

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 927 990**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.05.2015 PCT/IB2015/053602**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.11.2015 WO15173782**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2015 E 15724070 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2022 EP 3143047**

54 Título: **Formulación de belimumab**

30 Prioridad:

**16.05.2014 US 201461994427 P**

**18.12.2014 US 201462093734 P**

**22.12.2014 US 201462095181 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**14.11.2022**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY  
MANAGEMENT LIMITED (50.0%)**

**980 Great West Road**

**Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB y**

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY  
LIMITED (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BLAKE-HASKINS, ANGELA;**

**MARSHALL, TRISTAN;**

**O'BERRY, KRISTEN y**

**PERKINS, MELISSA D.**

74 Agente/Representante:

**ARIZTI ACHA, Monica**

ES 2 927 990 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**

Formulación de belimumab

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas de una proteína de unión a antígeno farmacéuticamente activa, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal. Tales formulaciones comprenden, además de la proteína de unión a antígeno, un agente amortiguador y un agente de tonicidad.

10

**Antecedentes de la invención**

El uso farmacéutico de anticuerpos ha aumentado en los últimos años. En muchos casos, dichos anticuerpos se inyectan por vía intravenosa (IV). Desafortunadamente, la cantidad de anticuerpo que se puede inyectar por vía intravenosa está limitada por las propiedades fisicoquímicas del anticuerpo, en particular por su solubilidad y estabilidad en una formulación líquida adecuada y por el volumen del líquido de infusión. Las vías de administración alternativas son la inyección subcutánea o intramuscular, que ofrecen posibles ventajas en términos de cumplimiento del paciente y facilidad de administración. Estas vías de inyección requieren una alta concentración de proteínas en la solución final que se va a inyectar.

20

En consecuencia, existe un deseo de proporcionar formulaciones farmacéuticas estables y altamente concentradas, de proteínas de unión a antígeno terapéuticamente activas tales como anticuerpos para inyección subcutánea. La ventaja de las inyecciones subcutáneas es que permiten al médico especialista realizarlas en una intervención bastante corta con el paciente. Además, el paciente puede capacitarse para realizar la inyección subcutánea por sí mismo. Dicha administración a sí mismo es particularmente útil durante la dosificación de mantenimiento porque no precisa de atención hospitalaria (utilización reducida de recursos médicos). Por lo general, las inyecciones por vía subcutánea se limitan a aproximadamente 2 ml. Para pacientes que requieren múltiples dosis, se pueden inyectar varias formulaciones de dosis unitarias en múltiples sitios de la superficie corporal.

25

30 El documento D2 (April ET AL: "product monograph BENLYSTA TM", 16 de abril de 2014 (2014-04-16), XPO55203701) divulga la monografía del producto para Benlysta en polvo liofilizado para suministro intravenoso.

**Sumario de la invención**

35 En un aspecto, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica para una proteína de unión a antígeno que comprende un agente amortiguador y un agente de tonicidad. Más particularmente, la presente divulgación proporciona de aproximadamente 150 a 250 mg/ml de proteína de unión a antígeno; de aproximadamente 1 a 100 mM de un agente amortiguador que proporciona un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 7,0; y de aproximadamente 70 a 170 mM de un agente de tonicidad. En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo anti-BLyS.

40

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica para un anticuerpo monoclonal que comprende 200 mg/ml de anticuerpo monoclonal; 10 mM de un agente amortiguador de histidina; 115 mM de NaCl; 25 mM de arginina; y 0,01 % (p/v) de polisorbato 80; a un pH de 6,0; y en donde el anticuerpo monoclonal comprende cadenas pesadas y ligeras que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6 y 7.

45

La divulgación proporciona una formulación farmacéutica para una proteína de unión a antígeno que comprende un agente amortiguador, un estabilizante, un agente de tonicidad y un tensioactivo no iónico. Más particularmente, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica que comprende la proteína de unión a antígeno, histidina, arginina, NaCl y polisorbato 80. En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo anti-BLyS.

50

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad o afección que es susceptible de tratamiento con un anticuerpo anti-BLyS en un sujeto que comprende administrar una formulación según la presente invención en un sujeto en una cantidad eficaz para tratar la enfermedad o afección. En un aspecto, la enfermedad o afección es una enfermedad o trastorno autoinmunitarios.

55

En otro aspecto, la presente invención proporciona un kit que comprende uno o más viales que contienen la formulación según la presente invención e instrucciones para la administración subcutánea de la formulación a un paciente.

60

En otro aspecto, la presente invención proporciona un dispositivo de inyección que comprende una formulación de anticuerpo anti-BLyS estable descrita en el presente documento.

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

- 5 En otro aspecto, la presente invención proporciona una formulación según la presente invención para su uso en el tratamiento de enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, vasculitis por anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA), nefritis lúpica, síndrome de Sjögren primario, trombocitopenia inmunitaria crónica, miastenia grave, macroglobulinemia de Waldenström sintomática, desensibilización inmunitaria de pacientes que esperan un trasplante de riñón, nefropatía membranosa, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, mieloma múltiple, esclerosis múltiple e insuficiencia renal.

### Breve descripción de los dibujos

- 15 La figura 1 muestra el efecto de la concentración de proteína en la tasa de agregación para la formulación 1.  
La figura 2 muestra la turbidez de las formulaciones 1 y 5 después de 5¼ meses a 2-8 °C.  
La figura 3 muestra la relación entre la viscosidad de belimumab y la concentración.  
La figura 4 muestra el cambio en el % de agregado después de 3 meses de almacenamiento a 2-8 °C para varias formulaciones.  
20 La figura 5 muestra el cambio en el % de agregado después de 3 meses de almacenamiento a varias temperaturas y formulaciones.  
La figura 6 muestra el efecto de la temperatura en las tasas de agregación después de 5¼ meses a una temperatura de hasta 25 °C, y muestra que la formulación de arginina (recuadros blancos en el gráfico) amortigua significativamente la agregación en comparación con la formulación 1 (recuadros rellenos).  
25 La figura 7 muestra las tasas de agregación de la formulación 1 (recuadros completos; 06-C) y la formulación 5 (recuadros huecos; 06-D) entre 125 y 200 mg/ml y -80 °C a 40 °C después de 5¼ meses de almacenamiento y con qué consistencia la formulación 5 (líneas discontinuas) muestra una tasa de agregación inferior que la formulación 1 (líneas continuas).  
La figura 8 muestra la reducción de las tasas de degradación de CGE de las formulaciones 1 (06-C) y 5 (06-D) entre 125 y 200 mg/ml y -80 °C a 40 °C después de 5¼ meses de almacenamiento.  
30 La figura 9 muestra las tasas de acidez de las formulaciones 1 (recuadros completos; 06-C) y 5 (recuadros huecos; 06-D) entre 125 y 200 mg/ml y -80 °C a 40 °C después de 5¼ meses de almacenamiento.  
La figura 10 muestra los niveles de oxidación de la cadena pesada de belimumab en las formulaciones 1 y 5 entre 125 y 200 mg/ml y -80 °C a 40 °C después de 5¼ meses de almacenamiento.  
35 La figura 11 muestra el mapa de péptidos de belimumab en la formulación 1 a 200 mg/ml después de 5¼ meses de almacenamiento.  
La figura 12 muestra el mapa de péptidos de belimumab en la formulación 5 a 200 mg/ml después de 5¼ meses de almacenamiento.  
La figura 13 muestra el mapa de péptidos de muestras de belimumab con diferentes niveles de arginina.  
La figura 14 muestra la selección de pH-amortiguador para HTF.  
40 La figura 15 muestra la interacción de dos factores - pH x amortiguador - monómero por SEC.  
La figura 16 muestra la interacción de dos factores - pH x amortiguador - cIEF principal.  
La figura 17 muestra la viscosidad del anticuerpo anti-IL13 a varias concentraciones.  
La figura 18 muestra los resultados de viscosidad (mPa s (cP)) frente a concentración (mg/ml) para muestras anti-IL13 T=0 del estudio de agitación.  
45 La figura 19 muestra que se gelificaron muestras de acetato de 7 días (izquierda). No se observó gel en las muestras de succinato o histidina (centro y derecha). Se observó que el vial de succinato de 10 días estaba en un estado de semigel.  
La figura 20 muestra una comparación de espectros de dicroísmo circular de UV cercano para muestras de estabilidad química de 3 meses.

### Descripción detallada de la invención

- 50 Debe entenderse que la presente divulgación no se limita a métodos, reactivos, compuestos, composiciones, o sistemas biológicos particulares, que pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento es únicamente con el fin de describir realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante. Como se usan en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una/o", "el" y "la" incluyen las referencias en plural a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un polipéptido" incluye una combinación de dos o más células, y similares.

- 60 "Aproximadamente", como se usa en el presente documento, cuando se refiere a un valor medible tal como una cantidad, una duración temporal y similares, pretende abarcar variaciones del  $\pm 20\%$  o  $\pm 10\%$ , incluyendo  $\pm 5\%$ ,  $\pm 1\%$  y  $\pm 0,1\%$  del valor especificado, ya que dichas variaciones son apropiadas para realizar los métodos divulgados.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece la invención. Aunque pueden utilizarse en la práctica para las pruebas de la presente invención cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento, los materiales y métodos preferidos se describen en el presente documento. En la descripción y la reivindicación de la presente invención, se utilizará la siguiente abreviatura.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona una formulación farmacéutica para una proteína de unión a antígeno que comprende un agente amortiguador y un agente de tonicidad. También se divulga una formulación farmacéutica para una proteína de unión a antígeno que comprende un agente amortiguador, un estabilizante, un agente de tonicidad y un tensioactivo no iónico. En una realización, la formulación se liofiliza o se seca por pulverización. En determinadas realizaciones, la formulación se liofiliza o se seca por pulverización y luego se reconstituye posteriormente con un agente de dispersión. En una realización, el agente de dispersión es agua estéril o "agua para inyección" (WFI, por sus siglas en inglés). La proteína de unión al antígeno se puede diluir adicionalmente con solución salina isotónica u otros excipientes para producir una concentración deseable antes de la administración. En una realización, la formulación es una formulación reconstituida. En otra realización, la formulación es una formulación farmacéutica líquida.

La expresión "formulación farmacéutica" o "formulación" se refiere a una preparación que se encuentra en una forma que permite que sea eficaz la actividad biológica del principio activo y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se administraría la formulación. Dichas formulaciones son estériles.

Una formulación "estéril" es aséptica o está exenta de todos los microorganismos vivos y sus esporas.

En realizaciones ilustrativas de la presente invención, las formulaciones líquidas presentan características deseables, tales como características deseables de viscosidad y tensión superficial.

La expresión "tensión superficial" se refiere a la fuerza de atracción ejercida por las moléculas debajo de la superficie sobre las que se encuentran en la interfaz superficie/aire, resultante de la alta concentración molecular de un líquido en comparación con la baja concentración molecular del gas. Líquidos con bajos valores de tensión superficial, tal como líquidos no polares, fluye más fácilmente que el agua. Normalmente, los valores de las tensiones superficiales se expresan en newtons/metros o dinas/centímetros.

"Tensión superficial dinámica", tal como se hace referencia en el presente documento, es la interfaz superficie/aire y la tensión interfacial dinámica a la interfaz superficie/superficie. Hay una serie de métodos alternativos para medir la tensión superficial dinámica, por ejemplo, tensometría de superficie de burbuja cautiva o tensometría de superficie de burbuja pulsante.

El término "viscosidad" se refiere a la resistencia interna al flujo presentada por un fluido a una temperatura específica; la relación entre la tensión de cizalla y la tasa de cizalla. Un líquido tiene una viscosidad de un poise si una fuerza de 1 dina/centímetro cuadrado hace que dos superficies líquidas paralelas de un centímetro cuadrado de área y separadas por un centímetro cuadrado se muevan una al lado de la otra a una velocidad de 1 cm/segundo. Un poise equivale a cien centipoises.

En el presente documento se divulga, la viscosidad de la formulación que comprende el agente amortiguador y el estabilizante se reduce en al menos aproximadamente un 5 %, al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, o al menos aproximadamente un 30 % en comparación con la viscosidad de la formulación en ausencia de agente amortiguador y estabilizante. En el presente documento se divulga, la viscosidad de la formulación que comprende el agente amortiguador y el estabilizante es inferior a aproximadamente 50 mPa s (cP), inferior a aproximadamente 45 mPa s (cP), inferior a aproximadamente 40 mPa s (cP), inferior a aproximadamente 35 mPa s (cP), inferior a aproximadamente 30 mPa s (cP), inferior a aproximadamente 25 mPa s (cP), inferior a aproximadamente 20 mPa s (cP), inferior a aproximadamente 15 mPa s (cP) o inferior a aproximadamente 10 mPa s (cP).

Al referirse a la viscosidad aparente, se entiende que el valor de la viscosidad depende de las condiciones en las que se realizó la medición, tales como temperatura, tasa de cizalla y tensión de cizalla empleados. La viscosidad aparente se define como la relación entre la tensión de cizalla y la tasa de cizalla aplicadas. Hay varios métodos alternativos para medir la viscosidad aparente. Por ejemplo, la viscosidad se puede someter a prueba con un cono y una placa adecuados, placa paralela u otro tipo de viscosímetro o reómetro.

"La gelificación se define como el proceso de formación de una red rígida presumiblemente causada por el inicio de superposiciones topológicas entre mAb o filamentos polimerizados, así como por la reticulación y agrupación de estos filamentos. Esta red rígida se manifiesta como un módulo elástico ( $G'$ ) de solución así como un aumento en su módulo viscoso inherente ( $G''$ )".

Se divulga un método para reducir o inhibir la gelificación de una solución que comprende utilizar una formulación de la presente invención. Se divulga un método para reducir o inhibir la gelificación de una solución que comprende una proteína terapéutica, comprendiendo el método administrar histidina y cloruro de sodio a la solución.

5 "Polipéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan indistintamente en el presente documento para referirse a un polímero de restos de aminoácidos. Un polipéptido puede ser de origen natural (derivado de tejido), de expresión recombinante o natural a partir de preparaciones celulares procariotas o eucariotas, o producirse químicamente a través de métodos  
10 un mimético químico artificial de un aminoácido correspondiente de origen natural, así como a polímeros de aminoácidos de origen natural y polímeros de aminoácidos de origen no natural. Miméticos de aminoácidos se refiere a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funcionan de manera similar a un aminoácido de origen natural. Los restos no naturales están bien descritos en la bibliografía científica y de patentes; a continuación se describen algunas composiciones no naturales ilustrativas  
15 útiles como miméticos de restos de aminoácidos naturales y pautas. Los miméticos de aminoácidos aromáticos se pueden generar reemplazando por, p. ej., D- o L-nafilalanina; D- o L-fenilglicina; D- o L-2 tieneilalanina; D- o L-1, -2,3 o 4-pirenilalanina; D- o L-3 tieneilalanina; D- o L-(2-piridinil)-alanina; D- o L-(3-piridinil)-alanina; D- o L-(2-pirazinil)-alanina; D- o L-(4-isopropil)-fenilglicina; D-(trifluorometil)-fenilalanina; D-(trifluorometil)-fenilalanina; D-p-fluoro-fenilalanina; D- o L-p-bifenilfenilalanina; K- o L-p-metoxi-bifenilfenilalanina; D- o L-2-indol(alquil)alaninas; y, D- o L-alquilaininas, donde alquilo puede ser metilo, etilo, propilo, hexilo, butilo, pentilo, isopropilo, iso-butilo, sec-isotilo, iso-pentilo sustituido o no sustituido, o aminoácidos no ácidos. Los anillos aromáticos de un aminoácido no natural incluyen, p. ej., tiazolilo, tiofenilo, pirazolilo, bencimidazolilo, naftilo, furanilo, anillos aromáticos de pirrolilo y piridilo.

