± 2	0.9	193 ± 0	0.6	0
				58.0 ±		61.3 ±	69.4 ±
40	25°C	1130 ± 7	109 ± 1	0.3	126 ± 1	0.9	0.6
				46.9 ±		50.5 ±	60.9 ±
45	30°C	723 ± 0	78.4 ± 1.5	0.6	89.8 ± 0.8	1.9	4.3

Ejemplo de Referencia 5: Efecto de la temperatura en la viscosidad de soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® formuladas con diversos agentes reductores de la viscosidad

Materiales y Métodos

Se prepararon soluciones de AVASTIN® biosimilar que contenían diferentes agentes reductores de la viscosidad como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior. En particular, se utilizaron soluciones 20 mM de los agentes reductores de la viscosidad de interés para el intercambio tampón, y las tortas liofilizadas se reconstituyeron a 0,15 o 0,25 M de agente reductor de la viscosidad.

Resultados

Como se observa en la Tabla 4, 0,25 M CSAL disminuyó la viscosidad de una solución de 230 ± 5 mg/mL del biosimilar AVASTIN® a las tres temperaturas entre 20 y 30°C. Además, 0,15 M CSAL reduce la viscosidad aproximadamente al mismo valor absoluto que 0,25 M CSAL a 20 y 25°C y es igualmente eficaz a 30°C.

Los datos de la Tabla 5 comparan los efectos del CSAL y el BSAL a una concentración de 0,15 M. El CSAL es un agente reductor de la viscosidad superior al BSAL a las tres temperaturas.

Tabla 4. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® (230 ± 5 mg/mL, pH 7,0) formuladas con 0,25 y 0,15 M CSAL a diferentes temperaturas.

		Viscosidad, mPa.s (cP)		
		PB 0.25	CSAL 0.25 M	CSAL 0.15 M
10	Temperatura			
	20°C	563 ± 2	152 ± 0	157 ± 0
	25°C	397 ± 2	107 ± 4	113 ± 0
15	30°C	311 ± 4	95.5 ± 5.4	91.7 ± 3.3

Tabla 5. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® (230 ± 5 mg/mL, pH 7,0) formuladas con CSAL 0,15 M y BSAL a diferentes temperaturas.

		Viscosidad, mPa.s (cP)		
		PB 0.25	CSAL 0.15 M	BSAL 0.15 M
25	Temperatura			
	20°C	563 ± 2	157 ± 0	395 ± 3
	25°C	397 ± 2	113 ± 0	227 ± 5
30	30°C	311 ± 4	91.7 ± 3.3	175 ± 7

40 Ejemplo de Referencia 6: La eliminación de CSAL invierte el efecto reductor de la viscosidad en las soluciones de mAb

Materiales y Métodos

45 Se prepararon tres muestras de cada uno de los biosimilares ERBITUX® y AVASTIN®. En primer lugar, se eliminó el polisorbato de las soluciones de mAb obtenidas comercialmente. La solución resultante con los excipientes farmacéuticos restantes se (i) concentró en un dispositivo centrífugo con un corte de peso molecular (MWCO) de 100 kDa (Pall Corp.) como muestra de control (excipientes originales), (ii) se intercambió con tampón en CSAL 0,25 M como se describe en el Ejemplo de Referencia 1, o (iii) se intercambió con tampón en CSAL 0,25 M como se describe en el Ejemplo de Referencia 50 1, se reconstituyó y, a continuación, se volvió a intercambiar en PB 0,25 M. En este tercer caso, el intercambio en tampón fosfato 0,25 M se realizó primero mediante diálsis de una noche contra PB 20 mM (50-kDa MWCO, Spectrum Labs). A continuación, las muestras parcialmente dializadas se diluyeron hasta 60 mL en PB 0,25 M y se sometieron a concentración centrífuga (Jumbosep MWCO de 30 kDa (Pall Corp.), seguido de un dispositivo Macrosep MWCO de 100 kDa (Pall Corp.)). Las viscosidades de estas tres soluciones acuosas se determinaron como se describe en el Ejemplo de 55 Referencia 1 anterior.

Resultados

60 Las viscosidades de las soluciones acuosas tanto del biosimilar ERBITUX® como del biosimilar AVASTIN® disminuyeron en presencia de CSAL - 2,7 y 1,5 veces, respectivamente - pero luego aumentaron cuando se eliminó el CSAL (véanse las Tablas 6 y 7). Además, al retirar el CSAL, las viscosidades de las soluciones de mAb volvieron aproximadamente al mismo nivel que las soluciones originales, lo que sugiere que el CSAL no daña la proteína y demuestra que es necesario para la reducción de viscosidad observada.

Tabla 6. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® (80 ± 5 mg/mL, pH 7,0) a 25°C.

	Formulación	Viscosidad, mPa.s (cP)
5	Excipientes originales	8.30 ± 0.04
10	CSAL 0.25 M	3.08 ± 0.18
15	CSAL 0.25 M intercambiado en PB 0.25 M	9.43 ± 0.04

Tabla 7. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® (101 ± 5 mg/mL, pH 7,0) a 25°C.

	Formulación	Viscosidad, mPa.s (cP)
20	Excipientes originales	6.08 ± 0.19
25	CSAL 0.25 M	4.03 ± 0.24
30	CSAL 0.25 M intercambiado en PB 0.25 M	6.61 ± 0.08

Ejemplo de Referencia 7: Los agentes reductores de viscosidad que contienen ácido canfor sulfónico proporcionan grandes reducciones de viscosidad en soluciones acuosas de AVASTIN® y AVASTIN® biosimilar.

Materiales y Métodos

AVASTIN® y un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente y que contiene excipientes farmacéuticos (AVASTIN®: trehalosa, tampón fosfato sódico y polisorbato 20; biosimilar AVASTIN®: Polisorbato 20, tampón fosfato, tampón citrato, manitol y NaCl) se purificaron, se intercambiaron los tampones, se concentraron, se liofilizaron y se reconstituyeron como se ha descrito anteriormente. Las muestras de la Tabla 8 se prepararon como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de proteínas de 1,7 L/g-cm a 280 nm) y se midieron en un viscosímetro C & P. Las muestras de viscosidad reducida de la Tabla 9 se prepararon como se describe en el Ejemplo de Referencia 4 anterior, pero el mAb se intercambió ampliamente en tampón en PB 2 mM. Posteriormente, se añadió la cantidad adecuada de agente reductor de la viscosidad para obtener una concentración final de agente reductor de la viscosidad de 0,15-0,35 M tras la reconstitución. Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC equipado con un chip "A" o "B".

Resultados

Los datos de las Tablas 8 y 9 demuestran el efecto reductor de la viscosidad de diferentes agentes reductores de la viscosidad en soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN®. Se observan reducciones de la viscosidad de hasta 2,5 veces (en comparación con las soluciones de mAb en PB) para las soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® en presencia de agentes reductores de la viscosidad que contienen CSA.

Tabla 8. Viscosidades de soluciones acuosas de biosimilares AVASTIN® (200 ± 5 mg/mL, pH 7,0 a 25°C con diversos agentes reductores de la viscosidad.

	Agente	[Sal] (M de sodio)	Viscosidad, mPa.s (cP)
5	PB	0.25	95.8 ± 0.9
10	NaCl	0.25	121 ± 8
15	Arginina-HCl	0.25	83.2 ± 2.8
20	Arginina-HCl	0.3	71.8 ± 2.2
25	Isetina-HCl	0.25	137 ± 2
30	Sal sódica de BSA	0.25	133 ± 3
35	Sal sódica de CSA	0.25	95.7 ± 0.2
40	BSAA	0.25	75.3 ± 0.4
45	Ácido benzoico arginina	0.15	52.2 ± 0.5
50	Ácido benzoico arginina	0.25	51.4 ± 0.5
55	CSAA	0.25	48.5 ± 1.9
60	CSA betaina*	0.25	66.0 ± 0.7
	α-CSA cadaverina	0.25	89.5 ± 5.2
	β-CSA cadaverina	0.25	65.6 ± 1.6
	CSA canavanina	0.15	63.5 ± 0.6
	CSA canavanina	0.25	75.6 ± 3.0
	CSA carnitina*	0.25	72.4 ± 1.7
	CSA dimetilpiperazina	0.25	47.4 ± 1.3
	CSA dimetilpiperazina	0.35	51.7 ± 0.9
	CSAL	0.25	54.9 ± 0.9
	Chetotecifilina arginina	0.25	104.5 ± 6.5
	Etandisulfonato diarginina*	0.15	77.1 ± 0.3
	Etandisulfonato diarginina*	0.25	105 ± 4
	Ácido toluensulfónico arginina	0.25	159 ± 5
	Ácido toluensulfónico isetina	0.25	118 ± 1

* Contiene NaCl equimolar; CSA = ácido canforsulfónico, BSA = ácido bencenosulfónico, MSA = ácido metanosulfónico, PB = tampón fosfato.

Tabla 9. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® (pH 7,0) a 25°C con agentes reductores de la viscosidad 0,15 M (a menos que se indique lo contrario).

5	Agente	[biosimilar de AVASTIN]	
		(mg/mL)	Viscosidad, mPa.s (cP)
10	PB 0,25 M	220	213 ± 10
	PB 0,25 M	200	96,8 ± 0,9
15	CSA-piperazina	212	64,5 ± 13,1
	Ácido lactobiónico-tris	219	109 ± 5
20	CSA-4-aminopiridina	229	86,4 ± 1,1
	Ácido glucurónico-tris	221	151 ± 5

25 Se midió la viscosidad de una solución acuosa de 200 ± 9 mg/mL del biosimilar AVASTIN® con CSAA en función del pH, como se muestra en la Figura 3. A medida que aumenta el pH, la magnitud del efecto reductor de la viscosidad resultante de la presencia de CSAA en soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® también aumenta, alcanzando una viscosidad mínima y un efecto reductor de la viscosidad máximo en torno al pH 7. Se comparó la reducción de la viscosidad por CSAA en función del pH para dos concentraciones diferentes del biosimilar AVASTIN®. La Figura 4 demuestra que la CSAA 0,25 M produce una mayor reducción de la viscosidad al aumentar (i) la concentración del biosimilar AVASTIN® y (ii) el pH.