"Péptido", como se usa en el presente documento, incluye péptidos que son variaciones conservativas de los péptidos ejemplificados específicamente en el presente documento. "Variación conservativa", como se usa en el presente documento, indica la sustitución de un resto de aminoácido por otro resto biológicamente similar. Los ejemplos de variaciones conservativas incluyen, pero sin limitación, la sustitución de un resto hidrófobo tal como isoleucina, valina, leucina, alanina, cisteína, glicina, fenilalanina, prolina, triptófano, tirosina, norleucina o metionina por otro, o la sustitución de un resto polar por otro, como la sustitución de arginina por lisina, ácido glutámico por ácido aspártico, o glutamina por asparagina, y similares. Los aminoácidos hidrófilos neutros que pueden sustituirse entre sí incluyen asparagina, glutamina, serina y treonina. "Variación conservativa" también incluye el uso de un aminoácido sustituido en lugar de un aminoácido original no sustituido siempre que los anticuerpos producidos contra el polipéptido sustituido también inmunorreacten con el polipéptido no sustituido. Dichas sustituciones conservativas están dentro de la definición de las clases de péptidos divulgadas. La actividad biológica de los péptidos puede determinarse mediante  
35 métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia y descritos en el presente documento.

"Recombinante", cuando se usa con referencia a una proteína, indica que la proteína se ha modificado mediante la introducción de un ácido nucleico o una proteína heterólogos o la alteración de un ácido nucleico o una proteína naturales.

40 Como se usa en el presente documento, una "proteína terapéutica" se refiere a cualquier proteína y/o polipéptido que se puede administrar a un mamífero para provocar una respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que se busca, por ejemplo, por un investigador o médico. Una proteína terapéutica puede provocar más de una respuesta biológica o médica. Asimismo, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa cualquier  
45 cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, da como resultado, pero sin limitación, curación, prevención o mejora de una enfermedad, trastorno o efecto secundario o una disminución en la velocidad de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal así como cantidades eficaces para provocar una función fisiológica en un paciente que potencia o ayuda al efecto terapéutico de un segundo agente farmacéutico.

50 Todos los restos de "aminoácidos" identificados en el presente documento están en la configuración L natural. Según la nomenclatura de polipéptidos convencional, las abreviaturas para los restos de aminoácidos se muestran en la siguiente tabla.

55 Tabla 1. Abreviaturas de aminoácidos.

1 letras	3 letras	Aminoácido
Y	Tyr	L-tirosina
G	Gly	L-glicina
F	Phe	L-fenilalanina
M	Met	L-metionina
A	Ala	L-alanina
S	Ser	L-serina
I	Ile	L-isoleucina
L	Leu	leucina

T	Thr	L-treonina
V	Val	L-valina
P	Pro	L-prolina
K	Lys	L-lisina
H	His	L-histidina
Q	Gln	L-glutamina
E	Glu	L-acido glutámico
W	Trp	L-triptófano
R	Arg	L-arginina
D	Asp	L-acido aspártico
N	Asn	L-asparagina
C	Cys	L-cisteína.

Cabe señalar que todas las secuencias de restos de aminoácidos están representadas en el presente documento por fórmulas cuya orientación de izquierda a derecha está en la dirección convencional del extremo amino al extremo carboxilo.

5

El polipéptido divulgado en el presente documento es una proteína de unión a antígeno. La proteína de unión a antígeno divulgada en el presente documento se selecciona del grupo que consiste en un receptor soluble, anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio variable de inmunoglobulina único, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv, Fv unido a disulfuro, scFv, anticuerpo multiespecífico de conformación cerrada, scFv unido a disulfuro o diacuerpo.

10

La expresión "proteína de unión a antígeno" como se usa en el presente documento se refiere a anticuerpos, fragmentos de anticuerpo y otras construcciones de proteínas que son capaces de unirse a un antígeno.

Los términos Fv, Fc, Fd, Fab, o F(ab)<sub>2</sub> se usan con sus significados convencionales (véase, p. ej., Harlow *et al.*, Antibodies A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, (1988)).

15

Un "anticuerpo quimérico" se refiere a un tipo de anticuerpo modificado por ingeniería que contiene una región variable natural (cadena ligera y cadenas pesadas) procedente de un anticuerpo donante en asociación con regiones constantes de cadena ligera y pesada procedente de un anticuerpo aceptor.

20

Un "anticuerpo humanizado" se refiere a un tipo de anticuerpo modificado por ingeniería que tiene sus CDR procedentes de una inmunoglobulina no humana donante, siendo las restantes partes procedentes de la inmunoglobulina de la molécula procedentes de una o más inmunoglobulinas humanas. Además, los restos de soporte del marco pueden alterarse para conservar la afinidad de unión (véanse, p. ej., Queen *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA, 86:10029-10032 (1989), Hodgson *et al.*, Bio/Technology, 9:421 (1991)). Un anticuerpo aceptor humano adecuado puede ser uno seleccionado de una base de datos convencional, p. ej., la base de datos KABAT™, base de datos Los Alamos y base de datos Swiss Protein, por homología con las secuencias de nucleótidos y aminoácidos del anticuerpo donante. Un anticuerpo humano caracterizado por una homología con las regiones marco del anticuerpo donante (basándose en los aminoácidos) puede ser adecuado para proporcionar una región constante de cadena pesada y/o una región marco variable de cadena pesada para la inserción de las CDR donantes. Un anticuerpo aceptor adecuado capaz de donar regiones marco variables o constantes de cadena ligera puede seleccionarse de manera similar. Cabe señalar que no es necesario que las cadenas pesada y ligera del anticuerpo aceptor se originen a partir del mismo anticuerpo aceptor. El estado de la técnica describe varias formas de producir dichos anticuerpos humanizados; véanse, por ejemplo, los documentos EP-A-0239400 y EP-A-054951.

25

La expresión "anticuerpo donante" se refiere a un anticuerpo (monoclonal y/o recombinante) que aporta las secuencias de aminoácidos de sus regiones variables, CDR u otros fragmentos funcionales o análogos de los mismos a un primer compañero de inmunoglobulina, para proporcionar a la región codificante de inmunoglobulina alterada y al anticuerpo alterado expresado resultante la especificidad antigénica y la actividad neutralizante características del anticuerpo donante.

30

La expresión "anticuerpo aceptor" se refiere a un anticuerpo (monoclonal y/o recombinante) heterólogo al anticuerpo donante, que aporta todas (o cualquier porción, pero en algunas realizaciones la totalidad) las secuencias de aminoácidos que codifican sus regiones marco de cadena pesada y/o ligera y/o sus regiones constantes de cadena pesada y/o ligera al primer compañero de inmunoglobulina asociado. En determinadas realizaciones, un anticuerpo humano es el anticuerpo aceptor.

35

Las "CDR" se definen como secuencias de aminoácidos de las regiones determinantes de la complementariedad de un anticuerpo que son las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina. Véase, p. ej., Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4<sup>a</sup> Ed., U.S. Department of Health and Human Services,

40

National Institutes of Health (1987). Hay tres CDR (o regiones CDR) de cadena pesada y tres de cadena ligera en la porción variable de una inmunoglobulina. Por lo tanto, "CDR", como se usa en el presente documento, se refiere a las tres CDR de cadena pesada, o las tres CDR de cadena ligera (o todas las CDR de cadena pesada y todas las de cadena ligera, si corresponde). La estructura y el plegamiento de la proteína del anticuerpo puede hacer que otros  
 5 restos se consideren parte de la región de unión al antígeno y así lo debe entender un experto en la materia. Véase, por ejemplo, Chothia *et al.*, (1989) Conformations of immunoglobulin hypervariable regions; Nature 342, págs. 877-883.

Como se usa en el presente documento, el término "dominio" se refiere a una estructura de proteína plegada que tiene  
 10 una estructura terciaria independiente del resto de la proteína. En general, los dominios son responsables de las propiedades funcionales individuales de las proteínas y, en muchos casos, pueden añadirse, retirarse o transferirse a otras proteínas sin pérdida de función del resto de la proteína y/o del dominio. Un "dominio variable único de anticuerpo" es un dominio de polipéptido plegado que comprende secuencias características de dominios variables de anticuerpo. Por tanto, incluye dominios variables de anticuerpo completos y dominios variables modificados, por  
 15 ejemplo, en los que uno o más bucles se han reemplazado por secuencias que no son características de los dominios variables de anticuerpo, o dominios variables de anticuerpo que se han truncado o comprenden extensiones amino o carboxiterminales, así como fragmentos plegados de dominios variables que conservan al menos la actividad de unión y la especificidad del dominio de longitud completa.

La expresión "dominio variable de inmunoglobulina único" se refiere a un dominio variable de anticuerpo ( $V_H$ ,  $V_{HH}$ ,  $V_L$ ) que se une específicamente a un antígeno o epítipo independientemente de una región o dominio V diferente. Un dominio variable de inmunoglobulina único puede estar presente en un formato (p. ej., homo o heteromultímero) con otras regiones variables o dominios variables diferentes donde las otras regiones o dominios no son necesarios para la unión al antígeno por el dominio variable de inmunoglobulina único (es decir, donde el dominio variable de  
 20 inmunoglobulina único se une al antígeno independientemente de los dominios variables adicionales). Un "anticuerpo de dominio" o "dAb" es lo mismo que un "dominio variable de inmunoglobulina único" que es capaz de unirse a un antígeno como se usa el término en el presente documento. Un dominio variable de inmunoglobulina único puede ser un dominio variable de anticuerpo humano, pero también incluye dominios variables de anticuerpo únicos de otras especies tales como roedores (por ejemplo, como se divulga en el documento WO 00/29004), dAb  $V_{HH}$  de tiburón  
 25 nodriza y camélidos. Los  $V_{HH}$  de camélidos son polipéptidos de dominio variable de inmunoglobulina único que proceden de especies que incluyen camello, llama, alpaca, dromedario y guanaco, que producen anticuerpos de cadena pesada desprovistos de forma natural de cadenas ligeras. Dichos dominios  $V_{HH}$  pueden humanizarse según técnicas convencionales disponibles en la técnica y dichos dominios se consideran "anticuerpos de dominio" según la divulgación. Como se usa en el presente documento, " $V_H$ " incluye dominios  $V_{HH}$  de camélidos. Los NARV son otro tipo  
 30 de dominio variable de inmunoglobulina único que se identificaron en peces cartilaginosos, incluido el tiburón nodriza. Estos dominios también se conocen como región variable de receptor de antígeno nuevo (comúnmente abreviada como V(NAR) o NARV). Para detalles adicionales, véase Mol. Immunol. 44, 656-665 (2006) y el documento US20050043519A.

La expresión "dominio de unión a epítipo" se refiere a un dominio que se une específicamente a un antígeno o epítipo independientemente de una región o dominio V diferente, esto puede ser un anticuerpo de dominio (dAb), por ejemplo,  
 40 un dominio variable de inmunoglobulina único humano, de camélido o tiburón.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "sitio de unión a antígeno" se refiere a un sitio en una proteína que es capaz de unirse específicamente al antígeno, este puede ser un dominio único, por ejemplo, un dominio de unión a epítipo, o puede ser dominios  $V_H/V_L$  emparejados que se pueden encontrar en un anticuerpo convencional. Los dominios Fv de cadena sencilla (ScFv) divulgados en el presente documento, pueden proporcionar sitios de unión  
 45 a antígeno.

Los términos "mAbdAb" y dAbmAb" se utilizan en el presente documento para referirse a las proteínas de unión a antígeno divulgadas en el presente documento. Los dos términos se pueden usar indistintamente y se pretende que  
 50 tengan el mismo significado que se usa en el presente documento.

La formulación farmacéutica divulgada proporciona aproximadamente de 150 a 250 mg/ml de proteína de unión a antígeno; de aproximadamente 1 a 100 mM de un agente amortiguador que proporciona un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 7,0; y de aproximadamente 70 a 170 mM de un agente de tonicidad. Como alternativa, la formulación farmacéutica divulgada proporciona aproximadamente de 150 a 250 mg/ml de proteína de unión a antígeno; aproximadamente de 1 a 100 mM de un agente amortiguador que proporciona un pH de  $6,0 \pm 0,5$ ;  
 55 aproximadamente de 1 a 100 mM de un estabilizante; aproximadamente de 90 a 150 mM de un agente de tonicidad; y aproximadamente del 0,005 al 0,015 % (p/v) de un tensioactivo no iónico. En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo anti-proteína estimuladora de linfocitos B (anti-BLyS).  
 60

También se describe una formulación farmacéutica que comprende aproximadamente de 150 a 250 mg/ml de proteína de unión a antígeno; aproximadamente de 1 a 100 mM de histidina a un pH de  $6,0 \pm 0,5$ ; NaCl de aproximadamente

70 a 170 mM. La formulación divulgada en el presente documento comprende además aproximadamente de 0,005 a 0,03 % (p/v) de un tensioactivo no iónico. La formulación divulgada en el presente documento comprende además de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 mM de un quelante de metales.

- 5 En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica para un anticuerpo monoclonal que comprende aproximadamente 200 mg/ml de anticuerpo monoclonal; aproximadamente 10 mM de un agente amortiguador de histidina; aproximadamente 115 mM de NaCl; aproximadamente 25 mM de arginina; y aproximadamente 0,01 % (p/v) de polisorbato 80, a aproximadamente un pH de 6,0; y en donde el anticuerpo monoclonal comprende cadenas pesadas y ligeras que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID  
10 NO: 6 y 7.

La formulación farmacéutica de la presente invención se puede proporcionar en forma líquida o se puede proporcionar en forma liofilizada.

- 15 La formulación farmacéutica según la presente invención comprende un agente amortiguador. Los agentes amortiguadores incluyen, pero sin limitación, ácido cítrico, HEPES, histidina, acetato de potasio, citrato de potasio, fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), acetato sódico, bicarbonato de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), base Tris y Tris-HCl. En una realización, el agente amortiguador es histidina. La concentración de histidina divulgada es de aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 mM. La concentración  
20 de histidina divulgada en el presente documento es de aproximadamente  $10 \pm 5$  mM. La concentración de histidina divulgada en el presente documento es de aproximadamente  $10 \pm 2$  mM. En una realización, la concentración de histidina es de aproximadamente 10 mM. La concentración de histidina divulgada en el presente documento es de aproximadamente 15 mM

- 25 Como se usa en el presente documento, la expresión "agente amortiguador que proporciona un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 7,0" se refiere a un agente que proporciona que la solución que lo comprende resista los cambios de pH por la acción de sus componentes conjugados ácido/base. El amortiguador utilizado en las formulaciones según la divulgación puede tener un pH en el intervalo de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5, o de aproximadamente 5,8 a aproximadamente 6,2. En una realización el pH es de aproximadamente 6,0. El pH divulgado en el presente documento es de aproximadamente 6,250. Los ejemplos de  
30 agentes amortiguadores que controlarán el pH en este intervalo incluyen acetato, succinato, gluconato, histidina, citrato, glicilglicina y otros amortiguadores ácidos orgánicos. El amortiguador más adecuado según la presente invención es un amortiguador de histidina, como por ej. L-histidina.

- 35 Un "amortiguador de histidina" es un amortiguador que comprende el aminoácido histidina. Los ejemplos de amortiguadores de histidina incluyen cloruro de histidina, acetato de histidina, fosfato de histidina, sulfato de histidina. La formulación de histidina identificada en los ejemplos como la más adecuada es un amortiguador de histidina elaborado a partir de 0,65 mg/ml de L-histidina, 1,2 mg/ml de monoclóridrato de L-histidina.

- 40 La formulación farmacéutica según la presente invención comprende un agente de tonicidad. Los agentes de tonicidad incluyen, pero sin limitación, dextrosa, glicerina, manitol, cloruro de potasio y cloruro de sodio. En otra realización el agente de tonicidad es cloruro de sodio. En el presente documento se divulga, la concentración de cloruro de sodio es de aproximadamente 70 a 170 mM; de aproximadamente 90-150 mM; o de aproximadamente  $115 \pm 10$  mM. La concentración cloruro de sodio divulgada en el presente documento es de aproximadamente 70, 75, 80, 85, 90, 95,  
45 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170 o 175 mM. En una realización, la concentración de cloruro de sodio es de aproximadamente 115 mM. La concentración de cloruro de sodio divulgada en el presente documento es de aproximadamente  $150 \pm 10$  mM. En el presente documento se divulga, la concentración de cloruro de sodio es de aproximadamente 150 mM.

- 50 Por "isotónico" se entiende que la formulación tiene esencialmente la misma presión osmótica que la sangre humana. Las formulaciones isotónicas generalmente tendrán una presión osmótica de aproximadamente 250 a 350 mOsm. La isotonicidad se puede medir usando un osmómetro de tipo presión de vapor o de congelación en hielo.

- En determinadas realizaciones, la formulación farmacéutica según la presente invención comprende un estabilizante.  
55 Los estabilizantes incluyen, pero sin limitación, seroalbúmina humana (hsa), seroalbúmina bovina (BSA),  $\alpha$ -caseína, globulinas,  $\alpha$ -lactoalbúmina, LDH, lisozima, mioglobina, ovoalbúmina y RNasa A. Los estabilizantes también incluyen aminoácidos y sus metabolitos, tales como, glicina, alanina ( $\alpha$ -alanina,  $\beta$ -alanina), arginina, betaína, leucina, lisina, ácido glutámico, ácido aspártico, prolina, 4-hidroxiprolina, sarcosina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), opinas (alanopina, octopina, estrombina) y N-óxido de trimetilamina (TMAO). En una realización, el estabilizante es un aminoácido. En  
60 una realización, el aminoácido es arginina. La concentración de arginina divulgada en el presente documento es de aproximadamente 20 a 30 mM. La concentración de arginina divulgada en el presente documento es de aproximadamente  $25 \pm 2$  mM.

En determinadas realizaciones, la formulación farmacéutica según la presente invención comprende un tensioactivo



- no iónico. Los tensioactivos no iónicos incluyen, pero sin limitación, ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitán (tales como polisorbato 20 y polisorbato 80), copolímeros de polietileno y polipropileno, polietilen polipropilenglicol, estearatos de polioxietileno, poli(alquiléteres de oxietileno), p. ej. poli (monolauriléter de polioxietileno, éteres de alquilfenilpolioxietileno (Triton-X), copolímero de polioxietileno-polioxipropileno (Poloxamer, Pluronic), dodecilsulfato de sodio (SDS). En una realización, el tensioactivo no iónico es polisorbato 80. La concentración de polisorbato 80 divulgada en el presente documento es de aproximadamente 0,005 a 0,02 % (p/v). En una realización, la concentración de polisorbato 80 es de aproximadamente 0,01 % (p/v). La concentración de polisorbato 80 divulgada en el presente documento es de aproximadamente 0,02 % (p/v).
- La formulación farmacéutica divulgada en el presente documento comprende un quelante de metales. Los quelantes de metales incluyen, pero sin limitación EDTA y EGTA. El quelante de metales descrito en el presente documento es EDTA. La concentración de EDTA divulgada en el presente documento es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,02 mM. La concentración de EDTA divulgada en el presente documento es de aproximadamente 0,05 mM.
- En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo. En una realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo es de ratón, quimérico, humanizado o completamente humano. El anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo divulgados en el presente documento se une a BLyS o IL-13.
- La formulación divulgada comprende la proteína de unión a antígeno, histidina, arginina, NaCl y polisorbato 80. En un aspecto, la formulación comprende aproximadamente 200 mg/ml de proteína de unión a antígeno, aproximadamente histidina 10 mM, aproximadamente arginina 25 mM, aproximadamente NaCl 115 mM y aproximadamente polisorbato 80 al 0,01 %, a aproximadamente pH 6,0. En una realización, la proteína de unión al antígeno se une a BLyS.
- La formulación farmacéutica divulgada proporciona aproximadamente 200 mg/ml de proteína de unión a antígeno; histidina aproximadamente 15 mM a un pH de aproximadamente 6,25; NaCl aproximadamente 150 mM; polisorbato 80 al 0,02 % (p/v); y EDTA aproximadamente 0,05 mM.
- En un aspecto, la formulación farmacéutica de la presente invención es estable tras la congelación y descongelación. Una formulación "estable" es aquella en la que todas las proteínas en la misma conservan esencialmente su estabilidad física y/o estabilidad química y/o actividad biológica durante el almacenamiento a la temperatura de almacenamiento prevista, p. ej. 2-8 °C. Se desea que la formulación conserve esencialmente su estabilidad física y química, así como su actividad biológica durante el almacenamiento. El período de almacenamiento generalmente se selecciona en función de la vida útil prevista de la formulación. Asimismo, la formulación debe ser estable después de la congelación (a, p. ej., -70 °C.) y descongelación de la formulación, por ejemplo después de 1, 2 o 3 ciclos de congelación y descongelación. Diversas técnicas analíticas para medir la estabilidad de las proteínas están disponibles en la técnica y se revisan en Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y., Pubs. (1991) y Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993), por ejemplo. La estabilidad puede medirse a una temperatura seleccionada durante un período de tiempo seleccionado. La estabilidad se puede evaluar cualitativa y/o cuantitativamente en una variedad de formas diferentes, incluida la evaluación de la formación de agregados (por ejemplo, utilizando cromatografía de exclusión por tamaño, midiendo la turbidez y/o mediante inspección visual); evaluando la heterogeneidad de la carga usando cromatografía de intercambio catiónico o electroforesis de zona capilar; análisis de secuencia aminoterminal o carboxitterminal; análisis por espectrometría de masas; análisis SDS-PAGE para comparar anticuerpos reducidos e intactos; análisis de mapas peptídicos (por ejemplo, tríptico o LYS-C); evaluación de la actividad biológica o la función de unión a antígeno del anticuerpo; etc.
- En una realización, la formulación farmacéutica de la presente invención es adecuada para administración subcutánea o intramuscular.
- El "porcentaje de identidad" entre una secuencia de aminoácidos de consulta y una secuencia de aminoácidos objeto es el valor de "identidades", expresadas como un porcentaje, que se calcula mediante el algoritmo BLASTP cuando una secuencia de aminoácidos objeto tiene una cobertura de consulta del 100 % con una secuencia de aminoácidos de consulta después de realizar una alineación BLASTP por pares. Dichas alineaciones BLASTP por pares entre una secuencia de aminoácidos de consulta y una secuencia de aminoácido objeto se realizan utilizando la configuración predeterminada del algoritmo BLASTP disponible en el sitio web del National Center for Biotechnology Institute con el filtro para regiones de baja complejidad desactivado. Es importante destacar que, una secuencia de aminoácidos de consulta puede describirse mediante una secuencia de aminoácidos identificada en una o más reivindicaciones en el presente documento.
- La secuencia de consulta puede ser 100 % idéntica a la secuencia objeto, o puede incluir hasta un cierto número entero de alteraciones de aminoácidos en comparación con la secuencia objeto, de modo que el % de identidad sea inferior al 100 %. Por ejemplo, la secuencia de consulta es al menos un 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la secuencia objeto. Dichas alteraciones incluyen al menos una eliminación, sustitución incluyendo sustitución conservativa y no conservativa), o inserción, de un aminoácido y en donde dichas alteraciones pueden

darse en las posiciones amino o carboxiterminal de la secuencia de consulta o en cualquier parte entre estas posiciones terminales, intercaladas ya sea individualmente entre los aminoácidos en la secuencia de consulta o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de consulta.

- 5 El % de identidad puede determinarse a lo largo de longitud de la secuencia de consulta, incluyendo una o más CDR. Como alternativa, el % de identidad puede excluir una o más CDR, por ejemplo, las CDR son 100 % idénticas a la secuencia objeto y el % de variación de identidad está en la parte restante de la secuencia de consulta, para que la secuencia de CDR sea fija/intacta.
- 10 En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo. En una realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo es de ratón, quimérico, humanizado o completamente humano. En una realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo se une a BLYS (SEQ ID NO: 1) o una forma hetero u homotrimérica de BLYS, por ejemplo, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo se une a la forma soluble de BLYS (SEQ ID NO: 10). El anticuerpo monoclonal divulgado en el presente documento comprende
- 15 regiones variables de cadena ligera y pesada que comprenden secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 2 y un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 3, respectivamente, o secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 4 y un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 5, respectivamente. En una
- 20 realización, el anticuerpo monoclonal comprende regiones variables de cadena ligera y pesada que comprenden secuencias de aminoácidos que son un 95 % idénticas a las SEQ ID NO: 2 y 3, respectivamente, o secuencias de aminoácidos que son un 95 % idénticas a las SEQ ID NO: 4 y 5, respectivamente. En una realización, el anticuerpo monoclonal comprende regiones variables de cadena ligera y pesada que comprenden secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a las SEQ ID NO: 2 y 3, respectivamente, o secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a las SEQ ID NO: 4 y 5, respectivamente. En una realización, el anticuerpo comprende regiones variables de cadena pesada y ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 2 y 3, respectivamente, o en las SEQ ID NO: 4 y 5, respectivamente. El anticuerpo monoclonal divulgado en el presente documento comprende cadenas ligeras y pesadas que comprenden secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 6 y un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 7, respectivamente, o secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 8 y un 90 % idénticas a, o un 91 % idénticas a, o un 92 % idénticas a, o un 93 % idénticas a, o un 94 % idénticas a, o un 95 % idénticas a, o un 96 % idénticas a, o un 97 % idénticas a, o un 98 % idénticas a, o un 99 % idénticas a la SEQ ID NO: 9, respectivamente. El anticuerpo monoclonal divulgado adicionalmente comprende cadenas pesadas y ligeras que comprenden secuencias de aminoácidos que son un 95 % idénticas a las SEQ ID NO: 6 y 7, respectivamente, o secuencias de aminoácidos que son un 95 % idénticas a las SEQ ID NO: 8 y 9, respectivamente. El anticuerpo monoclonal divulgado en el presente documento comprende cadenas pesadas y ligeras que comprenden secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a las SEQ ID NO: 6 y 7, respectivamente, o secuencias de aminoácidos que son un 90 % idénticas a las SEQ ID NO: 8 y 9, respectivamente. El anticuerpo monoclonal divulgado en el presente documento comprende cadenas pesadas y ligeras que comprenden secuencias de aminoácidos establecidas en las
- 50 SEQ ID NO: 6 y 7, respectivamente, o en las SEQ ID NO: 8 y 9, respectivamente. El anticuerpo monoclonal divulgado en el presente documento comprende CDR que comprenden secuencias de aminoácidos establecidas en las SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15 y 16. El anticuerpo anti-BLYS divulgado en el presente documento se selecciona del grupo de belimumab, tabalumab, y una mezcla de los mismos. En una realización, el anticuerpo anti-BLYS comprende las
- 55 secuencias de cadena pesada y ligera establecidas en las SEQ ID NO: 6 y 7, respectivamente.

- En una realización, la formulación farmacéutica según la presente invención comprende una concentración de anticuerpo monoclonal de  $200 \pm 20$  mg/ml. En una realización, la concentración de anticuerpo es de aproximadamente 200 mg/ml. En una realización, el anticuerpo anti-BLYS se coadministra de forma concomitante o secuencial con un
- 60 corticosteroide. En una realización, el corticosteroide se selecciona del grupo que consiste en prednisona, prednisolona, hidrocortisona, metilprednisolona y dexametasona. En una realización, el corticosteroide es prednisona.

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad o trastorno susceptible de tratamiento con un anticuerpo anti-BLYS. En una realización, la presente invención se refiere

a un método para tratar una enfermedad o afección que es susceptible de tratamiento con un anticuerpo anti-BLyS en un sujeto que comprende administrar una formulación según la presente invención a un sujeto en una cantidad eficaz para tratar la enfermedad o afección. En una realización, la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, vasculitis por anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA), nefritis lúpica, síndrome de Sjögren primario, trombocitopenia inmunitaria crónica, miastenia grave, macroglobulinemia de Waldenström sintomática, desensibilización inmunitaria de pacientes que esperan un trasplante de riñón, nefropatía membranosa, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, mieloma múltiple, esclerosis múltiple e insuficiencia renal. En otra realización, la enfermedad o afección es lupus eritematoso sistémico. En otro aspecto, la presente invención proporciona una formulación para su uso en el tratamiento de enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, vasculitis por anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA), nefritis lúpica, síndrome de Sjögren primario, trombocitopenia inmunitaria crónica, miastenia grave, macroglobulinemia de Waldenström sintomática, desensibilización inmunitaria de pacientes que esperan un trasplante de riñón, nefropatía membranosa, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, mieloma múltiple, esclerosis múltiple e insuficiencia renal. En otro aspecto, la presente invención proporciona una formulación para su uso en el tratamiento del lupus eritematoso sistémico. En el presente documento se divulga el uso de una formulación en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, vasculitis por anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA), nefritis lúpica, síndrome de Sjögren primario, trombocitopenia inmunitaria crónica, miastenia grave, macroglobulinemia de Waldenström sintomática, desensibilización inmunitaria de pacientes que esperan un trasplante de riñón, nefropatía membranosa, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, mieloma múltiple, esclerosis múltiple e insuficiencia renal. En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de una formulación en la preparación de un medicamento para el tratamiento del lupus eritematoso sistémico.

En un aspecto, la presente invención proporciona un kit que comprende uno o más viales que contienen la formulación de la presente invención divulgada e instrucciones para la administración subcutánea de la formulación a un paciente. En una realización, el kit comprende además un dispositivo de inyección para la administración subcutánea de la formulación a un paciente.

En una realización, la presente invención se refiere a un dispositivo de inyección que comprende una formulación de anticuerpo anti-BLyS estable descrita en el presente documento. Para suministro subcutáneo, la formulación puede administrarse a través de un dispositivo adecuado, tal como (pero sin limitación) una jeringa; un dispositivo de inyección (por ejemplo, el dispositivo INJECT-EASE™ y GENJECT™); una bomba de infusión (tal como, por ejemplo, Accu-Chek™); una plumas inyectora (tal como la GENPEN™); o un dispositivo sin aguja (p. ej., MED-DECTOR™ y BIOJECTOR™).

La formulación farmacéutica según la invención está esencialmente exenta de partículas visibles (inspección por el ojo humano). Las partículas subvisibles (medidas por oscurecimiento de la luz) deben cumplir los siguientes criterios: número máximo de partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$  por vial  $\rightarrow 6000$ ; número máximo de partículas  $\geq 25 \mu\text{m}$  por vial  $\rightarrow 600$ .

La formulación farmacéutica del anticuerpo anti-BLyS farmacéuticamente activo según la invención se puede administrar como inyección subcutánea, por lo que la administración se repite varias veces con intervalos de tiempo de 1, 2, 3 o 4 semanas. En una realización, la formulación farmacéutica del anticuerpo anti-BLyS farmacéuticamente activo se administra una vez por semana o una vez cada dos semanas. En la mayoría de los casos, el volumen total del líquido de inyección se administra en un período de tiempo de 1 a 10 minutos, preferentemente 2 a 6 minutos, lo más preferentemente  $3 \pm 1$  minutos.

Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosificación apropiada del anticuerpo dependerá del tipo de enfermedad a tratar, como se ha definido anteriormente, de la gravedad y de la evolución de la enfermedad, de si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, en la terapia anterior, de la historia clínica del paciente y de la respuesta al anticuerpo y del criterio del médico responsable. El anticuerpo se administra adecuadamente al paciente una vez o en una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y de la gravedad de la enfermedad, de aproximadamente  $1 \mu\text{g/kg}$  a  $50 \text{ mg/kg}$  de peso corporal o más específicamente entre aproximadamente  $0,1 \text{ mg/kg}$  a  $20 \text{ mg/kg}$  de peso corporal) del anticuerpo es una dosis inicial con potencial terapéutico para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones distintas o mediante infusión continua. Más específicamente, la dosificación del anticuerpo estará en el intervalo de aproximadamente  $0,05 \text{ mg}$  de anticuerpo/kg de peso corporal a aproximadamente  $10 \text{ mg}$  de anticuerpo/kg de peso corporal.

En el presente documento se divulga un artículo de fabricación que contiene la formulación farmacéutica divulgada y proporciona instrucciones para su uso. Este artículo de fabricación comprende un recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales (por ejemplo, viales de dos o múltiples cámaras), jeringas (como jeringas de dos o múltiples cámaras) y tubos de ensayo. Los recipientes pueden conformarse a partir de diversos materiales, tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene la formulación y la etiqueta sobre, o asociada con, el recipiente puede indicar instrucciones de uso. El recipiente que contiene la formulación puede ser un vial de usos múltiples, lo que permite administraciones repetidas (por ejemplo, de 2 a 6 administraciones) de la formulación reconstituida. El artículo de fabricación puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista

comercial y del usuario, incluyendo otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones de uso.

- 5 El anticuerpo que se formula según la presente invención se prefiere que sea esencialmente puro y se desea esencialmente homogéneo. Un anticuerpo "esencialmente puro" significa una composición que comprende al menos aproximadamente un 90 % en peso del anticuerpo, basándose en el peso total de la composición, preferentemente al menos aproximadamente un 95 % en peso. Un anticuerpo "esencialmente homogéneo" significa una composición que comprende al menos un 99 % en peso de anticuerpo, basándose en el peso total de la composición.
- 10 La invención se entenderá de forma más completa con referencia a los siguientes ejemplos. Son meramente ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención. No se prevé que pequeñas variaciones en el procedimiento, p. ej. pequeños cambios en el tiempo, temperatura, cantidad, concentración, escala, etc., afecten al resultado de los experimentos. Todas las citas de bibliografía y patentes se incorporan en el presente documento como referencia.
- 15 Los Ejemplos se ilustran adicionalmente mediante las figuras 1-20.

### Ejemplos

- 20 Ejemplo 1: formulaciones de belimumab

#### Cierre de recipientes

- 25 En todos los estudios se utilizaron viales Schott tipo I con tapones Daikyo D21-7S Flurotec® y sellos de aluminio de tipo flip off, a menos que se indique lo contrario. Esta combinación de vial y tapón se recomienda como configuración de fase 1. Las muestras de estabilidad a largo plazo que se almacenaron a  $> 2-8^{\circ}\text{C}$  utilizaron jeringas Gerresheimer de 1,0 ml de largo, 29G, de pared delgada, de aguja fina, precargadas con protectores de aguja Stelmi 4800 y émbolos Daikyo W4023 Flurotec®, y se ajustaron al vacío con una capa de nitrógeno. Las muestras a  $< 2-8^{\circ}\text{C}$  se introdujeron en viales criogénicos. Procedimientos de manipulación de productos

- 30 Antes de todos los experimentos, belimumab se filtró de forma estéril con un filtro de  $0,22\text{ }\mu\text{m}$  y se introdujo de manera aséptica en los cierres de los recipientes elegidos. Todas las muestras de estabilidad se protegieron de la luz durante el almacenamiento.

- 35 Selección de excipientes

Se utilizaron excipientes multifarmacopeicos, obligatorios para la fabricación GMP BDS y FDP, cuando fue posible en los estudios de selección y se usaron para todas las formulaciones en el estudio de estabilidad a largo plazo.

- 40 La tabla 2 proporciona una lista de las formulaciones sometidas a prueba.

Tabla 2			
Identificador	Descripción de la formulación		
	Conc. (mM) de amortiguador	Conc. (mM) de excipiente estabilizante	pH
1	Histidina 10 mM	NaCl 140 mM	6,0
2	Histidina 10 mM	Sacarosa 280 mM	6,0
3	Histidina 10 mM	Sacarosa 140 mM, NaCl 70 mM	6,0
4	Histidina 10 mM	MgCl <sub>2</sub> 5,4 mM, NaCl 130 mM	6,0
5	Histidina 10 mM	Arg 25 mM, NaCl 115 mM	6,0
6	Histidina 10 mM	Sorbitol 280 mM	6,0
7	Histidina 10 mM	Arg 25 mM, MgCl <sub>2</sub> 5,4 mM, NaCl 105 mM	6,0
8	Succinato 10 mM	NaCl 140 mM	6,0

#### Estabilidad a largo plazo

- 45 Agregación dependiente de la concentración en la formulación 1

- 50 Como se esperaba, la agregación aumentó con la concentración de proteína (tabla 3, figura 1). La tasa de agregación se duplica aproximadamente entre 100 mg/ml y 260 mg/ml, pero incluso a 260 mg/ml solo daría lugar a un aumento de aproximadamente el 1 % en la agregación durante 3 años a  $2-8^{\circ}\text{C}$  a 200 mg/ml de belimumab. Obsérvese que la cantidad inicial de agregación observada por SEC-HPLC aumenta a medida que aumenta la concentración de proteína, aunque solamente en aproximadamente un 0,1 % (fila de 0 meses de la tabla 3).

Tabla 3 Efecto de la concentración de proteína sobre el % de agregado

Mes	100 mg/ml	140 mg/ml	180 mg/ml	220 mg/ml	260 mg/ml
0	0,47 %	0,50 %	0,54 %	0,58 %	0,60 %
1	0,47 %	0,51 %	0,52 %	0,58 %	0,62 %
2	0,54 %	0,61 %	0,64 %	0,75 %	0,78 %
4	0,53 %	0,59 %	0,63 %	0,72 %	0,77 %
6	0,58 %	0,63 %	0,70 %	0,76 %	0,84 %
Tasa/Mes	0,018 %	0,021 %	0,027 %	0,030 %	0,040 %

Selección de candidatos de formulación a largo plazo

5

Basándose en los siguientes resultados, las formulaciones con potencial terapéutico se redujeron a las formulaciones 1 y 5 después de la evaluación de los datos de 3 meses, y después se eligió la formulación 5 como la formulación final después de 5¼ meses.

10 Aspecto, pH y osmolalidad

Todas las muestras eran de color amarillo pálido, opalescente, y estaban exentas de partículas visibles en todo momento hasta los 5¼ meses. El producto farmacéutico terminado en las ocho formulaciones en las tres concentraciones coincidió más estrechamente con el patrón de color Y5 cuando se sometió a prueba por colorimetría en el punto de tiempo inicial. Todas las muestras de FDP en las formulaciones de histidina/NaCl (en lo sucesivo en el presente documento, formulación 1) e histidina/NaCl/arginina (en lo sucesivo en el presente documento, formulación 5) también coincidieron con el patrón Y5 después de 3 y 5¼ meses de almacenamiento a 2-8 °C. La turbidez de las muestras con estabilizantes de azúcar (sacarosa y sorbitol) fue significativamente menor que todas las demás muestras, que osciló entre 29 y 38 NTU en el punto de tiempo inicial y de 3 meses. La turbidez también aumentó en las muestras que contenían NaCl a medida que disminuía la concentración de proteína. Solamente se sometieron a prueba las formulaciones 1 y 5 después de 5¼ meses a 2-8 °C y no mostraron ninguna respuesta a la formulación, concentración o tiempo (figura 2).

20

Tabla 4 Turbidez de muestras de estabilidad a largo plazo después de 3 meses de almacenamiento a 2-8 °C

	Turbidez (NTU)					
	Concentración alta (~200 mg/ml)		Concentración media (~165 mg/ml)		Concentración baja (~125 mg/ml)	
	Mes 0	Mes 3	Mes 0	Mes 3	Mes 0	Mes 3
Hist/NaCl (formulación 1)	33	33	37	37	37	37
Hist/sacarosa (2)	25	23	24	24	22	23
Hist/sacarosa/NaCl (3)	30	30	33	33	34	35
Hist./NaCl/MgCl <sub>2</sub> (4)	31	31	35	36	36	37
Hist/NaCl/Arg (formulación 5)	29	28	33	33	33	34
Hist/sorbitol (6)	27	27	24	26	26	26
Hist/NaCl/Arg/MgCl <sub>2</sub> (7)	29	29	32	31	32	33
Succinato/NaCl (8)	31	31	36	35	36	37

25

El pH de todas las muestras osciló entre 6,1 y 6,3 en el punto de tiempo inicial y no cambió en las formulaciones 1 y 5 después de 5¼ meses (los datos de la formulación 5 se muestran en la tabla 13). La osmolalidad se sometió a prueba solamente en el punto de tiempo inicial; todas las muestras fueron 299 +/- 17 mOsm/kg.

30 Viscosidad y jeringabilidad

Las formulaciones que contienen azúcar (sacarosa, sorbitol) mostraron las viscosidades más altas, seguidas de la formulación de succinato/cloruro de sodio (tabla 5). El resto de las muestras que contenían sal eran comparables. La viscosidad aumentó exponencialmente a medida que aumentaba la concentración de proteína en las formulaciones 1 y 5 (figura 3).

35

Tabla 5 Viscosidad de muestras de estabilidad a largo plazo en T0

Muestra	Viscosidad (mm <sup>2</sup> /s)		
	Concentración alta (~200 mg/ml)	Concentración media (~165 mg/ml)	Concentración baja (~125 mg/ml)
Hist/NaCl (formulación 1)	10,2	5,8	3,6

Hist/sacarosa	17,4	7,7	4,9
Hist/sacarosa/NaCl	13,4	7,9	3,9
Hist/NaCl/MgCl <sub>2</sub>	12,8	5,6	3,4
Hist/NaCl/Arg (formulación 5)	13,0	5,8	3,8
Hist/sorbitol	21,0	7,6	4,3
Hist/NaCl/Arg/MgCl <sub>2</sub>	12,8	5,6	3,5
Succinato/NaCl	15,3	6,6	3,8

La jeringabilidad, medida como la fuerza necesaria para suministrar 1 ml a través de la aguja de pared delgada 29G en 10 segundos, mostró tendencias similares en el punto de tiempo inicial. Después de un 5 % de los meses, solo se sometieron a prueba las formulaciones 1 y 5, y no se observó un aumento significativo en la jeringabilidad a lo largo del tiempo a 2-8 °C. También se sometió a prueba la jeringabilidad durante 20 segundos en una de cada jeringa en el punto de tiempo del 5 % mensual, y se demostró que la fuerza de suministro disminuía hasta en un 40 % cuando el tiempo de suministro se duplicaba. Aunque no se ha sometido a prueba, la fuerza de suministro también se puede disminuir aumentando el calibre de la aguja.

10 Tabla 6 Jeringabilidad de muestras de estabilidad a largo plazo en T0 y un 5 % de los meses

		Jeringabilidad (N)		
Muestra y tiempo de suministro	Muestra	Concentración alta (~200 mg/ml)	Concentración media (~165 mg/ml)	Concentración baja (~125 mg/ml)
Punto de tiempo inicial	Hist/NaCl (formulación 1)	21,9	14,5	12,0
	Hist/sacarosa	31,3	18,2	13,8
	Hist/sacarosa/NaCl	25,7	17,5	12,7
	Hist/NaCl/MgCl <sub>2</sub>	23,8	14,1	11,1
Suministro en 10 segundos	Hist/NaCl/Arg (formulación 5)	24,4	16,3	11,5
	Hist/sorbitol	35,7	18,0	12,6
	Hist/NaCl/Arg/MgCl <sub>2</sub>	25,0	16,1	10,9
	Succinato/NaCl	28,3	14,6	11,7
Muestra a los 5¼ meses, 2-8 °C	Hist/NaCl (formulación 1)	24,4	16,1	10,6
	Hist/NaCl/Arg (formulación 5)	24,2	16,7	10,8
Muestra al 5 % de los meses, 2-8 °C	Hist/NaCl (formulación 1)	14,4	10,0	9,4
Suministro en 20 segundos	Hist/NaCl/Arg (formulación 5)	16,2	11,1	6,4

Las fuerzas necesarias para administrar los fármacos a través de siete inyector de pluma comercializados, que son más similares a las jeringas precargadas porque requieren una fuerza de accionamiento manual, son similares a la fuerza para belimumab a 200 mg/ml (tabla 7). Los tiempos de inyección variaron debido a los diferentes volúmenes y diámetros de los recipientes, que se enumeran en la tabla 7 para comparación. Para finalizar, un estudio de la Universidad de Nottingham encargado por el Departamento de Comercio e Industria del Reino Unido ha demostrado que estando sentadas, 59 mujeres entre las edades de 16 y 90 eran capaces de aplicar 53,7 a 237,7 N de fuerza estática hacia abajo a nivel de la cadera con el pulgar. Aunque ni los datos del inyector de pluma ni el estudio de fuerza son correlaciones perfectas para usar una jeringa precargada, ambos conjuntos de datos generan confianza en que la viscosidad y la jeringabilidad de 200 mg/ml de belimumab no son prohibitivas para la administración manual. Sin embargo, la fuerza necesaria para administrar 200 mg/ml de belimumab desde una jeringa precargada de 1 ml de largo a través de una aguja de pared delgada 29G está cerca del límite deseable para la inyección manual, y se preferiría una aguja más ancha.

Tabla 7 Fuerzas de inyección de plumas comercialmente disponibles a 80 mm/min

Pluma	Aguja provista	Empresa	Indicación	Fuerza de inyección (N)	Tiempo de suministro (segundos)
Gonal-f RFF	Ypsomed Penfine 29Gx1/2"	EMD Serono	Infecundidad	22,3	5,3
Lantus SoloStar	Ninguna (se recomienda BD)	Sanofi-Aventis	diabetes de tipo 2 o de tipo I	6,4*	11,3
Lantus SoloStar	BD Microfine 30Gx8mm	Schering Corporation	hepatitis C crónica	21,1	7,1
Lantus SoloStar	Ninguna (se recomienda BD)	Eli Lilly	diabetes	24,9*	7,1
Lantus SoloStar	Ninguna (se recomiendan 29, 30, 31G)	Amylin Pharmaceuticals Eli Lilly	diabetes de tipo 2	13,4*	4,1
Lantus SoloStar	Ninguna (se recomienda Novofine)	Novo Nordisk	Tratamiento con GH	13,8*	9,4
Lantus SoloStar	Ninguna (se recomienda BD)	Eli Lilly	osteoporosis	24,1*	5,3

\* Suministrada usando una aguja Ypsomed Penfine 29Gx12.7mm

#### Variantes de tamaño

#### Datos de SEC-HPLC de 3 meses

5

La agregación, observada mediante SEC-HPLC, fue la vía dependiente de la concentración predominante para belimumab en todas las formulaciones. El porcentaje de fragmentación (observado como un hombro posterior) fue variable entre un 0,1 y 0,2 %, pero no cambió a lo largo del tiempo (respaldado por datos del 5 % de los meses).

- 10 Después de 3 meses a 2-8 °C, se observaron claras diferencias en la tasa de agregación (figura 4) entre belimumab formulado en las ocho formulaciones. La formulación 5 (histidina/NaCl/arginina) mostró la tasa más baja durante tres meses, particularmente a 200 mg/ml (azul en la figura 4). Esto se vio respaldado por las tendencias aceleradas a 200 mg/ml (figura 5). El succinato fue el peor estabilizante a bajas temperaturas, pero el mejor a temperaturas elevadas. Muchas de las otras formulaciones de sal y azúcar, incluyendo la formulación 1 (histidina/NaCl), mostraron porcentajes de agregados absolutos y tasas de agregación similares.