30 La Tabla 10 compara la reducción de viscosidad del biosimilar AVASTIN® con la del AVASTIN® de marca con y sin CSAL. La solución de marca AVASTIN® tiene una viscosidad mucho mayor que una solución del mAb biosimilar en ausencia del agente. Sin embargo, la presencia de 0,25 M de CSAL resulta en una reducción de 1,8 y 3,3 veces en la viscosidad del biosimilar y de la marca AVASTIN® respectivamente; se observa que las viscosidades del biosimilar y de la marca AVASTIN® son similares en presencia de 0,25 M de CSAL.

Tabla 10. Viscosidades de soluciones acuosas que contienen 205 ± 5 mg/mL de AVASTIN® biosimilar o AVASTIN® de marca con o sin CSAL 0,25 M medidas a 25°C y pH 7,0.

40	Sal	Biosimilar de AVASTIN® de la marca AVASTIN® (cP)	
		(mPa.s (cP))	(mPa.s (cP))
45	Regulador de fosfato	96,8 ± 0,9	154 ± 4
	CSAL 0,25 M	54,9 ± 0,9	46,7 ± 0,9

50 CSAL = ácido alcanforsulfónico lisina

55 Como se demuestra en la Tabla 11, el CSA 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (CSAAPMI) con HCl proporciona una reducción de la viscosidad superior a la del CSAL, reduciendo la viscosidad más de 5 veces en comparación con el control PB para una solución del biosimilar AVASTIN® de 210 mg/mL.

60 **Tabla 11. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® con diversos agentes reductores de la viscosidad a 25°C y pH 7,0.**

	Agente	[Agente], M	[Proteína], mg/mL	Viscosidad, mPa.s (cP)
5	PB	0.25	220	213 ± 10
	CSAL	0.25	210	63.0 ± 1.8
	CSAAPMI-2HCl	0.25	210	40.9 ± 0.5

15 APMI = 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol
 Para una solución que contiene ~ 230 mg/mL del biosimilar AVASTIN®, la Tabla 12 demuestra una reducción de la viscosidad de aproximadamente 5 veces con agentes reductores de la viscosidad que contienen ácido sulfosalicílico, así como para CSAAPMI y CSA tiamina.

20 **Tabla 12. Viscosidades de soluciones acuosas que contienen 228 ± 5 mg/mL del biosimilar AVASTIN® con agentes reductores de la viscosidad a 25°C y pH 7,0.**

	Agente	Concentración del agente (M)	Viscosidad, mPa.s (cP)
25	PB	0.25	397 ± 2
	CSAA	0.25	116 ± 2
	CSAL	0.25	113 ± 0
35	Ácido sulfosalicílico diarginina	0.15	81.6 ± 1.7
	Ácido sulfosalicílico dilisina	0.25	73.4 ± 0.4
40	CSAAPMI-2HCl	0.25	71.8 ± 3.2
	CSAtiamina-2NaCl	0.15	83.7 ± 2.2

45 APMI = 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol; CSA = ácido canforosulfónico.

50 **Ejemplo 8. El efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones acuosas de ERBITUX® y ERBITUX® biosimilar**

55 Materiales y Métodos

Se prepararon soluciones acuosas de ERBITUX® biosimilar y de marca que contenían varios agentes reductores de la viscosidad como se describe en el Ejemplo de Referencia 1. Concretamente, se utilizaron soluciones 20 mM de las sales de interés para el intercambio tampón, y las tortas liofilizadas se reconstituyeron para contener 0,25 M de cada agente. Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RhoSense mVROC equipado con un chip "A" o "B" o un viscosímetro de cono y placa DV2T.

60 Resultados

La Tabla 13 muestra los datos del biosimilar ERBITUX® (222 ± 5 mg/mL) en presencia de cinco agentes reductores de la viscosidad: CSAA, CSAL, BSAA, BSAL y NSAA. La Tabla 14 compara la reducción de la viscosidad de las soluciones biosimilares de ERBITUX® utilizando CSAA y CSAL con arginina o lisina solas.

Tabla 13. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® (222 ± 5 mg/mL, pH 7,0) con agentes reductores de la viscosidad 0,25 M a 25°C.

Agente	Viscosidad, (mPa.s (cP))	Veces de reducción
Regulador de fosfato	1130 ± 7	1.0
CSA Arginina	52.5 ± 1.0	21.5
CSA lisina	109 ± 1	10.4
BSA Arginina	53.4 ± 5.5	21.2
BSA lisina	126 ± 1	9.0
NSA Arginina	69.4 ± 0.6	16.3

Tabla 14. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® (222 ± 5 mg/mL, pH 7,0) con agentes reductores de la viscosidad 0,25 M a 25°C.

Agente	Viscosidad, (mPa.s (cP))	Veces de reducción
Regulador de fosfato	1130 ± 7	1.0
CSAA	52.5 ± 1.0	21.5
CSA Sódico	393 ± 14	2.9
HO Arginina	45.3 ± 0.5	24.9
CSAL	109 ± 1	10.4
HO lisina	126 ± 2	9.8

Los datos de la Tabla 13 muestran una reducción de la viscosidad de al menos 9,0 veces para los cinco agentes reductores de la viscosidad en comparación con una solución acuosa del biosimilar ERBITUX® en tampón fosfato en las mismas condiciones. Los agentes reductores de la viscosidad más eficaces, CSAA y BSAA, disminuyeron la viscosidad de la solución unas 21 veces. Se compararon las viscosidades de las soluciones acuosas del biosimilar ERBITUX® que contenían 0,25 M de CSAA en función del pH a distintas concentraciones de proteína. La figura 5 demuestra que se observa un mínimo de viscosidad en torno al pH 7,0 para todas las concentraciones de proteínas. El efecto del pH sobre la viscosidad es más pronunciado para concentraciones de proteína más elevadas (253 mg/mL en el ejemplo),

Como se observa en la Tabla 15, las soluciones acuosas de ERBITUX® biosimilar y de marca presentan viscosidades similares en presencia de la sal de arginina BSAA a 0,25 M.

Tabla 15. Viscosidades de soluciones acuosas de 224 ± 4 mg/mL de ERBITUX® biosimilar o ERBITUX® de marca con o sin BSAA 0,25 M a 25°C y pH 7,0.

Agente	Biosimilar de ERBITUX®	De la marca ERBITUX®
	Viscosidad, (mPa.s (cP))	Viscosidad, (mPa.s (cP))
Regulador de fosfato	1130 ± 7	556 ± 20
BSAA 0,25 M	53.4 ± 5.5	44.1 ± 0.5

Se examinó el impacto de los agentes reductores de la viscosidad en la formación de agregados proteicos irreversibles para el biosimilar ERBITUX®. Se prepararon formulaciones líquidas acuosas de (i) ERBITUX® biosimilar y (ii) ERBITUX® biosimilar con 0,25 M de CSAL. Estas soluciones se almacenaron durante 90 días a 4°C y pH 5,4 y 7,0, respectivamente. Las muestras almacenadas se examinaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño (columna: Tosoh TSKgel 5 UltraSW Aggregate; fase móvil: 0,1 M fosfato potásico/0,1 M sulfato sódico, pH 6,8 a 0,8 mL/min; inyección: 20 µl de una solución de mAb de 5 mg/mL). Los datos de la Tabla 16 no revelan ninguna formación significativa de agregados ni en el producto farmacológico comercial ni en la formulación de alta concentración y viscosidad aumentada.

10 **Tabla 16. Porcentaje de formación de agregados proteicos tras 90 días de almacenamiento a 4°C medido por cromatografía de exclusión por tamaño para soluciones acuosas que contienen el biosimilar ERBITUX® con o sin 0,25 M CSAL.**

Muestra	% de Monómero	% de Dímero	% de Agregado
Biosimilar de ERBITUX® 5 mg/mL	99.0	1.0	0.0
Biosimilar de ERBITUX® 210 mg/mL con CSAL 0,25 M	98.4	0.9	0.7

25 **Ejemplo de Referencia 9. Efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones acuosas de REMICADE®**

30 **Materiales y métodos**

35 Se preparó REMICADE® obtenido comercialmente con excipientes farmacéuticos (sacarosa, polisorbato 80, tampón fosfato sódico) siguiendo las instrucciones de la hoja de información para la prescripción. Posteriormente, el producto farmacológico acuoso se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,4 L/g*cm a 280 nm). Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RHEOSense mVROC equipado con un chip "A" o "B".

40 **Resultados**

45 Los datos para las soluciones acuosas de REMICADE® en la Tabla 17 demuestran que (i) los agentes reductores de la viscosidad que contienen un grupo cíclico voluminoso proporcionan reducciones de la viscosidad superiores a 15 veces, y (ii) el CSAA, el CSAAPMI y la diarginina de ácido sulfosalícílico (SSA DiArg) proporcionan la mayor reducción de la viscosidad de aproximadamente 29 veces. Las viscosidades de las soluciones en presencia de ArgHCl solo son significativamente superiores a las de las soluciones con los grupos cíclicos voluminosos.

45 **Tabla 17. Viscosidades de soluciones acuosas de REMICADE® que contienen agentes reductores de la viscosidad 0,25 M a 25°C y pH 7,0.**

[REMICADE®] (mg/mL)	Viscosidad, (mPa.s (cP))						
	PS	HClArg	CSAA	CSA APMI	BSAA	CSAL	SSA DiArg
222 ± 6	1557 ± 22	486 ± 34	53.7 ± 9.3	56.3 ± 2.7	92.3 ± 1.4	95.3 ± 1.1	55.9 ± 1.6
166 ± 4	513 ± 15	110 ± 1	19.1 ± 0.2	31.7 ± 0.3	26.7 ± 1.2	27.4 ± 0.2	27.1 ± 0.3

PS = regulador de fosfato; ArgHCl = HCl de arginina; CSAA = ácido alcanforsulfónico arginina; CSA APMI = ácido alcanforsulfónico 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol; BSAA = ácido bencen sulfónico arginina; CSAL = ácido alcanforsulfónico lisina; SSA DiArg = ácido sulfosalícilico di-arginina.