15

#### Datos de SEC-HPLC a los 5¼ meses

- 20 Se evaluó belimumab en las formulaciones 1 y 5 al 5 % de los meses. Las tendencias observadas a los 3 meses continuaron, con la formulación que contiene arginina que muestra una menor tasa de agregación, especialmente a la concentración más alta de 200 mg/ml. La figura 6 muestra las tasas de agregación después del 5 % de los meses a una temperatura hasta 25 °C, y muestra que la formulación de arginina (recuadros blancos en el gráfico) amortigua significativamente la agregación en comparación con la formulación 1 (recuadros rellenos). Un análisis más detallado de las tasas de agregación a varias temperaturas en la figura 7 muestra como de consistente muestra la formulación 5 (líneas discontinuas) una tasa de agregación más baja que la formulación 1 (líneas continuas). Si la tasa de agregación a 2-8 °C observada hasta el 5 % de los meses se mantiene durante 3 años, FDP solo aumentaría aproximadamente un 1,2 %.

25

#### CGE

30

La electroforesis en gel capilar reductor de las formulaciones 1 y 5 no mostró tendencias después del 5 % de los meses de almacenamiento a diversas temperaturas (tasas mostradas en la figura 8). Por lo tanto, la reticulación y el corte no dependen de la concentración o la formulación.

35

#### Heterogeneidad de carga

El intercambio de iones indica que ni la concentración ni la adición de arginina a una formulación de sal amortiguada con histidina afecta a las variantes de carga (figura 9). Aunque las variantes ácidas aumentan a lo largo del tiempo a temperaturas elevadas, se observó poco o ningún cambio en las variantes después del 5 % de los meses.

40

#### Oxidación

No se observaron cambios significativos en la oxidación entre ninguna de las 8 formulaciones después de 3 meses de almacenamiento a 2-8 °C (datos no mostrados). Después del 5 % de los meses, al comparar datos de -80 °C y 15 °C,

no se observaron diferencias en la oxidación entre las formulaciones 1 y 5 o entre las tres concentraciones en cualquiera de las formulaciones (figura 10). Se observó aproximadamente un 1,0 % de oxidación adicional en todas las muestras después del 5 % de los meses de almacenamiento a 25 °C, y aproximadamente un 4,5 % de oxidación adicional a 40 °C.

5

#### Mapeo de péptidos

No se observaron diferencias entre las muestras de 200 mg/ml de la formulación 1 a -80 °C y 2-8 °C o el patrón de referencia después del 5 % de los meses (figura 11). La muestra a 25 °C mostró un pequeño aumento en la desamidación de T4, como se esperaba a temperaturas aceleradas. De manera similar, la muestra de la formulación 5 mostró desamidación de T4 solamente a 25 °C, pero también mostró alturas de pico inconsistentes en otros picos de péptidos diferentes (T33, T34 y T5 de la cadena pesada, T3 de la cadena ligera de la figura 12). Estas alturas de pico no mostraron tendencia con la temperatura, por lo que se sospechó que la arginina interfería en la digestión.

Para determinar si la interferencia de la arginina era la causa de la variabilidad, se añadió arginina 0, 25 y 50 mM a una muestra de la formulación 1 que había pasado por el paso de desalinización del método. A continuación, las tres muestras se analizaron a través de las etapas restantes, que incluyen la digestión con tripsina. Los mismos picos peptídicos que mostraron variabilidad en las muestras de estabilidad mostraron respuestas que se correlacionaron con la concentración de arginina (figura 13). Esto indica que es posible que la arginina no siempre se elimine por completo en la etapa de desalinización y explica la variación independiente de la temperatura observada en los mapas de péptidos de las muestras formuladas en la formulación 5. Debido a que no se observaron otras modificaciones en los mapas de péptidos, se puede suponer que a pesar de las diferencias en los mapas, las formulaciones 1 y 5 no tuvieron ninguna degradación observable después del 5 % de los meses a 2-8 °C, y solamente una degradación mínima después del 5 % de los meses a 25 °C.

25

#### Potencia

Belimumab permanece biológicamente activo después del almacenamiento a 2-8 °C durante 3 meses en la formulación 1 o la formulación 5 entre 125 y 200 mg/ml, o después del 5 % de los meses en la formulación 5 a 200 mg/ml (tabla 8).

30

Tabla 8 Potencia relativa después de la estabilidad a 2-8 °C

	% de potencia relativa	
	3 meses	5 ¼ meses
200 mg/ml de formulación 5	102 %	118 %
125 mg/ml de formulación 5	106 %	
200 mg/ml de formulación 1	90 %	
125 mg/ml de formulación 1	102 %	

#### Evaluación de congelación/descongelación

35

Las muestras expuestas a 5 ciclos rápidos de congelación/descongelación entre -40 °C y 2-8 °C tuvieron una cantidad similar de agregación que las muestras de control de -40 °C, lo que indica que la congelación/descongelación rápida no es una preocupación ni en la formulación 1 ni en la formulación 5 (tabla 9).

40

Tabla 9 Resultados de SEC-HPLC de belimumab expuesto a congelación/descongelación rápida

	% de agregado	
	Formulación 1	Formulación 5
ctrl a 2-8 °C	0,6	0,6
ctrl a -20 °C	0,8	0,8
ctrl a -40 °C	0,6	0,7
control a -80 °C	0,6	0,6
5X ciclo a -40/2-8 °C	0,7	0,7

Las muestras expuestas a 3 ciclos lentos de congelación/descongelación mostraron un aumento del 0,2 % en el nivel de agregado en comparación con los controles líquidos (tabla 10).

45



Tabla 10 Resultados de SEC-HPLC de belimumab expuesto a congelación/descongelación lenta

Muestra	% de agregado	% de pico principal	% de recorte
Control líquido de la formulación 1	0,7	99,1	0,2
Congelación/descongelación lenta de la formulación 1	0,9	98,9	0,2
Control líquido de la formulación 5	0,6	99,2	0,1
Congelación/descongelación lenta de la formulación 5	0,8	99,1	0,2

## DSC

- Se usó calorimetría para evaluar la transición vítrea (Tg') por debajo del punto de congelación de cada formulación y para determinar si se formó un eutéctico por debajo del punto de congelación. El eutéctico de cloruro de sodio: agua puede formarse por debajo de aproximadamente -21 °C, y la cristalización eutéctica de los excipientes puede afectar la calidad del producto al introducir interacciones en la superficie cristalina y cambiar el entorno químico local en el concentrado congelado que contiene proteína. El almacenamiento por debajo de Tg' puede mejorar la estabilidad aumentando el tiempo de relajación y reduciendo la degradación asociada.
- Las formulaciones 1 y 5 de alta concentración de belimumab tuvieron un comportamiento similar con respecto a las transiciones por debajo del punto de congelación (tabla 11). Para la formulación 1, Tg' osciló entre -23 °C (congelación más rápida) y -33 °C (congelación más lenta). Para la formulación 5, Tg' osciló entre -22 °C (congelación más rápida) y -32 °C (congelación más lenta). Para ambas formulaciones, se observó una endotermia eutéctica solo después del ciclo térmico con múltiples etapas de recocido a -23 °C. El eutéctico probablemente era cloruro de sodio - agua.
- Estos resultados indican que las transiciones térmicas por debajo del punto de congelación de estas formulaciones son sensibles al historial térmico de la muestra. Esto probablemente se deba al alto contenido de sólidos disueltos y a la presencia de cloruro de sodio, que puede afectar a la Tg' en la fase proteica/amorfa. Los resultados, junto con los datos de estabilidad a -80 °C y -40 °C de la Sección 5.2, también indican que el almacenamiento de BDS a < -40 °C y protegido de la luz es suficiente para belimumab en la formulación 5.

Tabla 11 Resultados de DSC para belimumab en la formulación 5 y la formulación 1

Muestra		Formulación 1:	Formulación 5:
Congelación rápida	Masa de muestra (mg)	16,5	16,5
	Tg'	-23 °C	-22 °C
	Endotermia eutéctica	No se observó eutéctico	No se observó eutéctico
Recocido de congelación media a -40 °C	Masa de muestra (mg)	15,7	16,7
	Tg'	-27 °C	-26 °C
	Endotermia eutéctica	No se observó eutéctico	No se observó eutéctico
Recocido de congelación media a -23 °C	Masa de muestra (mg)	16,9	16,3
	Tg'	-25 °C	-27 °C
	Endotermia eutéctica	No se observó eutéctico	No se observó eutéctico
Congelación lenta a -60 °C	Masa de muestra (mg)	17,7	16,3
	Tg'	Débil -33 °C	Débil -32 °C
	Endotermia eutéctica	No se observó eutéctico	No se observó eutéctico
Ciclo térmico (-80/-23oC con recocido)	Masa de muestra (mg)	15,3	18,6
	Tg'	Después del ciclo, débil -31 °C	Después del ciclo, débil -28 °C y -18 °C
	Endotermia eutéctica	Entre -16 °C y -12 °C (0,6 J/g)	Entre -16 °C y -12 °C (0,7 J/g)

## Evaluación de la agitación

Después de 48 horas de agitación a 250 rpm, no hubo cambios significativos en la pureza por SEC-HPLC ni en la turbidez ni en el vial ni en la jeringa en el intervalo de concentraciones de polisorbato estudiado (tabla 12). Se demostró que el polisorbato 80 al 0,01 % es eficaz y fuerte en la formulación 5 como protector contra la agitación tanto en un vial como en una jeringa.

5

Tabla 12 SEC-HPLC y turbidez de belimumab en la formulación 5 después de agitar a 250 rpm

Cierre de recipientes	Muestra	% pico principal por SEC			Turbidez (NTU)	
		0 h.	24 h.	48 h.	0 h.	48 h.
Vial	Control (sin agitación)	99,4	99,3	99,3	37	38
	PS80 bajo (0,005 %)	99,4	99,3	99,3	35	35
	PS80 objetivo (0,01 %)	99,4	99,3	99,3	33	37
	PS80 alto (0,02 %)	99,4	99,4	99,4	30	33
Jeringa	Control (sin agitación)	99,4	99,3	99,3	37	38
	PS80 bajo (0,005 %)	99,4	99,3	99,3	35	35
	PS80 objetivo (0,01 %)	99,4	99,3	99,3	33	34
	PS80 alto (0,02 %)	99,4	99,3	99,4	30	32

## Conclusiones

- 10 Se eligió una formulación para la administración subcutánea de belimumab a 200 mg/ml en función de su capacidad para minimizar las tasas de la vía de degradación primaria (formulación 5; 0,65 mg/ml de L-histidina, 1,2 mg/ml de monoclóridato de L-histidina, 6,7-7,3 mg/ml de cloruro de sodio, 5,3 mg/ml de clorhidrato de L-arginina, 0,1 mg/ml de polisorbato 80, pH 6,0; o, como alternativa, histidina 10 mM, cloruro de sodio 115 mM, monoclóridato de L-arginina 25 mM, polisorbato 80 al 0,01 % (p/v), pH 6,0). Se demostró que la tasa de agregación (~0,03 %/mes a 2-8 °C) aumentaba con la concentración de belimumab, pero se inhibió con el uso de arginina 25 mM. La tasa de desamidación fue de aproximadamente 0,2 %/mes a 2-8 °C. La formulación de 200 mg/ml tiene una fuerza de suministro aceptable para suministro manual o con autoinyector utilizando una jeringa larga de 1 ml y una aguja de pared delgada 29G o más ancha. Se demostró que los perfiles de congelación/descongelación y el almacenamiento a -80 °C y -40 °C son aceptables, y el producto no es susceptible a la agitación.
- 15
- 20 Se realizaron estudios de estabilidad de GMP a largo plazo en 200 mg/ml del producto farmacéutico final de belimumab en la formulación 5 (1,0 ml introducido en una jeringa BD larga de 1,0 ml). Hasta la fecha, hay 42 meses de datos de estabilidad de GMP a la temperatura de almacenamiento prevista de 2-8 °C (tabla 14). Los resultados indican que la formulación 5 proporciona una estabilidad adecuada a belimumab con perfiles de degradación aceptables observados a la temperatura de almacenamiento prevista de 2-8 °C (tabla 14).
- 25

Tabla 13. Estabilidad a largo plazo de belimumab en la formulación 5 a 200 mg/ml

Tiempo (Mes)	Temperatura (°C)	Apariencia	Colorimetría	pH	Turbidez (NTU)	% de agregado por SEC	% de pureza por SEC	% de fragmentos por SEC	% Ácido por IEC	% principal por IEC	Hombro básico por IEC	Básico por IEC (con/sin hombro)	% de Oxidación de HC por RP	% de pureza por CGE	Potencia (% de unión relativa)
0	ND	OPF	Y5	6,3	29	0,6	99,2	0,2	12,9	78,5	5,2	8,6	1,8	95,0	
	-80			6,2		0,6	99,4	0	12,6	79,4	5,0	8,0	3,8	93,1	102
	-40			6,2		0,6	99,3	0,1	12,7	79,6	4,8	7,7	3,8	93,8	
	5	OPF	Y5	6,3	29	0,7	99,1	0,2	13,0	79,3	4,9	7,7	2,2	92,4	105
	15		Y5	6,3		1,0	98,8	0,2	15,6	76,9	4,6	7,5	4,1	95,7	
3	25		Y5	6,1		1,2	98,5	0,4	25,7	68,1	3,9	6,2	4,6	93,2	
	-80			6,2		0,6	99,4	0,0	13,9	78,2	4,7	7,9	2,1	94,7	
	-40			6,2		0,7	99,3	0,0	12,2	78,9	5,6	9,0	2,0	95,6	
	5	OPF	Y5	6,2	37	0,7	99,2	0,1	12,9	78,2	5,1	8,8	2,3	94,3	118
	15			6,2		1,0	98,8	0,1	18,1	73,1	5,5	8,8	2,4	92,8	
5,25	25			6,2		1,4	98,2	0,4	34,2	58,5	4,1	7,3	3,3	93,1	
	40			6,2		9,7	88,1	2,2	92,9	2,2	3,3	4,8	6,4	83,7	
	5	OPF	Y5			0,9	99,1	0,1	14,6	78,3	4,2	7,2	2,6	96,4	

Tabla 14. Datos de estabilidad según GMP de 200 mg/ml de Belimumab en la formulación 5 a la temperatura de almacenamiento prevista de 2-8 °C (1,0 ml en una botella de 1,0 ml) Jeringa larga BD)

Prueba (método analítico)	Criterios de aceptación clínica	Tiempo (meses)											
		0	1	2	3	6	9	12	18	24	30	36	42
Apariencia [Inspección visual (Ph. Eur. 2.2.1 y 2.2.2)]	Solución incolora a amarillo pálido, de clara a opalescente, esencialmente exenta de partículas extrañas	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF	OPF
		MP: 75,6	MP: 75,3	MP: 74,9	MP: 74,7	MP: 75,0	MP: 74,1	MP: 72,0	MP: 72,3	MP: 70,7	MP: 69,4	MP: 69,2	MP: 68,3
Heterogeneidad de carga (IE-HPIC)	Picos ácidos (AP): Resultado indicado (X,X%)	AP: 13,2	AP: 13,4	AP: 13,6	AP: 14,1	AP: 14,1	AP: 14,9	AP: 16,3	AP: 16,2	AP: 17,7	AP: 19,3	AP: 20,1	AP: 20,8
								Superado		Superado	Superado	Superado	Superado
Integridad del cierre del recipiente (fuga de tinte)	Superado												
Volumen de suministro (USP <1>, Ph. Eur. 2.9.17)	1,0-1,1 ml Volumen máximo: X.XX ml Volumen mínimo: X.XX ml	Máx: 1,06	Máx: 1,06	Máx: 1,06	Máx: 1,06	Máx: 1,08	Máx: 1,07	Máx: 1,06	Máx: 1,06	Máx: 1,06	Máx: 1,06	Máx: 1,06	Máx: 1,07
		Mín: 1,04	Mín: 1,05	Mín: 1,05	Mín: 1,05	Mín: 1,05	Mín: 1,05	Mín: 1,05	Mínimo 1,05	Mín: 1,05	Mín: 1,05	Mín: 1,04	Mín: 1,05
Fuerzas de inyección (banco de prueba de fuerza de compresión)	Fuerza máxima de rotura: Resultado indicado (X.X N)	BLF: 7,7	BLF: 7,0	BLF: 7,8	BLF: 7,1	BLF: 7,5	BLF: 7,1	BLF: 8,0	BLF: 8,1	BLF: 7,3	BLF: 6,8	BLF: 8,4	BLF: 9,5
		PEF: 7,4	PEF: 9,1	PEF: 8,1	PEF: 8,6	PEF: 7,5	PEF: 7,2	PEF: 7,6	PEF: 9,2	PEF: 9,3	PEF: 7,5	PEF: 9,9	PEF: 8,4
pH [Electrodo de pH (USP <791>, Ph. Eur. 2.2.3)]	6,0 +/-0,4	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,1	6,0	6,0	6,1	6,1
Potencia (inhibición de la unión)	75 - 133 % de potencia relativa	105	105	96	98	98	99	108	93	105	96	98	98
Concentración de proteína (A280)	200 +/- 40 mg/ml	200	204	195	202	197	200	198	197	199	197	198	197

(continuación)

Prueba (método analítico)	Criterios de aceptación clínica	Tiempo (meses)											
		0	1	2	3	6	9	12	18	24	30	36	42
Pureza (SDS-PAGE: reducido con tinción azul de Coomassie)	>= 95 %	99	98	99	98	99	99	99	99	99	99	99	99
Pureza (SEC-HPLC)	Pico principal (MP): >= 95,0 %	MP: 99,4	MP: 99,4	MP: 99,2	MP: 99,2	MP: 99,2	MP: 99,1	MP: 99,1	MP: 99,0	MP: 98,9	MP: 98,8	MP: 98,7	MP: 98,8
	Agregado (AG): Resultado indicado (X,X%)	AG: 0,5	AG: 0,6	AG: 0,7	AG: 0,7	AG: 0,8	AG: 0,8	AG: 0,8	AG: 0,9	AG: 1,0	AG: 1,0	AG: 1,1	AG: 1,0
	Fragmento (FG): Resultado indicado (X,X%)	FG: 0,1	FG: 0,0	FG: 0,0	FG: 0,0	FG: 0,1	FG: 0,1	FG: 0,1	FG: 0,1	FG: 0,1	FG: 0,1	FG: 0,2	FG: 0,1
Esterilidad (USP <71>, Ph. Eur. 2.6.1)	Sin crecimiento	Sin crecimiento											
Materia con partículas subvisibles (USP <788>, Ph. Eur. 2.9.19)	Cumple con USP <788> y Ph. Eur. 2.9.19	Cumple con USP <788> y Ph. Eur. 2.9.19						Cumple con USP <788> y Ph. Eur. 2.9.19		Cumple con USP <788> y Ph. Eur. 2.9.19	Cumple con USP <788> y Ph. Eur. 2.9.19	Cumple con USP <788> y Ph. Eur. 2.9.19	Cumple con USP <788> y Ph. Eur. 2.9.19
	<= 6000 partículas por recipiente >= 10 µm	62						45		290	176	179	293
	<= 600 partículas por recipiente >= 25 µm	6						0		12	16	7	10
Clave de apariencia: C = clara, 0 = opalescente; L = incolora, P = color amarillo pálido, (Y) = color amarillo; F = esencialmente exenta de partículas extrañas; X = otra fuerza de inyección; BLF = fuerza de rotura, PEF = fuerza de extrusión máxima.													

Listado de secuencias

SEQ ID NO: 1 BLyS

5 MDDSTEREQS RLTSCLKKRE EMKLKECVSI LPRKESPSVR SSKDGKLLAA TLLLALLSCC  
LTVVSFYQVA ALQGDLASLR AELQGHAEK LPAGAGAPKA GLEEAPAVTA GLKIFEPPAP  
GEGNSSQNSR NKRAVQGPEE TVTQDCLQLI ADSETPTIQK GSYTFVPWLL SFKRGSALEE  
KENKILVKET GYFFIYGQVL YTDKTYAMGH LIQRKKVHVF GDELSLVTLF RCIQNPETL  
PNNSCYSAGI AKLEEGDELQ LAIPRENAQI SLDGDVTFFG ALKLL

SEQ ID NO: 2 VH de belimumab

10 QVQLQQSGAE VKKPGSSVRV SCKASGGTFN NNAINWVRQA PGQGLEWMGG IIPMFGTAKY  
SQNFQGRVAI TADESTGTAS MELSSLRSED TAVYYCARSR DLLLFPPhAL SPWGRGTMVT  
VSS

SEQ ID NO: 3 VL de belimumab

15 SSELTDPAV SVALGQTVRV TCQGDLSRSY YASWYQKPG QAPVLVIYK NNRPSGIPDR  
FSGSSSGNTA SLTITGAQAE DEADYYCSSR DSSGNHWVFG GGTSLTVLG

SEQ ID NO: 4 VH de tabalumab

20 MKHLWFFLLL VAAPRWVLSQ VQLQQWGAGL LKPSETLSLT CAVYGGSFSG YYWSWIRQPP  
GKGLEWIGEI NHSGSTNYP SLKSRVTISV DTSKNQFSLK LSSVTAADTA VYICARGYYD  
ILTGYYYFD YWQGTSLTV SS

SEQ ID NO: 5 VL de tabalumab

25 EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS RYLAWYQKPG QAPRLLIYD ASNRATGIPA  
RFGSGSGTD STLTISLEP EDFAVYYCQQ RSNWPRTFGQ GTKVEIKRT

SEQ ID NO: 6 Cadena pesada de belimumab

25 QVQLQQSGAE VKKPGSSVRV SCKASGGTFN NNAINWVRQA PGQGLEWMGG IIPMFGTAKY  
SQNFQGRVAI TADESTGTAS MELSSLRSED TAVYYCARSR DLLLFPPhAL SPWGRGTMVT  
VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL  
QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCDKTH TCPPCPAPEL  
LGGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE  
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR EPQVYTLPPS  
RDELTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK  
SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKSLSLS PGK

SEQ ID NO: 7 Cadena ligera de belimumab

30 SSELTDPAV SVALGQTVRV TCQGDLSRSY YASWYQKPG QAPVLVIYK NNRPSGIPDR  
FSGSSSGNTA SLTITGAQAE DEADYYCSSR DSSGNHWVFG GGTSLTVLGQ PKAAPSVTLF  
PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL  
SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

SEQ ID NO: 8 Cadena pesada de tabalumab

QVQLQQWGAG LLKPSETLSL TCAVYGGSF S GYYWSWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSTNYN  
 PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARGYY DILTGYYYYF DYWGQGT LVT  
 VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL  
 QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKT YTCNV DH KPSQTKV DKR VESKYGP PCP PCPAPEFLGG  
 PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN  
 STYRVVSVLT VLNQDNLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSQEE  
 MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SRLTVDKSRW  
 QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 9 Cadena ligera de tabalumab

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS RYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASNRATGIPA  
 RFSGSGSGTD STLTISSELP EDFAVYYCQQ RSNWPRTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLNNTLT  
 5 LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC

SEQ ID NO: 10 Forma soluble de BLyS

AVQGPEETVT QDCLQLIADS ETPTIQKGSY TFVPWLLSFK RGSAALEKEN KILVKETGYF  
 FIYGQVLYTD KTYAMGHLIQ RKKVHVFGDE LSLVTLFRCI QNMPETLPNN SCYSAGIAKL  
 10 EEGDELQLAI PRENAQISLD GDVTFFGALK LL

SEQ ID NO: 11 Belimumab  
 CDRH1 GGTFNNNAIN

15 SEQ ID NO: 12 Belimumab  
 CDRH2 GIIPMFGTAK YSQNFQG

SEQ ID NO: 13 Belimumab  
 CDRH3 SRDLLLFP HH ALSP

20 SEQ ID NO: 14 Belimumab  
 CDRL1 QGDSLRSYYA S

25 SEQ ID NO: 15 Belimumab  
 CDRL2 GKNNRPS

SEQ ID NO: 16 Belimumab  
 CDRL3 SSRDSSGNHW V

LISTADO DE SECUENCIAS

30 <110> BLAKE-HASKINS, Angela MARSHALL, Tristan PERKINS, Melissa D. O'BERRY, Kristen CROTTS, George  
 H. PURI, Manasi DUNLEAVY, Donna M.

35 <120> FORMULACIÓN DE ANTICUERPOS

<130> PU65703

<140> Todavía sin asignar

40 <141> 15/05/2015

<150> 61/994427

<151> 16/05/2014

45 <150> 62/093734

<151> 18/12/2014

<150> 62/095181

<151> 22/12/2014

<160> 16

5 <170> FastSEQ para Windows versión 4.0

<210> 1

<211> 285

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> BLYS

15 <220>

<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

<400> 1

```

Met Asp Asp Ser Thr Glu Arg Glu Gln Ser Arg Leu Thr Ser Cys Leu
 1      5      10      15
Lys Lys Arg Glu Met Lys Leu Lys Glu Cys Val Ser Ile Leu Pro
 20      25      30
Arg Lys Glu Ser Pro Ser Val Arg Ser Ser Lys Asp Gly Lys Leu Leu
 35      40      45
Ala Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Cys Leu Thr Val Val
 50      55      60
Ser Phe Tyr Gln Val Ala Ala Leu Gln Gly Asp Leu Ala Ser Leu Arg
 65      70      75      80
Ala Glu Leu Gln Gly His His Ala Glu Lys Leu Pro Ala Gly Ala Gly
 85      90      95
Ala Pro Lys Ala Gly Leu Glu Glu Ala Pro Ala Val Thr Ala Gly Leu
100      105      110
Lys Ile Phe Glu Pro Pro Ala Pro Gly Glu Gly Asn Ser Ser Gln Asn
115      120      125
Ser Arg Asn Lys Arg Ala Val Gln Gly Pro Glu Glu Thr Val Thr Gln
130      135      140

Asp Cys Leu Gln Leu Ile Ala Asp Ser Glu Thr Pro Thr Ile Gln Lys
145      150      155      160
Gly Ser Tyr Thr Phe Val Pro Trp Leu Leu Ser Phe Lys Arg Gly Ser
165      170      175
Ala Leu Glu Glu Lys Glu Asn Lys Ile Leu Val Lys Glu Thr Gly Tyr
180      185      190
Phe Phe Ile Tyr Gly Gln Val Leu Tyr Thr Asp Lys Thr Tyr Ala Met
195      200      205
Gly His Leu Ile Gln Arg Lys Lys Val His Val Phe Gly Asp Glu Leu
210      215      220
Ser Leu Val Thr Leu Phe Arg Cys Ile Gln Asn Met Pro Glu Thr Leu
225      230      235      240
Pro Asn Asn Ser Cys Tyr Ser Ala Gly Ile Ala Lys Leu Glu Glu Gly
245      250      255
Asp Glu Leu Gln Leu Ala Ile Pro Arg Glu Asn Ala Gln Ile Ser Leu
260      265      270
Asp Gly Asp Val Thr Phe Phe Gly Ala Leu Lys Leu Leu
275      280      285

```

20

<210> 2

<211> 123

<212> PRT



<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

5

<400> 2

```

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1          5          10          15
Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asn Asn Asn
 20
Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35          40          45
Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser Gln Asn Phe
 50          55          60
Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly Thr Ala Ser
 65          70          75          80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85          90          95
Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala Leu Ser Pro
 100          105          110
Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115          120

```

10

<210> 3

<211> 109

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

<400> 3

```

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

```

20

<210> 4

<211> 142

<212> PRT

25

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

30

<400> 4

Met	Lys	His	Leu	Trp	Phe	Phe	Leu	Leu	Leu	Val	Ala	Ala	Pro	Arg	Trp
1				5					10					15	
Val	Leu	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Trp	Gly	Ala	Gly	Leu	Leu	Lys
			20					25					30		
Pro	Ser	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Tyr	Gly	Gly	Ser	Phe
		35					40					45			
Ser	Gly	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
	50					55					60				
Glu	Trp	Ile	Gly	Glu	Ile	Asn	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro
65					70					75					80
Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln
				85					90					95	
Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			100						105					110	
Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Ile	Leu	Thr	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr
		115					120					125			
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser		
		130					135					140			

<210> 5

<211> 109

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

<400> 5

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

Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr
				100					105			

15 <210> 6

<211> 453

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

<400> 6

Gln 1	Val	Gln	Leu	Gln 5	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu 10	Val	Lys	Lys	Pro	Gly 15	Ser
Ser	Val	Arg	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Asn	Asn	Asn
			20					25					30		
Ala	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Met	Phe	Gly	Thr	Ala	Lys	Tyr	Ser	Gln	Asn	Phe
	50					55				60					
Gln	Gly	Arg	Val	Ala	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Gly	Thr	Ala	Ser
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Ser	Arg	Asp	Leu	Leu	Leu	Phe	Pro	His	His	Ala	Leu	Ser	Pro
			100					105					110		
Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
		115					120					125			
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly
	130					135				140					
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145					150					155					160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
				165					170					175	
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
			180					185					190		
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val
		195					200					205			
Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys
	210					215				220					
Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
225					230					235					240
Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
				245					250					255	
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
			260					265						270	
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
		275					280					285			
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
	290					295				300					
Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
305					310					315					320
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
				325					330					335	
Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
			340					345						350	
Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln
		355													

<210> 7  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

10

<400> 7

```

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1      5      10      15
Thr Val Arg Val Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
 20      25      30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35      40      45
Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50      55      60
Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65      70      75      80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 85      90      95
Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
 100     105     110
Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Leu Gln
 115     120     125
Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
 130     135     140
Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
 145     150     155     160
Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
 165     170     175
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
 180     185     190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
 195     200     205
Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210

```

15

<210> 8  
 <211> 450  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

<400> 8

```

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1      5      10      15

```

```

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
      20                      25                      30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
      35                      40                      45
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
      50                      55                      60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
      65                      70                      75                      80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
      85                      90                      95
Arg Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr
      100                      105                      110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
      115                      120                      125
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
      130                      135                      140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
      145                      150                      155                      160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
      165                      170                      175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
      180                      185                      190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
      195                      200                      205
Asp His Lys Pro Ser Gln Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
      210                      215                      220
Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
      225                      230                      235                      240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
      245                      250                      255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
      260                      265                      270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
      275                      280                      285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
      290                      295                      300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
      305                      310                      315                      320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
      325                      330                      335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
      340                      345                      350
Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
      355                      360                      365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
      370                      375                      380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
      385                      390                      395                      400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
      405                      410                      415
Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
      420                      425                      430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
      435                      440                      445
Gly Lys
      450

```

<210> 9  
 <211> 214  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

5

<400> 9

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Arg	Tyr
			20					25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Ser	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Asn	Trp	Pro	Arg
			85						90				95		
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115					120					125			
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
	130					135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155				160	
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
			165						170					175	
Asn	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
		180						185					190		
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
		195					200					205			
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
	210														