Se examinó la dependencia de la reducción de la viscosidad de la concentración del agente para soluciones acuosas de REMICADE® en presencia de CSAA. Los resultados presentados en la Tabla 18 demuestran que la reducción de la viscosidad aumenta con el incremento de la concentración del agente. La reducción de la viscosidad, por ejemplo, es más del doble (la viscosidad es menos de la mitad) con agente 0,35 M en comparación con agente 0,20 M.

Tabla 18. Viscosidad de una solución acuosa de REMICADE® (215 ± 5 mg/mL) en presencia de diversas concentraciones de CSAA medida a 25°C y pH 7,0.

(CSAA), (M)	Viscosidad, (mPa.s (cP))
0	1557 ± 22
0.20	81.3 ± 1.0
0.25	53.7 ± 9.3
0.35	38.2 ± 0.9

Se evaluaron las propiedades biofísicas de las soluciones de REMICADE® formuladas con CSAA 0,25 M durante 90 días. Se prepararon muestras de REMICADE® formulado con CSAA 0,25 M como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior. Como se observa en la Tabla 19 y en la Figura 6, el contenido de monómeros de las soluciones concentradas de REMICADE® en CSAA 0,25 M, determinado mediante cromatografía de exclusión por tamaño (columna de agregación Tosoh TSKgel UltraSW; tampón fosfato potásico 0,1 M/0,1 M de sulfato sódico pH 6,8 a 0,8 mL/min; inyección de 20 µL de soluciones ~4,5 mg/mL), es similar al del producto farmacológico en todos los puntos temporales y no se observa agregación detectable tras el almacenamiento durante 100 días a 4°C. Se demostró que la viscosidad, medida con un viscosímetro microfluídico, permanecía estable tras 30 días de almacenamiento a 4°C (Tabla 20). Además, se midió la unión a antígeno de esta proteína REMICADE® procesada con un ensayo ELISA específico para REMICADE® y no se observó disminución en la unión entre los días 0 y 100 (Tabla 20). Del mismo modo, el contenido de monómeros (Tabla 21) y la unión a antígenos (normalizada con respecto a la del producto farmacológico, Tabla 22) de las soluciones concentradas de REMICADE® en CSAA 0,25 M son comparables a los del producto farmacológico tras 1 semana de almacenamiento a temperatura ambiente. Por último, la Tabla 23 demuestra que el almacenamiento de una torta liofilizada que contiene CSAA a 4°C durante 75 días no tiene efectos negativos en la viscosidad de la solución ni en el grado de agregación de la proteína cuando se reconstituye la muestra. Los resultados de las Tablas 19-23 y la Figura 6 demuestran la estabilidad biofísica de REMICADE® formulado con CSAA antes y después del almacenamiento durante al menos 100 días a 4°C.

5 **Tabla 19. No se observa un aumento de la agregación (en comparación con el producto farmacológico) en una solución acuosa de REMICADE® (227 mg/mL, pH 7) después de la formulación con CSAA 0,25 M y el almacenamiento a 4°C.**

	Día	% de monómero
10	Producto de fármaco	99.9 ± 0.03
15	0	99.7 ± 0.07
20	30	99.7 ± 0.04
25	100	99.9 ± 0.1

20 **Tabla 20. La viscosidad reducida y la unión al antígeno se mantienen a lo largo del tiempo en una solución acuosa de REMICADE® (227 mg/mL, pH 7) tras su formulación con CSAA 0,25 M y almacenamiento a 4°C.**

	Día	Viscosidad, (mPa.s (cP))	% de unión (ELISA)
30	0	65.2 ± 0.7	105 ± 14
35	30	62.2 ± 1.4	98 ± 12
40	100	n.d.	101 ± 5

40 **Tabla 21. No se observa un aumento de la agregación (en comparación con el producto farmacológico) en una solución acuosa de REMICADE® (219 mg/mL, pH 7) tras la formulación con CSAA 0,25 M y el almacenamiento a temperatura ambiente.**

	Día	Producto de fármaco	% de monómero
			CSAA 0,25 M
50	0	99.7 ± 0.1	99.9 ± 0.1
55	4	99.9 ± 0.1	97.9 ± 0
	7	100 ± 0	100 ± 0

5 **Tabla 22. La unión al antígeno persiste en una solución acuosa de REMICADE® (219 mg/mL, pH 7) tras su formulación con CSAA 0,25 M y almacenamiento a temperatura ambiente.**

10	Día	% de unión (normalizado al producto de fármaco)	
		Producto de fármaco	CSAA 0,25 M
			0
15	7	100 ± 28	114 ± 2.4

20 **Tabla 23. REMICADE® almacenado como polvo liofilizado conserva una baja viscosidad y contenido de monómero al reconstituirlo después de almacenarlo a 4°C durante 75 días.**

25	Tiempo de almacenamiento (días)	Viscosidad, mPa.s (cP)	% de Monómero (SEC)
			0
			75
30	0	65.2 ± 0.7	99.7 ± 0.1
	75	59.3 ± 1.0	98.9 ± 0.1

35 **Ejemplo de Referencia 10. Efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones acuosas de HERCEPTIN**

40 **Materiales y Métodos**

45 Se preparó HERCEPTIN® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (tampón de histidina, trehalosa, polisorbato 20) según las instrucciones de la hoja de información para prescripción. Posteriormente, el producto farmacológico acuoso se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,5 L/g*cm a 280 nm). Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RhoSense mVROC equipado con un chip "A" o "B".

50 **Resultados**

55 Los datos presentados en la Tabla 24 muestran que la viscosidad de una solución acuosa de HERCEPTIN® que contiene agentes reductores de viscosidad - en comparación con las que contienen PB - es menor en presencia de CSAA. A mayores concentraciones de proteínas (es decir, >250 mg/mL), el HCl de arginina por sí solo reduce la viscosidad de forma significativa y el CSA potencia aún más el efecto,

60 **Tabla 24. Viscosidades de soluciones acuosas de HERCEPTIN® que contienen sales 0,25 M a 25°C y pH 7,0.**

65	(HERCEPTIN®) (mg/mL)	Viscosidad, (mPa.s (cP))			
		PB	HClArg	CSAA	BSAA
60	270 ± 6	400 ± 4	179 ± 17	96.7 ± 4.7	115 ± 6
	254 ± 3	172 ± 5	116 ± 24	78.0 ± 8.7	75.4 ± 5.0
65	216 ± 0	n.d.	44.8 ± 1.1	55.7 ± 2.3	n.d.

PB = tampón fosfato; ArgHCl = HCl de arginina; n.d. = no determinado

Ejemplo de Referencia 11. Efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones acuosas de TYSABRI

5

Materiales y Métodos

El TYSABRI® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (tampón fosfato sódico, cloruro sódico, polisorbato 80) se purificó, se intercambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,5 L/g*cm a 280 nm). Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC equipado con un chip "A" o "B".

Resultados

15 Los datos presentados en la Tabla 25 muestran que la reducción de la viscosidad de una solución acuosa de TYSABRI® que contiene agentes reductores de la viscosidad es de aproximadamente 2.5 veces (en comparación con la solución que contiene PB) cerca de 276 mg/mL de proteína.

20 **Tabla 25. Viscosidades de soluciones acuosas de TYSABRI® que contienen agentes reductores de la viscosidad 0,25 M a 25°C y pH 7,0.**

25	[TYSABRI®] (mg/mL)	Viscosidad, (mPa.s (cP))			
		PB	HClArg	CSAA	BSAA
	276 ± 8	255 ± 8	97.2 ± 5.7	92.9 ± 2.6	n.d.
30	237 ± 4	182 ± 6	52.3 ± 4.5	47.1 ± 2.1	n.d.
	230 ± 2	n.d.	37.0 ± 0.1	n.d.	34.9 ± 1.3

35 PB = tampón fosfato; ArgHCl = HCl de arginina; n.d. = no determinado.

Ejemplo de Referencia 12. El efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones acuosas del biosimilar RITUXAN

40

Materiales y métodos

45 El biosimilar RITUXAN® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (tampón citrato, cloruro sódico y TWEEN® 80) se purificó, se intercambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,7 L/g*cm a 280 nm). Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC equipado con un chip "A" o "B".

Resultados

50 Los datos presentados en la Tabla 26 muestran que la reducción de la viscosidad para una solución acuosa de RITUXAN® biosimilar que contiene agentes reductores de la viscosidad es más de 13 veces a aproximadamente 213 mg/mL de proteína y más de 5 veces a aproximadamente 202 mg/mL, en comparación con el mAb formulado en PB.

5 **Tabla 26. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar RITUXAN® con agentes reductores de la viscosidad a 25°C y pH 7,0.**

[RITUXA Nº] (mg/mL)	PB	HCl Arg	HCl Arg	SSA diArg	SSA diAPMI	CSA Na	CSAA	CSA APMI	CSA DMP
213 ± 4	0.25 M	0.25 M	0.45 M	0.25 M	0.25 M	0.25 M	0.25 M	0.25 M	0.25 M
202 ± 2	636 ± 32	99.9 ± 5.0	86.8 1.8*	68.3 0.8*	46.6 ± 1.9	211 ± 2	103 ± 0	78.6 ± 2.0	161 ± 4
	251 ± 1	n.d.	46.9 ± 0.8	44.1 ± 0.1	n.d.	76.1 ± 1.3	78.4 ± 0.3	38.7 ± 0.7	n.d.

* [RITUXAN®] es 220 mg/mL

DMP = dimetilpiperazina

30 **Ejemplo de Referencia 13. Efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones acuosas de VECTIBIX**

35 **Materiales y Métodos**

35 El VECTIBIX® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,25 L/g·cm a 280 nm). Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RheoSense mVRoc equipado con un chip "A" o "B".

40 **Resultados**

45 Los datos presentados en la Tabla 27 muestran que la reducción de la viscosidad de una solución acuosa de VECTIBIX® que contiene agentes reductores de la viscosidad es aproximadamente 2 veces a 291 mg/mL y 3 veces a 252 mg/mL, en comparación con las soluciones con PB pero sin agentes reductores de la viscosidad.

50 **Tabla 27. Viscosidades de soluciones acuosas de VECTIBIX® con agentes reductores de la viscosidad 0,25 M a 25°C y pH 7,0.**

[VECTIBIX®] (mg/mL)	Viscosidad, (mPa.s (cP))		
	PB	ArgHCl	CSAA
291 ± 3	328 ± 12	n.d.	162 ± 1
264	n.d.	n.d.	44.3 ± 2.3
252 ± 3	80.3 ± 3.3	36.2 ± 1.0	27.4 ± 1.2
233 ± 4	38.7 ± 1.8	24.7 ± 1.3	26.2 ± 6.5

Ejemplo de Referencia 14. El efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones acuosas de ARZERRA®**Materiales y Métodos**

El ARZERRA® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,5 L/g*cm a 280 nm). Las viscosidades se midieron utilizando un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC equipado con un chip "A" o "B".

Resultados

Los datos presentados en la Tabla 28 muestran que la reducción de la viscosidad de una solución acuosa de ARZERRA® que contiene agentes reductores de la viscosidad es aproximadamente 3 veces a 274 mg/mL y 2 veces a 245 mg/mL, en comparación con las soluciones con PB pero sin agentes reductores de la viscosidad.

Tabla 28. Viscosidades de soluciones acuosas de ARZERRA® con agentes reductores de la viscosidad 0,25 M a 25°C y pH 7,0.

(ARZERRA®) (mg/mL)	Viscosidad, (mPa.s (cP))		
	PB	CSAA	CSAARMI
274 ± 10	349 ± 2	125 ± 7	98.9 ± 0.7
245 ± 4	120 ± 4	n.d.	53.6 ± 0.6

Ejemplo de Referencia 15. Comparación de distintos métodos de medición de la viscosidad**Materiales y Métodos**

Se prepararon soluciones acuosas que contenían 220 mg/mL de REMICADE® y 0,25 M de CSAA como se ha descrito anteriormente Ejemplo de Referencia 1. Las viscosidades a 25°C y pH 7,0 se presentan en la Tabla 29 como viscosidades de cizallamiento cero extrapoladas a partir de mediciones con viscosímetros de cono y de placa y como viscosidades absolutas medidas con un viscosímetro microfluídico. En las mediciones de cono y placa se utilizó un viscosímetro de cono y placa DV2T (Brookfield) equipado con un husillo CPE40 o CPE52 medido a múltiples velocidades de cizallamiento entre 2 y 400 s^{-1} . Se determinó una viscosidad de cizallamiento cero extrapolada a partir de un gráfico de la viscosidad absoluta frente a la velocidad de cizallamiento. Las mediciones del viscosímetro microfluídico se realizaron utilizando un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC equipado con un chip "A" o "B" a múltiples velocidades de flujo (aproximadamente 20%, 40% y 60% de la presión máxima para cada chip).

Resultados

Los datos de la Tabla 29 demuestran que las viscosidades absolutas del viscosímetro microfluídico pueden compararse directamente con las viscosidades extrapoladas de cizallamiento cero determinadas a partir del viscosímetro de cono y placa.

Tabla 29. Viscosidades de soluciones acuosas de REMICADE® (220 mg/mL) con CSAA 0,25 M a 25 °C y pH 7,0 medidas en dos viscosímetros diferentes.

Instrumento	Viscosidad, (mPa.s (cP))
Viscosímetro de cono y placa (C&P)	62.3 ± 0.1
Viscosímetro microfluídico en un chip (mVROC)	53.7 ± 9.3

5 Para comparar una gama más amplia de viscosidades y concentraciones de proteínas, se prepararon soluciones acuosas de un anticuerpo modelo, la gammaglobulina bovina, con y sin 0,25 M de CSAL. Las viscosidades se midieron como se ha descrito anteriormente a concentraciones de proteína comprendidas entre 110 mg/mL y 310 mg/mL. Los datos presentados en la Tabla 30 demuestran que las viscosidades absolutas del viscosímetro microfluídico pueden compararse directamente con las viscosidades de cizallamiento cero extrapoladas, tanto para soluciones de proteínas de baja como de alta viscosidad.

10 **Tabla 30. Viscosidades de soluciones acuosas de gammaglobulina con y sin CSAL 0,25 M a 25°C y pH 7,0 medidas en dos viscosímetros diferentes.**

(Gama globulina) (mg/mL)	Viscosidad, (mPa.s (cP))			
	sin CSAL		con CSAL	
	C & P	microfluídico	C & P	microfluídico
110	3.81 ± 0.19	2.66 ± 0.01	n.d.	n.d.
170	12.0 ± 0.6	11.0 ± 0.1	10.3 ± 1.0	10.6 ± 0.1
260	167 ± 1	161 ± 1	93.5 ± 1.2	85.3 ± 0.3
310	399 ± 1	377 ± 2	223 ± 1	203 ± 2

30 **Ejemplo de Referencia 16. Los agentes reductores de la viscosidad no muestran signos de toxicidad cuando se inyectan por vía subcutánea**

Materiales y Métodos

35 Se separaron 30 ratas Sprague-Dawley de 11 semanas de edad en 6 grupos de 5 ratas cada uno (3 grupos de control con solución salina y 3 grupos de CSAA). Las ratas fueron inyectadas por vía subcutánea con 0,5 mL de solución salina tamponada con fosfato sin endotoxinas o de CSAA 0,25 M sin endotoxinas según el siguiente esquema: Un grupo de cada condición fue inyectado una vez el día 1 y sacrificado 1 hora después; un grupo de cada condición fue inyectado una vez el día 1 y una vez el día 2 y sacrificado 24 horas después de la segunda inyección; y un grupo de cada condición fue inyectado una vez el día 1, una vez el día 2 y una vez el día 3, y sacrificado 24 horas después de la tercera inyección.

40 40 Se registraron las observaciones clínicas para detectar cualquier signo fármaco-toxicológico antes de la dosis, inmediatamente después de la dosis, 1 y 4 horas (± 15 minutos) después de la dosis, y diariamente a partir de entonces. La irritación, si la hubo, en los puntos de inyección se puntuó utilizando las puntuaciones de evaluación de Draize antes de la dosis, inmediatamente después de la dosis, 1 hora (±15 minutos) después de la dosis y antes del sacrificio.

45 **Resultados**

50 En general, las consecuencias observadas de las inyecciones de solución salina y CSAA fueron macroscópicamente similares a lo largo del estudio. Ambos indujeron desde ninguna irritación hasta irritación leve con puntuaciones de edema de 0-2 en varios puntos temporales. El examen microscópico de los puntos de inyección sugiere un efecto irritativo muy leve, clínicamente insignificante, con CSAA, que ya no era evidente al cuarto día.

55 **Ejemplo de Referencia 17. Las soluciones acuosas concentradas de REMICADE® formuladas con agentes reductores de la viscosidad presentan bajas fuerzas de extrusión de la jeringa y un alto contenido de monómero cuando se expulsan a través de agujas de diversos calibres.**

Materiales y Métodos

60 Se preparó REMICADE® comercial con excipientes farmacéuticos (sacarosa, polisorbato 80, tampón fosfato sódico) siguiendo las instrucciones de la hoja de información para la prescripción. Posteriormente, el producto farmacológico acuoso se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,4 L/g*cm a 280 nm). Para el intercambio tampón se utilizaron soluciones 20 mM de tampón fosfato, CSAAPMI o CSAA, y las tortas liofilizadas se reconstituyeron con 0,25 M de cada agente reductor de la viscosidad. Tras la reconstitución, se midió la viscosidad de cada solución utilizando el viscosímetro microfluídico descrito en ejemplos anteriores. A continuación, las soluciones se volvieron a cargar en jeringas de insulina BD de 1 ml con agujas fijas de calibre 27, 29 o 31. A continuación, se midió la fuerza

necesaria para extruir las soluciones concentradas de REMICADE® utilizando un Instron a una velocidad de desplazamiento equivalente a un caudal de fluido de 3 mL/min. La solución expulsada se recogió de la jeringa y se analizó mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

5 Resultados

Todas las soluciones REMICADE® que contenían agentes reductores de la viscosidad pudieron expulsarse a través de las jeringas con fuerzas de extrusión relativamente bajas (Tabla 31). La solución que contenía tampón fosfato no pudo expulsarse debido a su elevada viscosidad. Las dos soluciones que contenían agentes reductores de la viscosidad conservaron un alto contenido de monómero tras la extrusión, independientemente del calibre de la aguja, como se indica en la Tabla 31.

Tabla 31. Jeringabilidad de soluciones acuosas concentradas de REMICADE® extruidas a través de agujas de distintos calibres.

15	Agente	[REMICADE®] (mg/ml) (Viscosidad, en mPa.s (cP))	Calibre de la aguja	% de Monómero	Fuerza de la jeringa (N)
20	Regulador de fosfato 0,25 M	220 (1,500)	pre-jeringa	98,8 ± 0,0	na
			27		
			29	no pudo ser extruido	na
25	CSAAPMI 0,25 M	230 (99,8 ± 8,4)	31		
			pre-jeringa	99,2 ± 0,32	na
			27	99,1 ± 0,0	21,8
30	CSAA 0,25 M	224 (60,6 ± 1,1)	29	99,0 ± 0,0	30,4
			31	99,0 ± 0,0	38,4
			pre-jeringa	99,7 ± 0,3	na
35	CSAA 0,25 M	224 (60,6 ± 1,1)	27	99,5 ± 0,1	18,4
			29	99,4 ± 0,2	24,9
			31	99,5 ± 0,2	33,0

Ejemplo 18 Los agentes reductores de la viscosidad reducen la viscosidad de las soluciones acuosas concentradas del biosimilar AVASTIN®

55 Materiales y Métodos

Se purificó un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente que contenía excipientes farmacéuticos (polisorbato 20, tampones de fosfato y citrato, manitol y NaCl). En primer lugar, se eliminó el polisorbato 20 utilizando las columnas DETERGENT-OUT® TWEEN Medi (G-Biosciences). A continuación, las soluciones resultantes se intercambiaron ampliamente en tampón fosfato sódico (PB) 20 mM para las muestras de PB y en PB 2 mM para las muestras de agentes reductores de la viscosidad, y se concentraron hasta un volumen final inferior a 10 mL en concentradores centrífugos Jumbosep (Pall Corp.). A continuación, se añadió el agente reductor de la viscosidad a las muestras de PB 2 mM como se describe en el Ejemplo de Referencia 4 anterior. El agente o agentes reductores de la viscosidad se añadieron en cantidad suficiente para que la concentración al reconstituirse fuera la especificada a continuación. En los casos de combinaciones de agentes, la concentración de cada componente es de 0,15 M. A continuación, las soluciones proteínicas se liofilizaron. Las tortas de proteínas secas se reconstituyeron en tampón fosfato (para muestras PB) o agua (para

5 muestras que contenían agentes reductores de la viscosidad) hasta un volumen final de aproximadamente 0,10 mL. La concentración final de mAb en solución se determinó mediante un ensayo de cuantificación de proteínas de Coomassie comparando las concentraciones desconocidas de las muestras con una curva estándar del biosimilares AVASTIN® o mediante A280 utilizando el coeficiente de extinción de 1,7 L/g*cm, cuando fue posible. Las viscosidades indicadas se midieron en un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC. Los resultados figuran en la Tabla 32.