10

<210> 10

<211> 152

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

<400> 10

Ala	Val	Gln	Gly	Pro	Glu	Glu	Thr	Val	Thr	Gln	Asp	Cys	Leu	Gln	Leu
1				5					10					15	
Ile	Ala	Asp	Ser	Glu	Thr	Pro	Thr	Ile	Gln	Lys	Gly	Ser	Tyr	Thr	Phe
		20						25					30		
Val	Pro	Trp	Leu	Leu	Ser	Phe	Lys	Arg	Gly	Ser	Ala	Leu	Glu	Glu	Lys
		35					40					45			
Glu	Asn	Lys	Ile	Leu	Val	Lys	Glu	Thr	Gly	Tyr	Phe	Phe	Ile	Tyr	Gly
	50					55					60				
Gln	Val	Leu	Tyr	Thr	Asp	Lys	Thr	Tyr	Ala	Met	Gly	His	Leu	Ile	Gln
65					70				75					80	
Arg	Lys	Lys	Val	His	Val	Phe	Gly	Asp	Glu	Leu	Ser	Leu	Val	Thr	Leu
				85				90					95		
Phe	Arg	Cys	Ile	Gln	Asn	Met	Pro	Glu	Thr	Leu	Pro	Asn	Asn	Ser	Cys
			100					105					110		
Tyr	Ser	Ala	Gly	Ile	Ala	Lys	Leu	Glu	Glu	Gly	Asp	Glu	Leu	Gln	Leu
		115					120					125			
Ala	Ile	Pro	Arg	Glu	Asn	Ala	Gln	Ile	Ser	Leu	Asp	Gly	Asp	Val	Thr
	130					135					140				
				Phe	Phe	Gly	Ala	Leu	Lys	Leu	Leu				
				145					150						

5      <210> 11  
         <211> 10  
         <212> PRT  
         <213> Secuencia artificial

10 <223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.  
<400> 11

Gly Gly Thr Phe Asn Asn Asn Ala Ile Asn  
1 5 10

15      <210> 12  
         <211> 17  
         <212> PRT  
         <213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.  
<400> 12

Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser Gln Asn Phe Gln  
1 5 10 15  
Gly

30      <210> 13  
         <211> 14  
         <212> PRT  
         <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

	Ser	Arg	Asp	Leu	Leu	Leu	Phe	Pro	His	His	Ala	Leu	Ser	Pro
	1				5					10				

5 <210> 14  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.  
 <400> 14

	Gln	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Ala	Ser
	1				5					10	

15 <210> 15  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.  
 <400> 15

	Gly	Lys	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser
	1				5		

25 <210> 16  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos identificada mediante técnicas de biología molecular.

35 <400> 16

	Ser	Ser	Arg	Asp	Ser	Ser	Gly	Asn	His	Trp	Val
	1				5				10		



# REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica para un anticuerpo monoclonal que comprende:
  - a. 200 mg/ml de anticuerpo monoclonal;
  - b. 10 mM de un agente amortiguador de histidina;
  - c. 115 mM de NaCl;
  - d. 25 mM de arginina; y
  - e. 0,01 % (p/v) de polisorbato 80; a pH 6,0; yen donde el anticuerpo monoclonal comprende cadenas pesadas y ligeras que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6 y 7.
2. La formulación farmacéutica según la reivindicación 1, en donde la formulación comprende:
  - a. 200 mg/ml de anticuerpo monoclonal;
  - b. 0,65 mg/ml de L-histidina;
  - c. 1,2 mg/ml de monoclórhidrato de L-histidina
  - d. 6,7 - 7,3 mg/ml de NaCl;
  - e. 5,3 mg/ml de clorhidrato de L-arginina; y
  - e. 0,1 mg/ml de polisorbato 80;a pH 6,0.
3. La formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que es estable al congelarse y descongelarse.
4. La formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para administración subcutánea o intramuscular.
5. La formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para administración subcutánea.
6. La formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en forma líquida, reconstituida, liofilizada o secada por aspersión.
7. La formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en forma líquida.
8. Un dispositivo de inyección que comprende la formulación farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
9. Un kit que comprende uno o más viales que contienen la formulación farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 e instrucciones para la administración subcutánea de la formulación farmacéutica a un paciente.
10. Un kit según la reivindicación 9 y que comprende además un dispositivo de inyección que comprende la formulación farmacéutica.
11. La formulación farmacéutica, el dispositivo de inyección o el kit según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno susceptible de tratamiento con un anticuerpo anti-BLyS.
12. La formulación farmacéutica para su uso según la reivindicación 11, en donde la formulación se administra una vez por semana.
13. La formulación farmacéutica, el dispositivo de inyección o el kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 11-12, en donde la formulación farmacéutica se coadministra de forma concomitante o secuencial con un corticosteroide.
14. La formulación farmacéutica, el dispositivo de inyección o el kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 11-13 para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en lupus eritematoso sistémico, vasculitis por anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA), nefritis lúpica, síndrome de Sjögren primario, trombocitopenia inmunitaria crónica, miastenia grave, macroglobulinemia de Waldenström sintomática, desensibilización inmunitaria de pacientes que esperan un trasplante de riñón, nefropatía membranosa, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, mieloma múltiple, esclerosis múltiple e insuficiencia renal.
15. La formulación farmacéutica, el dispositivo de inyección o el kit para su uso según una cualquiera de las

reivindicaciones 11-14 para su uso en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico.

16. La formulación farmacéutica, el dispositivo de inyección o el kit para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 11-14 para su uso en el tratamiento del síndrome de Sjögren.