Resultados

10 Muchos compuestos GRAS, IIG y API son capaces de reducir la viscosidad de las soluciones concentradas del biosimilares AVASTIN® en relación con las muestras tamponadas con fosfato. De los compuestos incluidos en la Tabla 32, los anestésicos locales como la procaína y la lidocaína, así como los agentes GRAS como la biotina se encuentran entre los excipientes reductores de viscosidad más eficaces.

15 **Tabla 32. Efecto de los agentes reductores de la viscosidad en las soluciones del biosimilares AVASTIN®.**

Ágente	(Biosimilares de AVASTIN®), mg/ml	Viscosidad, mPa.s (cP)		
Regulador de fosfato 0,25 M ***	236	397	*	2
	220	213	*	10
	200	96,8	*	0,9
CSA-1- <i>o</i> -tolbiquinido **	238	121	*	1
NEPES-Tris ***	234	90,5	*	1,8
CSA-Na-Creatinina ***	262	38,4	*	0,9
CSA-Na-ácido aminociclohexano carboxílico **	182	51,4	*	0,1
	225	69,2	*	3,7
Disulfonato de etano-diTris-2Na ***	219		>150	
CSA-piperazina **	212 ± 0	64,5	*	13,1
Sulfacetamida-Na **	214	113	*	1
Trimetrafosfato-3Na ***	213	121	*	6
CSA-Tris **	206	64,4	*	1,4
	197	50	*	1

(continuación)

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Creatinina (0.6 N) **	243	50.8	*	0.5
Creatinina (0.3 N) **	192	24.5	*	0.7
	232	72.7	*	0.8
Creatinina **	218	53.4	*	1.0
	194	36.1	*	0.2
Ácido Lactobárico-Tri **	239	109	*	5
CSA-4-amino paraxina **	229	66.4	*	1.1
Sacarosa **	239	147	*	4
Quaternium 15 **	232	172	*	4
Ácido glucurónico-Tri **	221	151	*	5.0
	189	45.1	*	0.9
Cetin-Na **	213	60.7	*	0.6
	188	40.6	*	0.9
HCl Procaina **	222	65.8	*	0.8
HCl Lidocaina **	237	97.3	*	1.8
HCl N-(4-picolil)piridina Cl **	221	65.5	*	1.1
HCl Creatinina tiamina **	238	59.6	*	0.5
piridoxina **	227	107	*	0
β-alanina-β-fosfato **	225	131	*	4
CSA Triethanolamina **	236	144	*	1
HCl Lidocaina **	218	147	*	15
	200	27.9	*	0.6
fosfato de cloruro (0.10 N) **	219	58.6	*	1.8
	228	71.8	*	0.9

(continuación)

5		230	35.3	*	1.1
10	Nor-ecopantamina ***	223	64.0	*	0.8
15		238	67.8	*	1.5
20		195	31.8	*	0.3
25	Levetiracetam **	192	37.1	*	1.3
30		218	65.5	*	3.7
35	HCl Cetetidina	233	53.8	*	2.4
40	HCl Metoclopramida **	230	64.4	*	1.6
45	Succinato de verapamilo (0.35 M) ***	232	93.2	*	2.7
50	HCl Fenilefrina **	231	109	*	3
	Citofor hidratado (0.02 M) **	230	121	*	3
	HCl mepivacaína **	223	129	*	3
	Fosfato de clindamicina **	230	184	*	17
	Sel sódico de piperacílina **	206	197	*	5
	Sel de sulfato de colágeno **	240	261	*	58
	Sel sódico de ceftiaxona **	198	301	*	5
	Cefazolin **	229	60.6	*	3
	HCl gramicidina **	168	27.9	*	0.6
		237	308	*	34

† Media de dos réplicas biológicas.

CSA = ácido canforsulfónico.

** Ejemplos de referencia

55 **Ejemplo de Referencia 19. La reducción de la viscosidad es un efecto dependiente de la concentración del agente**
Materiales y Métodos

60 Se prepararon soluciones acuosas de un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente como se describe en el Ejemplo de Referencia 4. Las tortas de proteína secas se reconstituyeron en tampón fosfato o agua hasta un volumen final de aproximadamente 0,10 mL y una concentración final de dihidrocloruro de 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (APMI*2HCl) de 0,10 o 0,25 M. La concentración final de mAb en solución se determinó mediante un ensayo de cuantificación de proteínas de Coomassie comparando las concentraciones desconocidas de las muestras con una curva estándar del biosimilar AVASTIN®. Las viscosidades indicadas se midieron en un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC.

Resultados

Como se muestra en la Figura 7, el efecto reductor de la viscosidad aumentó al aumentar la concentración de APMI*2HCl.

5 **Ejemplo de Referencia 20. Un único agente reductor de la viscosidad disminuye la viscosidad de muchos anticuerpos monoclonales terapéuticamente relevantes**

Materiales y Métodos

10 Se prepararon soluciones acuosas de un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente como se describe en el Ejemplo de Referencia 4. Las tortas de proteínas desecadas se reconstituyeron en tampón fosfato o agua hasta un volumen final de aproximadamente 0,10 mL y una concentración final de HCl de tiamina de 0,10 o 0,25 M. La concentración final de mAb en solución se determinó mediante un ensayo de cuantificación de proteínas de Coomassie comparando las concentraciones desconocidas de las muestras con una curva estándar del biosimilar AVASTIN®.

15 El TYSABRI® obtenido comercialmente que contenía excipientes farmacéuticos (tampón fosfato sódico, NaCl, Polisorbato 80) se purificó, se intercambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó de la misma manera. HERCEPTEN® obtenido comercialmente con excipientes farmacéuticos (tampón fosfato sódico, NaCl, Polisorbato 80) se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó de la misma manera. El biosimilar 20 ERBITUX® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (Polisorbato 80, tampón fosfato y NaCl) fue purificado, intercambiado con tampón, concentrado, secado, reconstituido y analizado de la misma manera. Se preparó REMICADE® obtenido comercialmente con excipientes farmacéuticos (sacarosa, polisorbato 80, tampón fosfato sódico) siguiendo las instrucciones de la hoja de información para la prescripción. Posteriormente, el producto farmacológico acuoso se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se ha descrito 25 de la misma manera. Las viscosidades indicadas se midieron en un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC.

Resultados

30 Los datos de la Tabla 33 demuestran que el HCl de tiamina puede reducir la viscosidad de las soluciones acuosas concentradas de muchos mAbs terapéuticamente relevantes. El HCl de tiamina puede producir una reducción de la viscosidad superior a 4 veces para cada mAb.

Tabla 33. Efecto del HCl de tiamina en la viscosidad de la solución.

	mAb	Agente	[Excipiente], M	[Proteína], mg/mL	Viscosidad, mPa.s (cP)
5	Biosimilar de AVASTIN®	PBS	0.25	220	213 ± 10
				195	96.8 ± 0.9
		HCl tiamina	0.25	225	53.3 ± 6.8
			0.1	190	31.5 ± 1.7
10	TYSABRI®	PBS	0.25	237	182 ± 6
				244	43.4 ± 0.7
		HCl tiamina	0.1	253	172 ± 4
			0.1	218	41.6 ± 0.5
15	HERCEPTIN®	PBS	0.25	235	1370 ± 3
				245	29.5 ± 0.9
		HCl tiamina	0.15	176	432 ± 30
			0.15	178	40.7 ± 0.3
20	Biosimilar de ERBITUX®	PBS	0.25	235	1370 ± 3
				245	29.5 ± 0.9
		HCl tiamina	0.15	176	432 ± 30
			0.15	178	40.7 ± 0.3
25	REMICADE®	PBS	0.25	235	1370 ± 3
				245	29.5 ± 0.9
		HCl tiamina	0.15	176	432 ± 30
			0.15	178	40.7 ± 0.3
30	Biosimilar de RITUXAN®	PBS	0.25	235	1370 ± 3
				245	29.5 ± 0.9
		HCl tiamina	0.15	176	432 ± 30
			0.15	178	40.7 ± 0.3
35	Biosimilar de TYSABRI®	PBS	0.25	235	1370 ± 3
				245	29.5 ± 0.9
		HCl tiamina	0.15	176	432 ± 30
			0.15	178	40.7 ± 0.3

Ejemplos 21-24. Los agentes reductores de la viscosidad disminuyen la viscosidad de las soluciones acuosas de muchos anticuerpos monoclonales de interés terapéutico. Materiales y métodos
 Se prepararon soluciones acuosas de RITUXAN®, TYSABRI®, HERCEPTIN®, ERBITUX® y REMICADE® biosimilares obtenidos comercialmente como se describe en los Ejemplos 18 y 19. Las tablas 34-38 demuestran que los agentes reductores de la viscosidad pueden emplearse ventajosamente para muchos anticuerpos monoclonales diferentes.

Resultados**Tabla 34. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilares RITUXAN® en presencia de agentes reductores de la viscosidad 0,15 M**

Agente	[RITUXAN® biosimilares], mg/ml	Viscosidad, mPa.s (cP)		
	240	1270	±	153
Regulador de fosfato 0,25M **	215	636	±	32
	199	251	±	1
CSA-1-o-tolibguanido ***	190	40.4	±	1.9
HEPES- Tris ***	191	50.0	±	3.8
CSA-Na-Creatinina (0,3 M) ***	190	33.3	±	1.1
Acido CSA-Na-aminociclohexano carboxílico **	191	61.3	±	2.5
Etano disulfonato- dTris-2Na ***	191	80.3	±	16.0
CSA-piperaxina ***	191	57.5	±	0.4
Sulfacetamida-Na ***	181	64.1	±	1.6
Trimetrafosfato-3Na ***	199	126	±	3.3
CSA-Tris ***	191	59.1	±	0.7
Creatinina (0,6 M) ***	197	28.4	±	0.2
Creatinina ***	203	71.8	±	0.8
Acido lactobiónico-Tris **	211	130	±	1
CSA-4-amino piridina ***	233	66.5	±	0.8
	195	47.0	±	1.4
Sucratose **	234	111	±	0
Quaternium 15 ***	221	135	±	5
Acido glucurónico-Tris **	207	140	±	13

(continuación)

5	CSA-Ho-Cnidangi **	242	63.0	*	3.5
		188	40.7	*	0.5
10	Biotin-Hg ²⁺ **	191 ± 3	96.8	*	12.2
		222	46.2	*	1.1
15	HCl Procaina **	195	33.4	*	1.2
	HCl metoclopramida **	194	39.3	*	0.4
20	HBr ecopalamina **	197	42.3	*	1.0
	HCl meperícaína **	185	46.8	*	0.6
25	HCl cimetidina **	215	49.5	*	1.2
	HCl granisetron **	204	51.2	*	0.8
30	HCl fentilefrina **	193	57.1	*	2.8
	Fosfato de cloruro (0.10 M) **	210	67.1	*	1.1
35	Sal sódica de penicilina G **	207	114	*	7
	Sal sódica de piperacilina **	194	127	*	2
40	Levetiracetam **	205	130	*	2
	HCl moxifloxacina **	193	152	*	8
45	Sal sódica de ceftriaxona **	222	198	*	17
	Fosfato de clindamicina **	203	199	*	8
50	Sal de sulfato de colistina **	230	228	*	19
	Cefazolina **	206	65.1	*	1.8

Media de dos réplicas biológicas

** Ejemplos de referencia

5 **Tabla 35. Viscosidades de soluciones acuosas de TYSABRI® en presencia de agentes reductores de la viscosidad 0,15 M (a menos que se indique lo contrario).**

10	Agente	(TYSABRI®), mg/ml.		Viscosidad, mPa.s (cP)		
		310	715	±	108	
15	PG **	278	235	±	5	
20		237	182	±	6	
25	Creatinina (0,30 M) **	219	40,8	±	1,8	
	HCl Procaina **	228	45,1	±	1,5	
	Siotin-Na **	233	75,8	±	0,4	
	HCl Tiamina (0,10 M) **	244	43,4	±	0,7	

**Ejemplos de referencia

30 **Tabla 36. Viscosidades de soluciones acuosas de HERCEPTIN® en presencia de agentes reductores de viscosidad 0,15 M (a menos que se indique lo contrario).**

35	Agente	(HERCEPTIN®), mg/ml.		Viscosidad, mPa.s (cP)		
		272	400	±	4	
40	PG ***	253	172	±	5	
		239	122	±	17	
		218	71,6	±	3,9	
45	Creatinina (0,3 M) **	222	45,7	±	0,3	
	HCl Procaina **	222	41,8	±	0,6	
	CSA piperazina **	236	50,3	±	0,6	
50	CSA-Na Ornidazol **	232	60,1	±	0,6	
	Siotin-Na **	230	69,9	±	2,3	
55	HCl Tiamina (0,10 M) ***	245	41,5	±	0,5	

***Ejemplos de referencia

5 **Tabla 37. Viscosidades de soluciones acuosas de ERBITUX® en presencia de agentes reductores de la viscosidad 0,15 M (a menos que se indique lo contrario).**

Agente	[ERBITUX®], mg/mL	Viscosidad, mPa.s (cP)
PB	235	1370 [*] 3
	228	1130 [*] 7
Creatinina (0.30 M) **	240	131 [*] 4
HCl Procaina **	230	35.9 [*] 0.3
HCl Lidocaína **	233	33.8 [*] 0.4
Nicotinamida **	232	292 [*] 10
Riboflavina-5-Fosfato (0.10 M) **	237	492 [*] 9
HCl Cimetidina **	183	19.7 [*] 0.2
HCl Metoclopramida **	172	23.0 [*] 0.2
HCl Granisetron **	180	23.0 [*] 0.2
HBr escopolamina **	173	23.4 [*] 0.6
HCl Mepericaina **	182	23.8 [*] 0.2
Fosfato de Clodronato **	209	36.5 [*] 0.6
Fosfato de Colocicina (0.10 M) **	179	37.4 [*] 0.9
	199	54.8 [*] 0.2
HCl Fenilefrina **	183	54.1 [*] 1.9
HCl Moxifloxacina **	196	66.7 [*] 1.0
Sal sódica de piperacilina **	182	75.3 [*] 1.6
Sal sódica de penicilina G **	178	82.1 [*] 3.6
Levetiracetam **	176	103 [*] 3
	199	178 [*] 2
Sal clásica de fosfentetina **	186	119 [*] 2
Sal sódica de ceftriaxona **	190	120 [*] 2

(continuación)

5	Aztreonam (0,02 M) **	179	256	*	*
10	Hidrato de Cidofovir (0,02 M) **	189	284	*	5

10 **Ejemplos de referencia

Tabla 38. Viscosidades de soluciones acuosas de REMICADE® en presencia de agentes reductores de la viscosidad 0,15 M (a menos que se indique lo contrario).

15	Agente	[REMICADE®],		Viscosidad,	
		mg/ml		mPa.s (cP)	
20	PS **	176	432	*	30
25	Creatinina **	144	37,1	*	0,5
30	HCl Procaina **	174	23,4	*	0,2
35	HCl Tiamina **	178	40,7	*	0,3

30 **Ejemplos de referencia

Ejemplo de Referencia 25. Efecto reductor de la viscosidad del TPP y el TPPAPMI, en función de la concentración del biosimilar AVASTIN®.

35 Se prepararon soluciones acuosas de un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior. La proteína se formuló para contener tampón fosfato 0,25 M, pirofosfato de tiamina (TPP) 0,10 M, o TPP- 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (TPPAPMI) 0,10 M.

40 La figura 8 representa la viscosidad de las soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® en función de la concentración de mAb con tampón fosfato, TPP o TPPAPMI. La viscosidad del biosimilar AVASTIN® en tampón fosfato aumenta exponencialmente dentro del intervalo de concentración de proteínas ensayado. En presencia de excipientes que contienen TPP, el aumento de la viscosidad se atenúa, es decir, se reduce el gradiente de viscosidad.

Ejemplo de Referencia 26. Efecto reductor de la viscosidad de un agente reductor de la viscosidad, tiamina HCl, en función de la concentración del biosimilar SIMPONI ARIA

Materiales y Métodos

50 SIMPONI ARIA® obtenido comercialmente y que contiene excipientes farmacéuticos (histidina, sorbitol, polisorbato 80) se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 anterior (utilizando el coeficiente de extinción de 1,4 L/g-cm a 280 nm). La proteína se formuló para contener tampón fosfato 015 M o HCl de tiamina 0,15 M.

Resultados

55 La figura 9 muestra la viscosidad de las soluciones acuosas SIMPONI ARIA® en función de la concentración de mAb con tampón fosfato o tiamina HCl. La viscosidad de SIMPONI ARIA® en tampón fosfato aumenta exponencialmente dentro del intervalo de concentración de proteína probado. En presencia de tiamina HCl, el aumento de la viscosidad se atenúa, es decir, se reduce el gradiente de viscosidad.

60 **Ejemplo de Referencia 27. Efecto reductor de la viscosidad de la Tiamina HCl, en función de la concentración de ENBREL®.**

Materiales y Métodos

65 ENBREL® obtenido comercialmente y conteniendo excipientes farmacéuticos (Manitol, Sacarosa, Trometamina) fue

purificado, intercambiado con tampón, concentrado, secado, reconstituido y analizado como se describe en el Ejemplo de Referencia 1 arriba (usando el coeficiente de extinción de 0.96 L/g-cm a 280 nm). La proteína se formuló para contener tampón fosfato 0,15 M o HCl de tiamina 0,15 M.

5 Resultados

La Tabla 39 muestra la viscosidad de las soluciones acuosas de ENBREL® con tampón fosfato o tiamina HCl. La adición de tiamina HCl reduce la viscosidad de ENBREL® hasta aproximadamente 2 veces.

10 **Tabla 39. Viscosidades de soluciones acuosas de ENBREL® en presencia de PB 0,15 M o HCl de tiamina**

	[ENBREL], mg/mL	PB 0,15 M	HCl Tiamina 0,15 M
		271 ± 0	1120 ± 26
15			626 ± 32
		250 ± 3	439 ± 11
20			305 ± 7
		212 ± 7	316 ± 11
25			141 ± 3

Ejemplo de Referencia 28. Las soluciones isotónicas de excipientes reductores de la viscosidad reducen la viscosidad de las soluciones concentradas de REMICADE®.

30 Materiales y Métodos

35 Se preparó REMICADE® obtenido comercialmente con excipientes farmacéuticos (sacarosa, polisorbato 80, tampón fosfato sódico) siguiendo las instrucciones de la hoja de información para la prescripción. Posteriormente, el producto farmacológico acuoso se purificó, se intercambió con tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó como se describe en el Ejemplo de Referencia 1, excepto que se añadieron cantidades isotónicas de compuestos hidrófobos cargados.

40 Resultados

45 Como se demuestra en la Tabla 40, las cantidades isotónicas tanto de CSAA como de CSAAPMI son capaces de reducir sustancialmente la viscosidad de las soluciones concentradas de REMICADE®, en algaproximadamente casos hasta aproximadamente 10 veces.

Tabla 40. Viscosidades de soluciones de REMICADE® en presencia de excipientes isotónicos (0,3 molal) que disminuyen la viscosidad

	CSA (REMICADE®) (mg/mL)	Viscosidad, (mPas (cP))
	188	432 ± 39
50	CSAAPMI	167
		41.4 ± 0.7
	188	131
55	CSAAPMI	124
		36.4 ± 1.2
	188	128
60	CSAA	35.8 ± 0.8

A menos que se definan expresamente de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que los entendidos comúnmente por un experto en la materia. Los expertos en la técnica reconocerán, o podrán determinar mediante experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención aquí descritas. Dichos equivalentes están comprendidos en las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica líquida inyectable que comprende:
 - 5 (i) un anticuerpo;
 - (ii) cimetidina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; y
 - (iii) un disolvente farmacéuticamente aceptable;

en la que la formulación farmacéutica líquida, cuando está en un volumen adecuado para inyección, tiene una viscosidad absoluta de aproximadamente 1 mPa.s (cP) a aproximadamente 100 mPa.s (cP) a 25°C, medida con un viscosímetro de cono y placa o un viscosímetro microfluídico; y la viscosidad absoluta de la formulación farmacéutica líquida es menor que la viscosidad absoluta de una formulación de control que comprende el anticuerpo y el disolvente farmacéuticamente aceptable, pero sin la cimetidina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma;

en la que la viscosidad absoluta es una viscosidad extrapolada de cizallamiento cero.
- 15 2. La formulación farmacéutica líquida de la reivindicación 1, en la que:
 - (i) el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal; y/o
 - (ii) el anticuerpo tiene un peso molecular de aproximadamente 120 kDa a aproximadamente 250 kDa.
- 20 3. La formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 500 mg/ml del anticuerpo.
- 25 4. La formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el disolvente farmacéuticamente aceptable es acuoso.
5. La formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la cimetidina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma está presente en una concentración de aproximadamente 0,01 M a aproximadamente 1,0 M, opcionalmente en una concentración de aproximadamente 0,15 M a aproximadamente 0,25 M.
- 30 6. La formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprende además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables que comprenden un azúcar, un alcohol de azúcar, un agente amortiguador, un conservante, un portador, un antioxidante, un agente quelante, un polímero natural, un polímero sintético, un crioprotector, un licoprotector, un tensioactivo, un agente de carga, un agente estabilizador, o cualquier combinación de los mismos, opcionalmente en la que:
 - (i) el alcohol de azúcar es sorbitol o manitol; o
 - (ii) el uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables comprenden un polisorbato, un poloxámero 188, un lauril sulfato sódico, un poliol, un poli(etilenglicol), un glicerol, un propilenglicol o un polí(alcohol vinílico).
- 40 7. La formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores en un vial unidosis, vial multidosis, cartucho o jeringa precargada.
8. La formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que:
 - 45 (i) la formulación farmacéutica líquida se reconstituye a partir de una composición liofilizada; y/o
 - (ii) la formulación farmacéutica líquida es isotónica para el suero sanguíneo humano.
- 50 9. La formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la viscosidad absoluta se mide a una velocidad de cizallamiento de al menos aproximadamente 0,5 s^{-1} cuando se mide utilizando un viscosímetro de cono y placa, o una velocidad de cizallamiento de al menos aproximadamente 1,0 s^{-1} cuando se mide utilizando un viscosímetro microfluídico.+
- 55 10. Una formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en un método de administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo, comprendiendo el método la inyección subcutánea o intramuscular de la formulación farmacéutica líquida al sujeto, opcionalmente en donde la inyección se realiza con una jeringa, opcionalmente, en donde la jeringa es una jeringa calentada, una jeringa automezcladora, un autoinyector, una jeringa precargada, o combinaciones de las mismas, y opcionalmente, en donde la jeringa es una jeringa calentada y la formulación farmacéutica líquida tiene una temperatura entre 25°C y 40°C.
- 60 11. La formulación farmacéutica líquida para uso de la reivindicación 10, en la que la formulación farmacéutica líquida produce un índice de irritación primaria inferior a 3 cuando se evalúa mediante un sistema de puntuación Draize.
- 65 12. La formulación farmacéutica líquida para uso de cualquiera de las reivindicaciones 10-11, en la que la inyección tiene una fuerza de inyección que es al menos un 10% menor que una fuerza de inyección para una composición de control que comprende el anticuerpo y el disolvente farmacéuticamente aceptable, pero sin la cimetidina o sal farmacéuticamente

aceptable de la misma, cuando se administra de la misma manera, opcionalmente en la que la inyección tiene una fuerza de inyección que es al menos un 20% menor que una fuerza de inyección para una composición de control que comprende el anticuerpo y el disolvente farmacéuticamente aceptable, pero sin la cimetidina o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, cuando se administra de la misma manera.

5 13. La formulación farmacéutica líquida para uso de cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en la que la inyección se realiza con una aguja de entre 27 y 31 de calibre de diámetro y la fuerza de inyección es inferior a 30 N con la aguja de calibre 27.

10 14. La formulación farmacéutica líquida para uso según cualquiera de las reivindicaciones 10-13, en la que el volumen de la formulación farmacéutica líquida es igual o inferior a 1,5 ml para inyección subcutánea, o igual o inferior a 3 ml para inyección intramuscular.

15 15. Un método de preparación de la formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende el paso de combinar el anticuerpo, el disolvente farmacéuticamente aceptable y la cimetidina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

16. Una composición liofilizada que comprende:

20 (i) un anticuerpo;
(ii) cimetidina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; y
(iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable

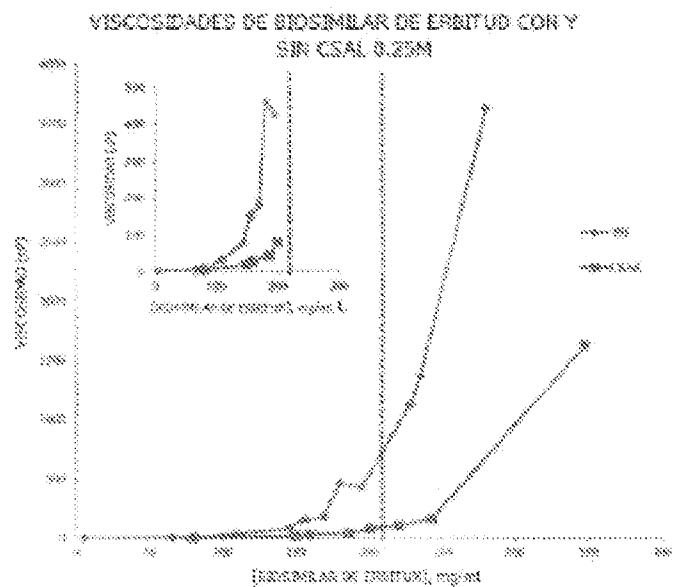


FIG. 1

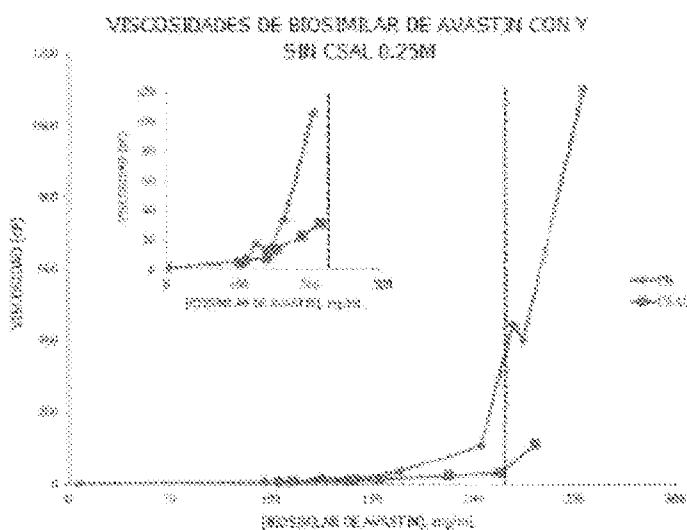


FIG. 2

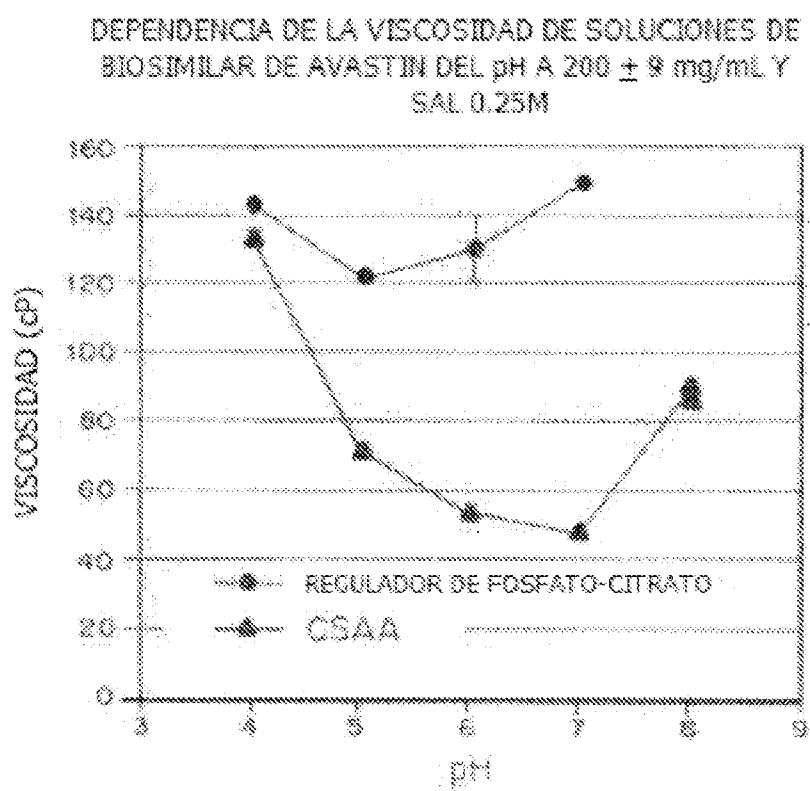


FIG. 3

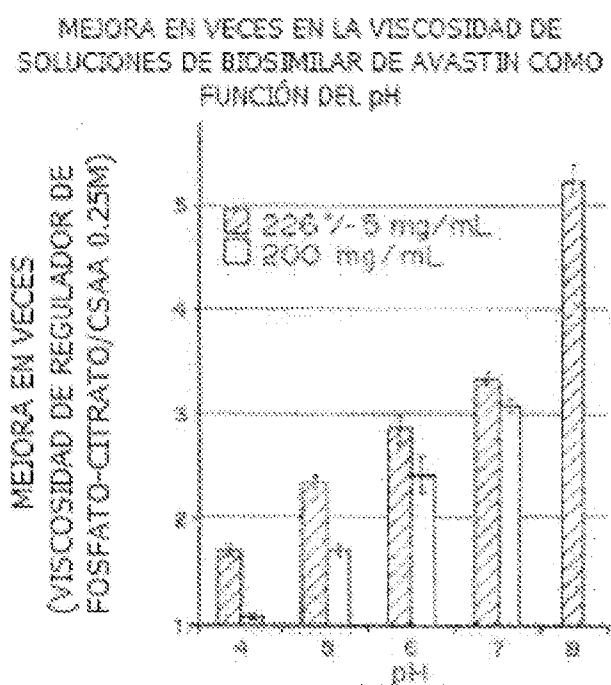


FIG. 4

VISCOSIDADES DE BIOSIMILAR DE ERBITUX COMO
FUNCIÓN DEL pH Y CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA CON
CSAA 0.25M

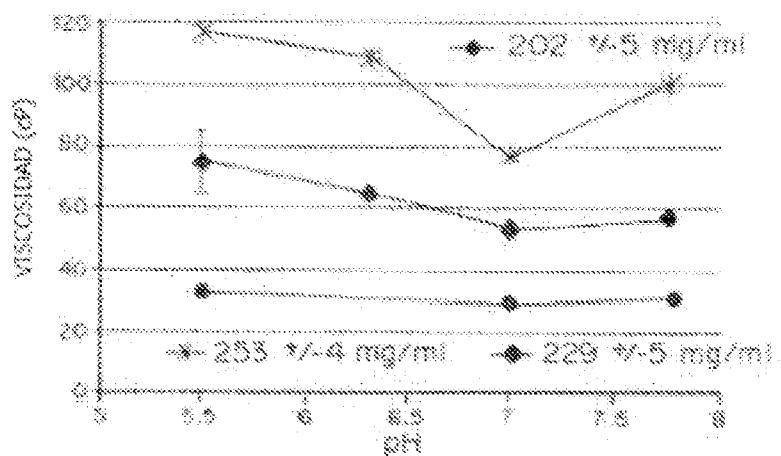


FIG. 5

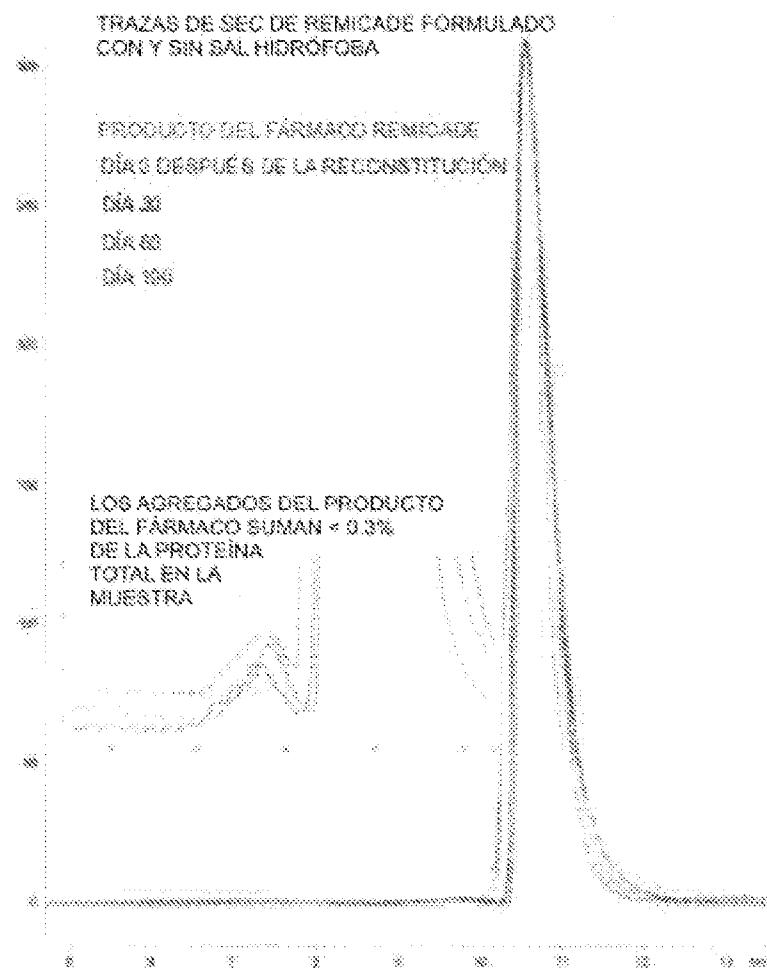


FIG. 6

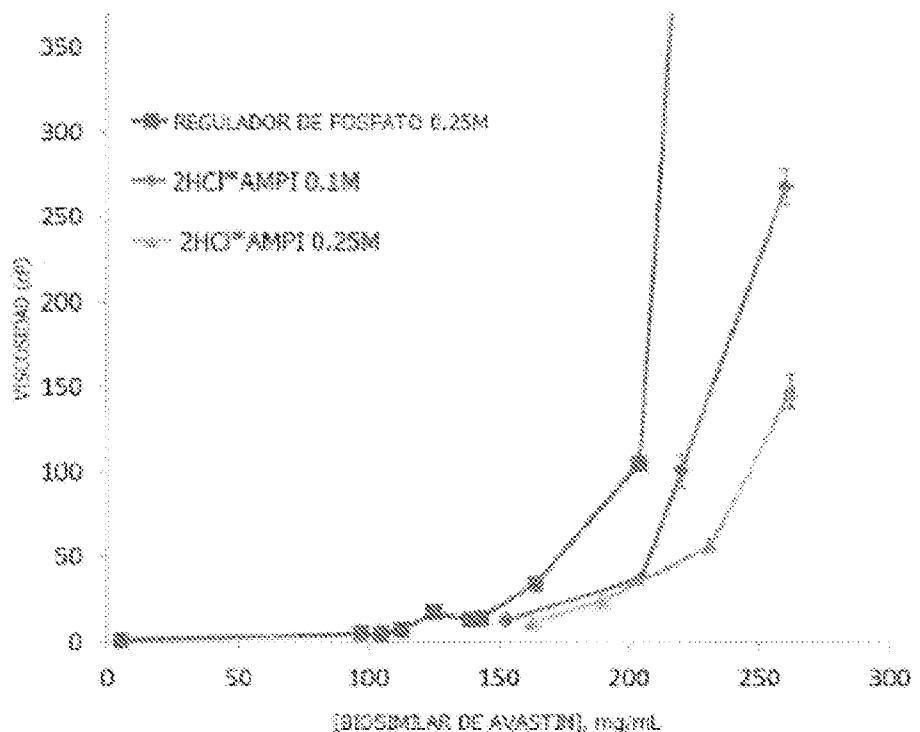


FIG. 7

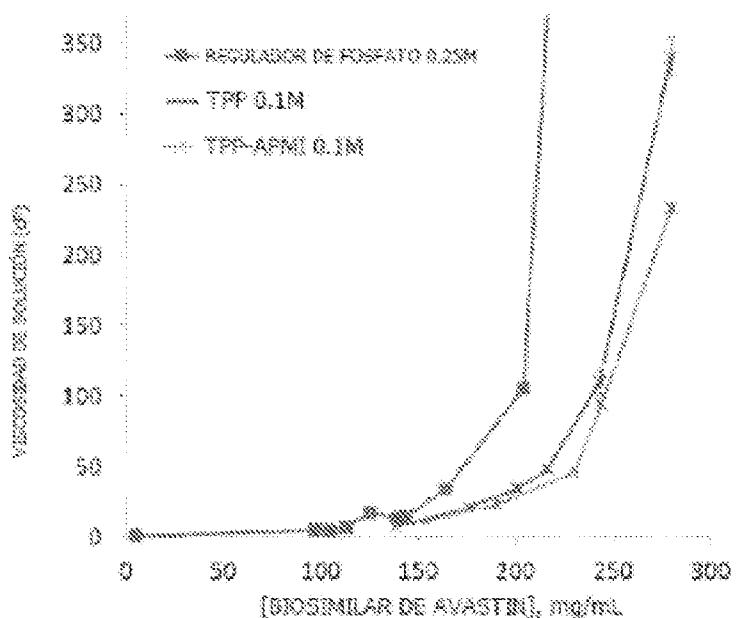


FIG. 8

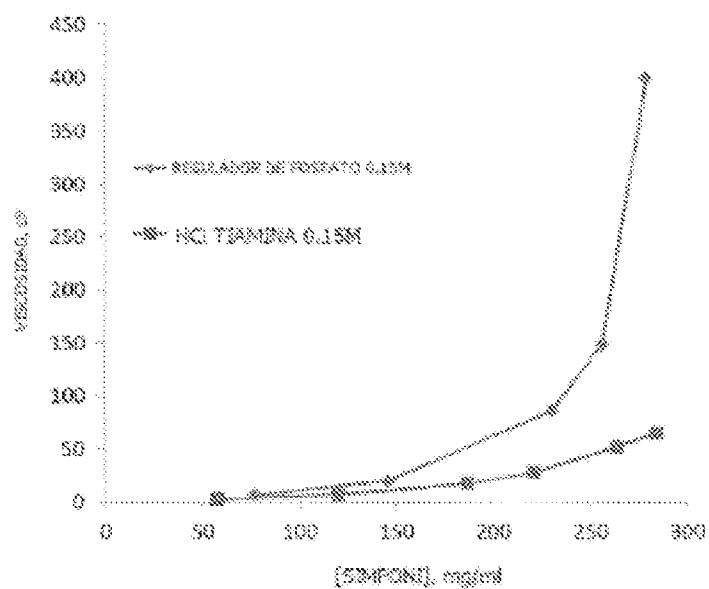


FIG. 9