5

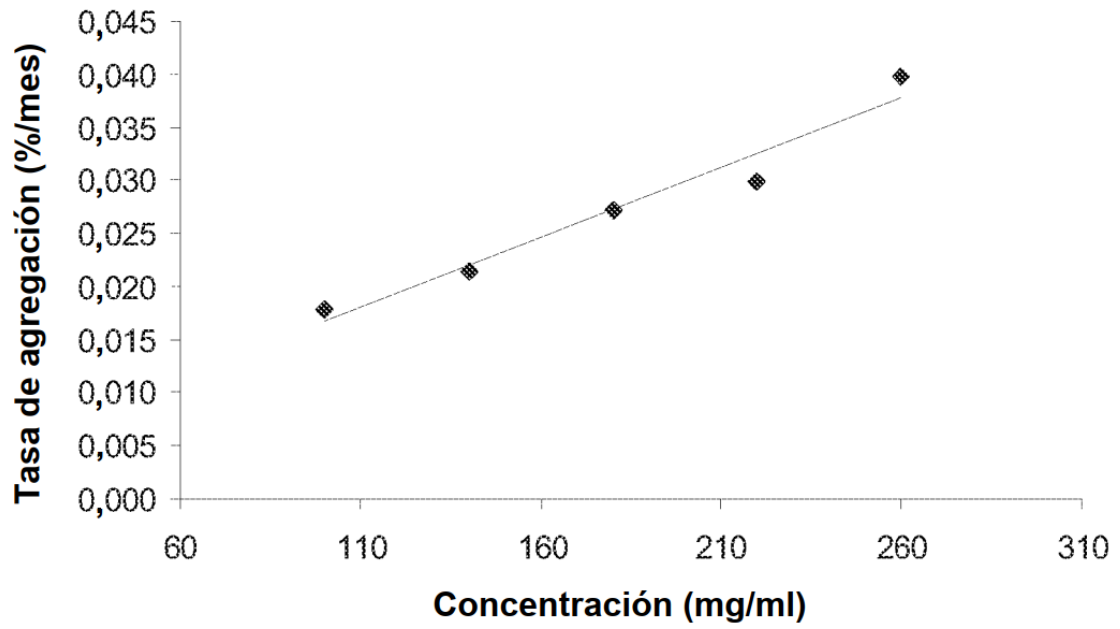


Figura 1

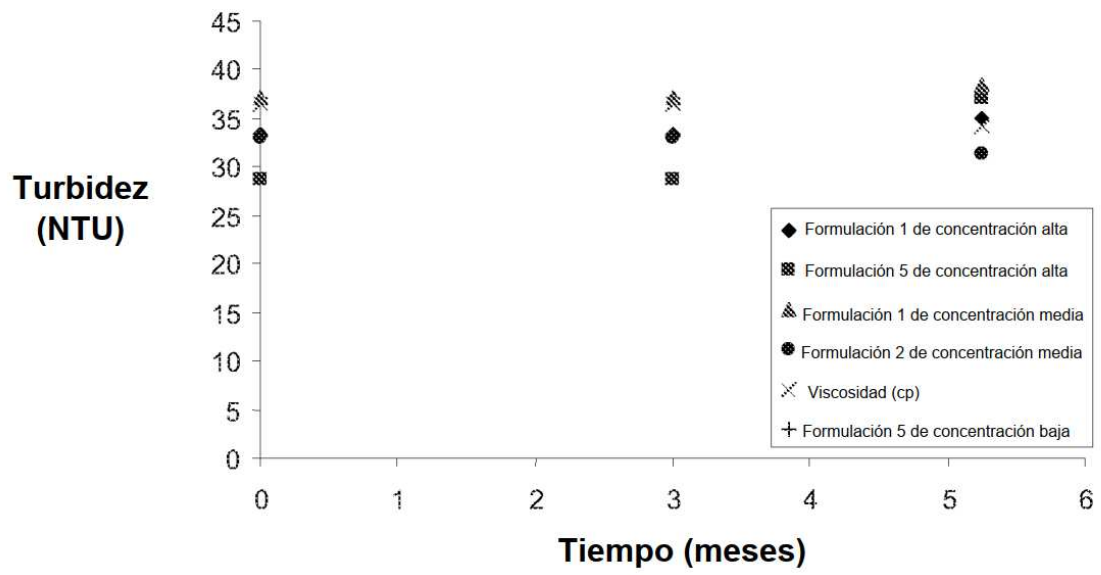


Figura 2

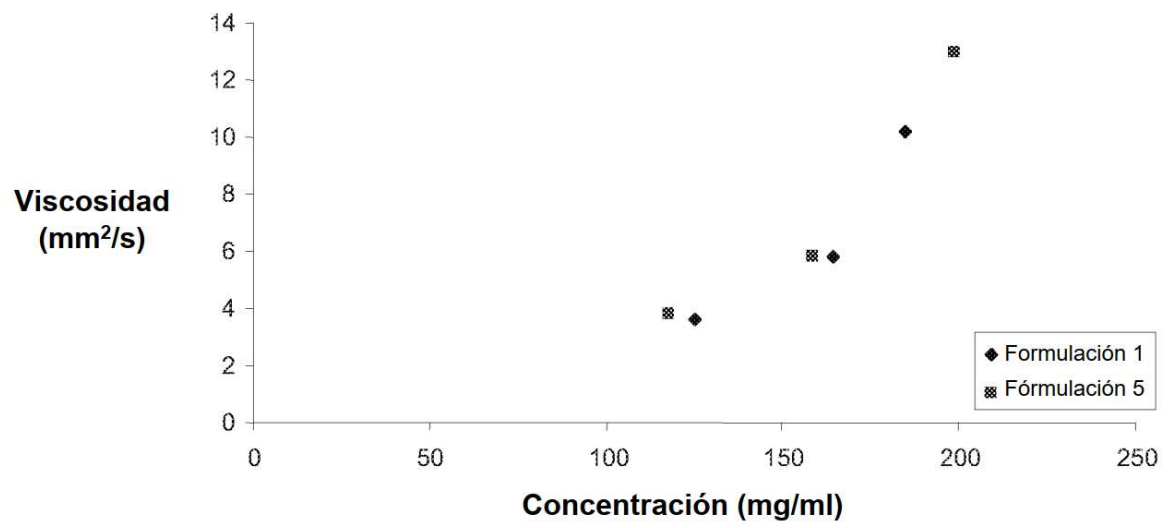


Figura 3

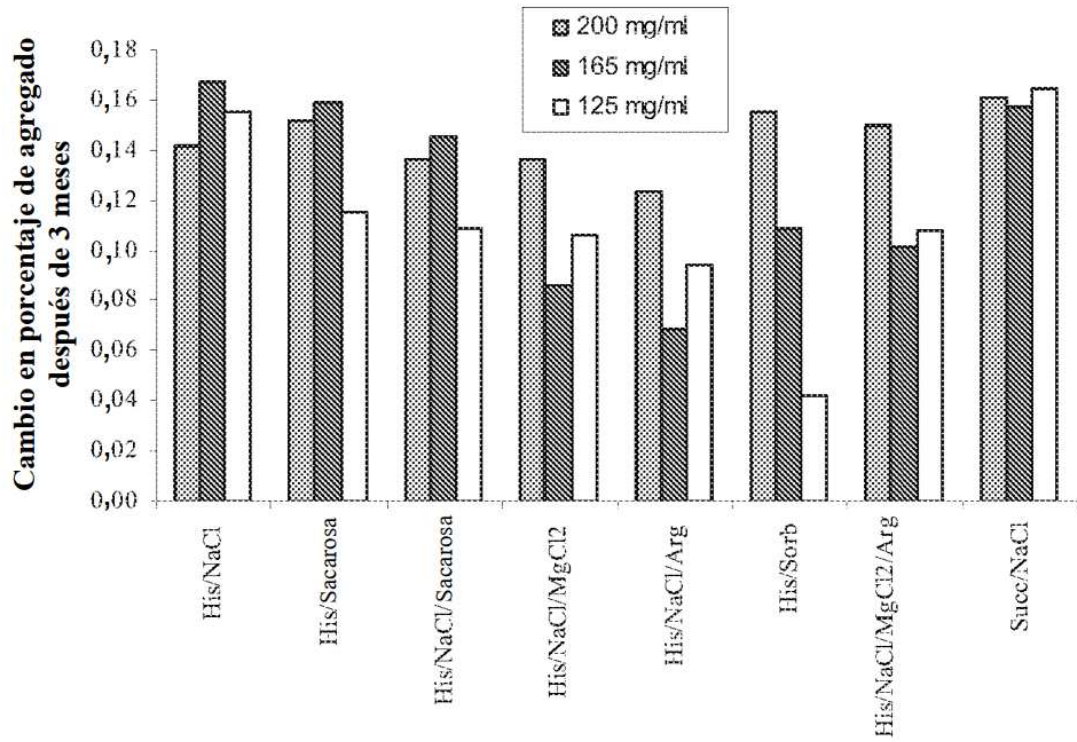


Figura 4

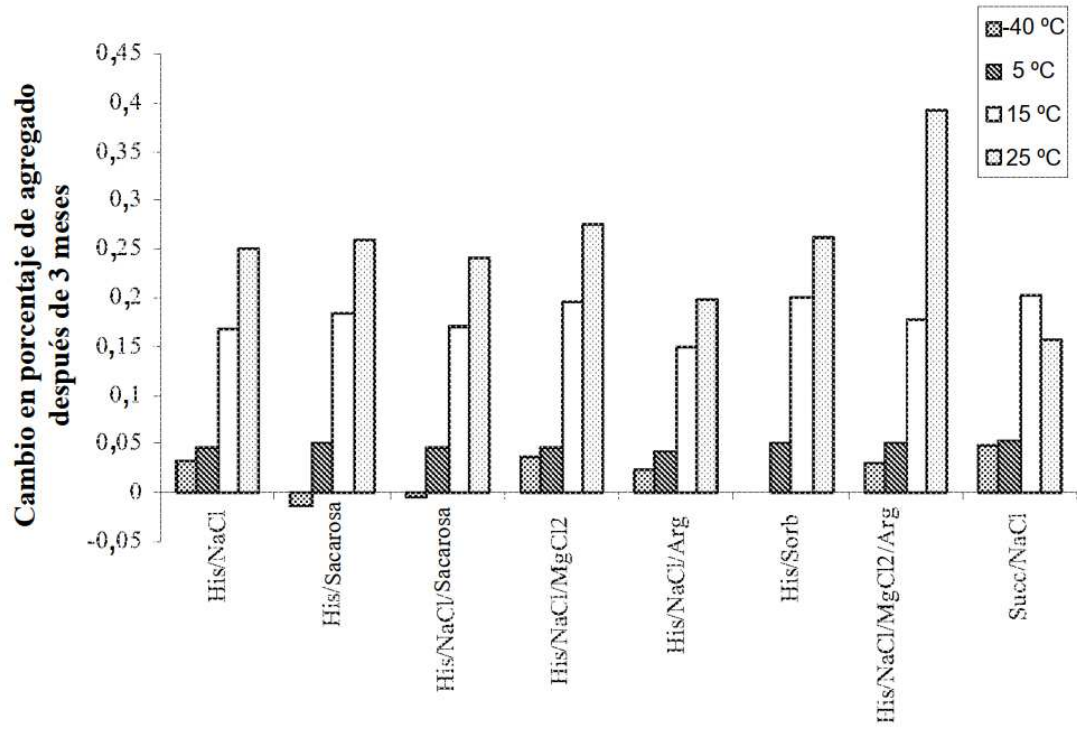


Figura 5

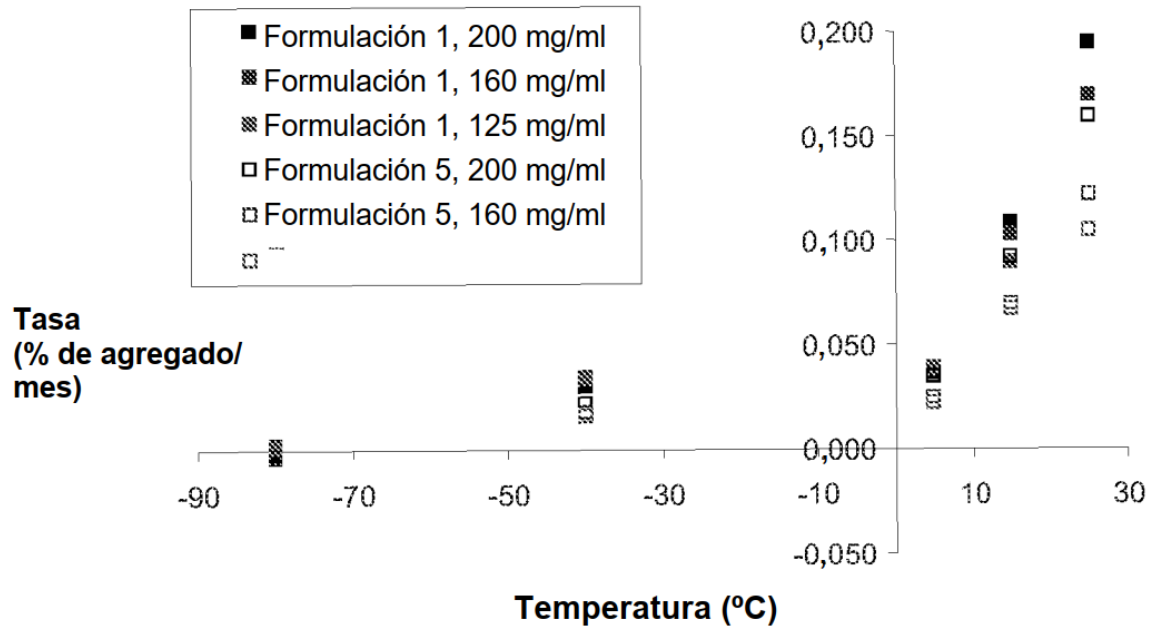


Figura 6



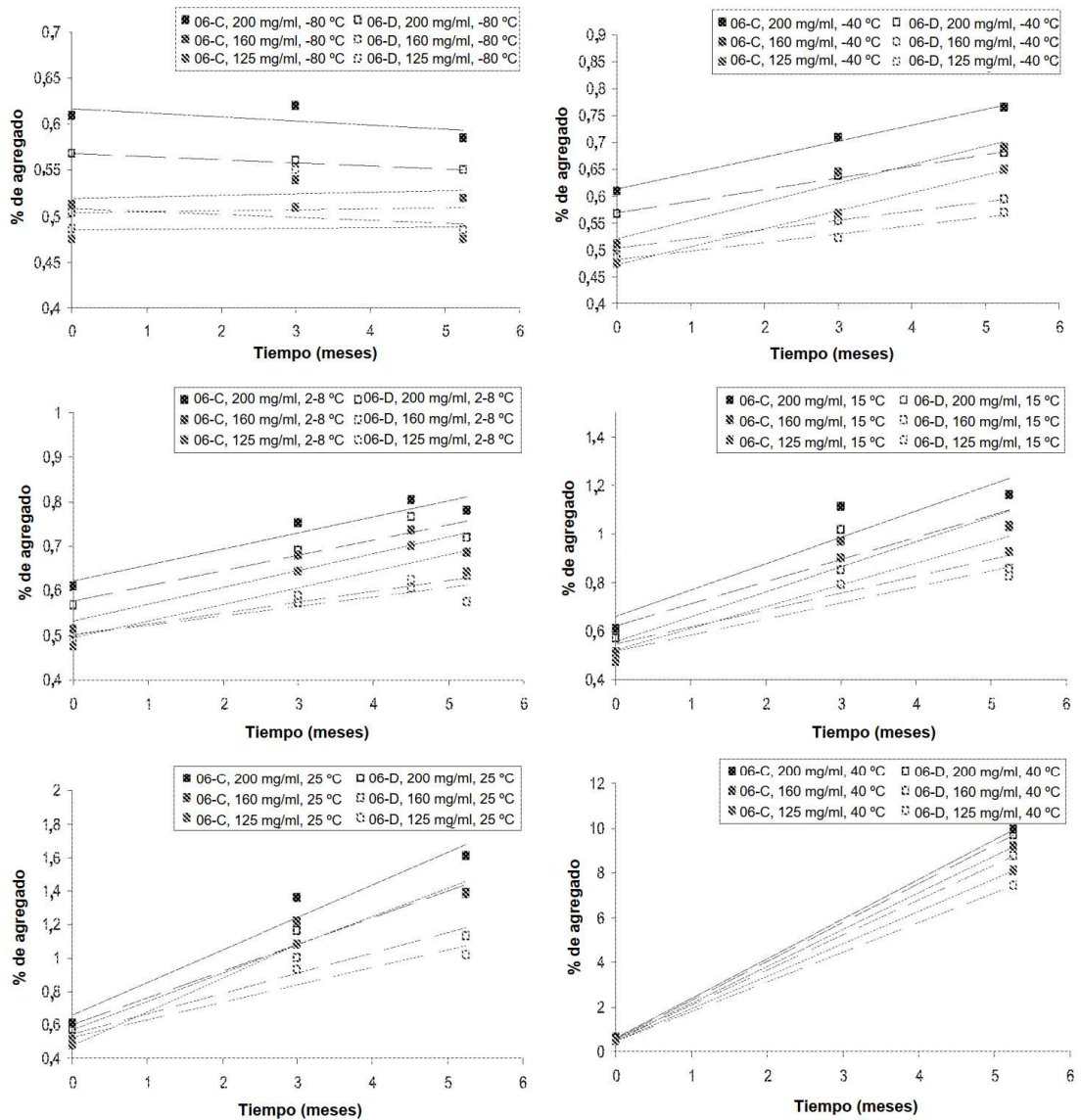


Figura 7

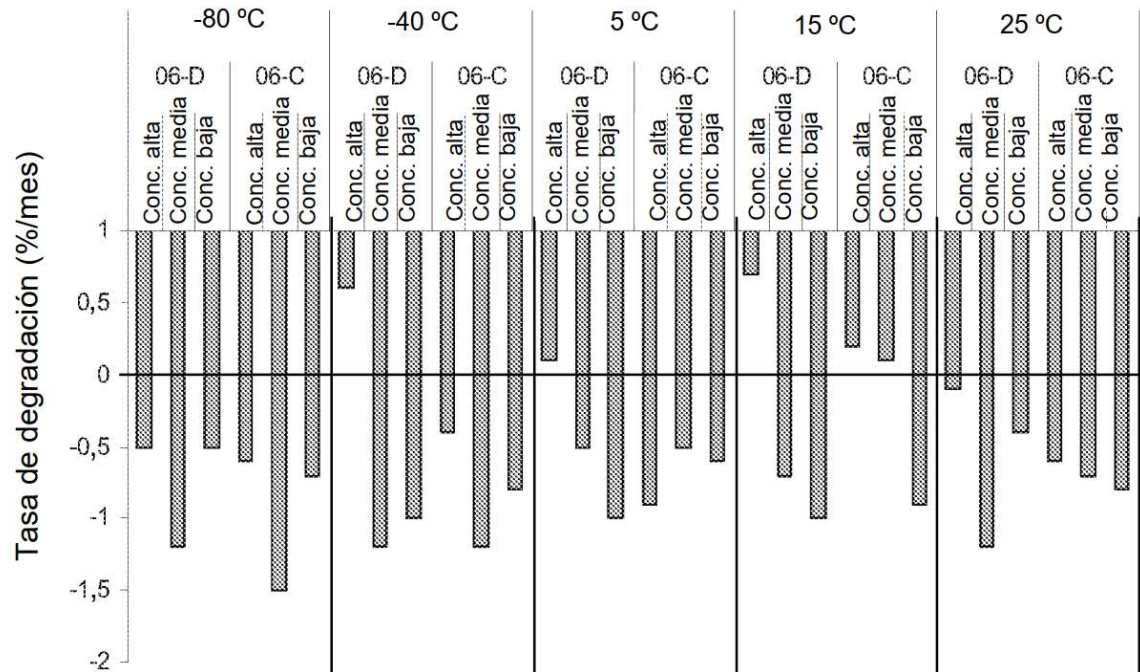


Figura 8

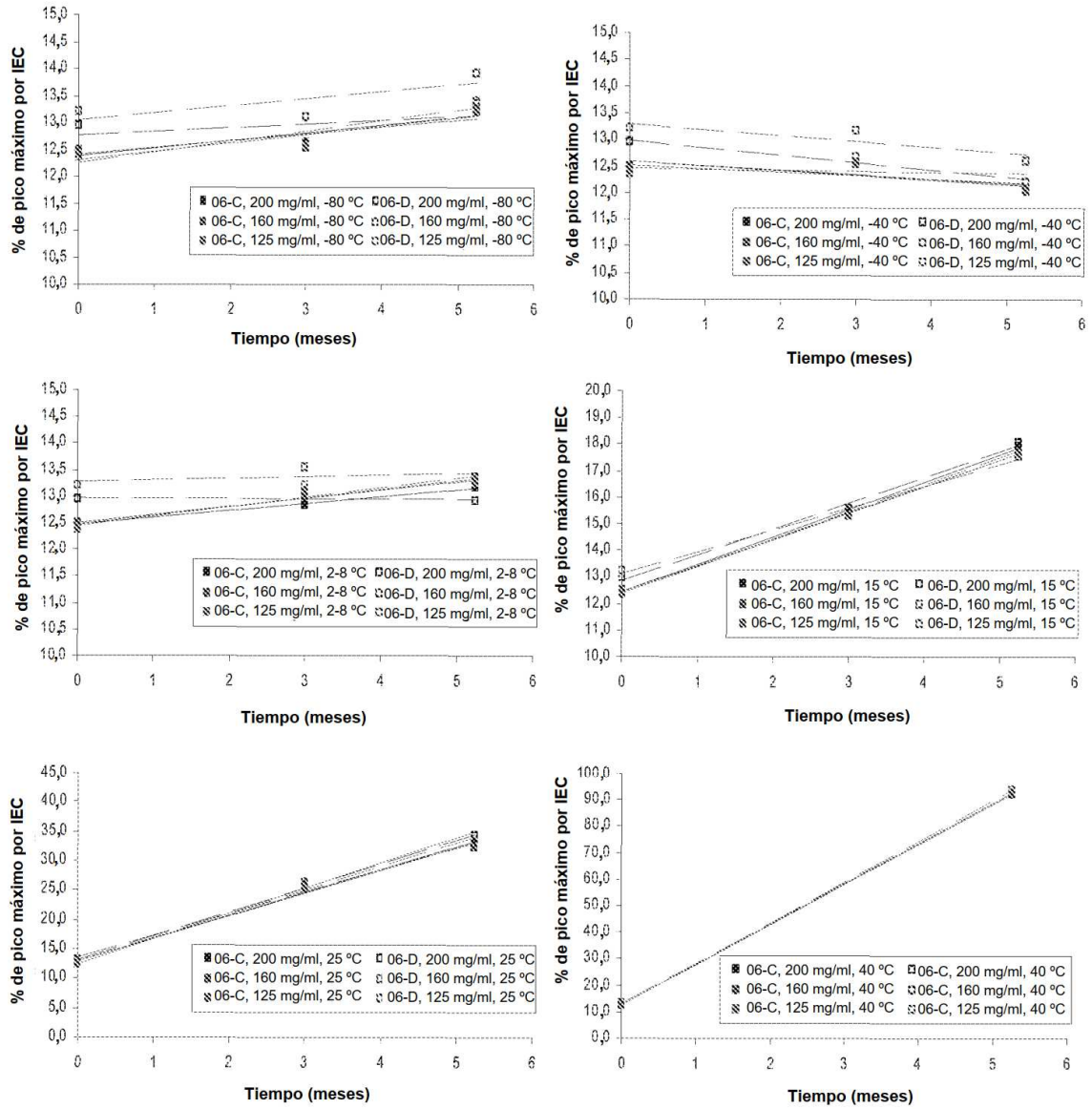


Figura 9

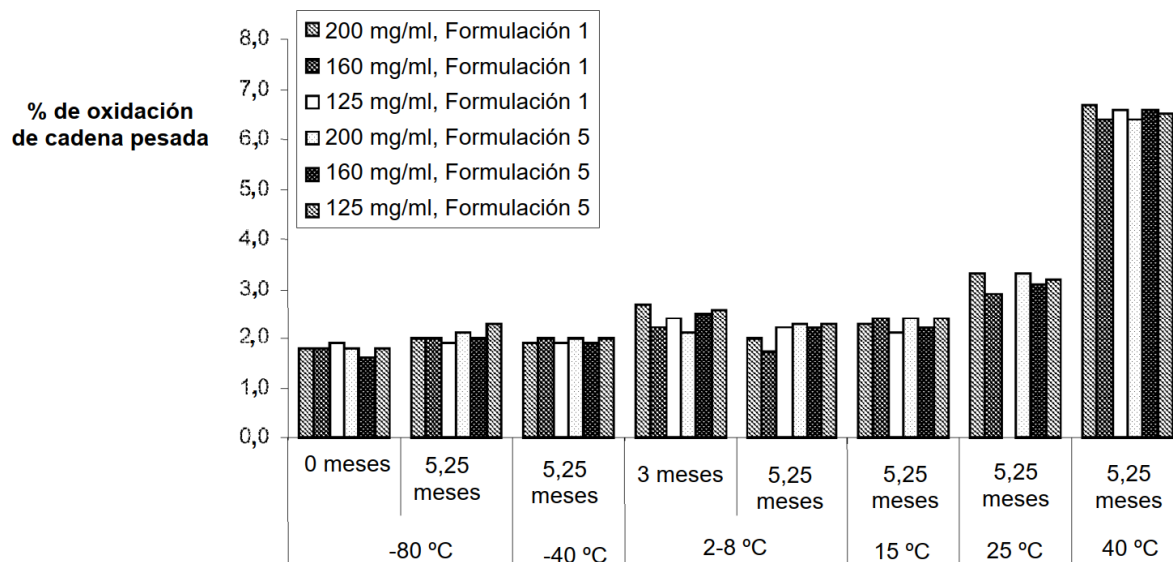


Figura 10

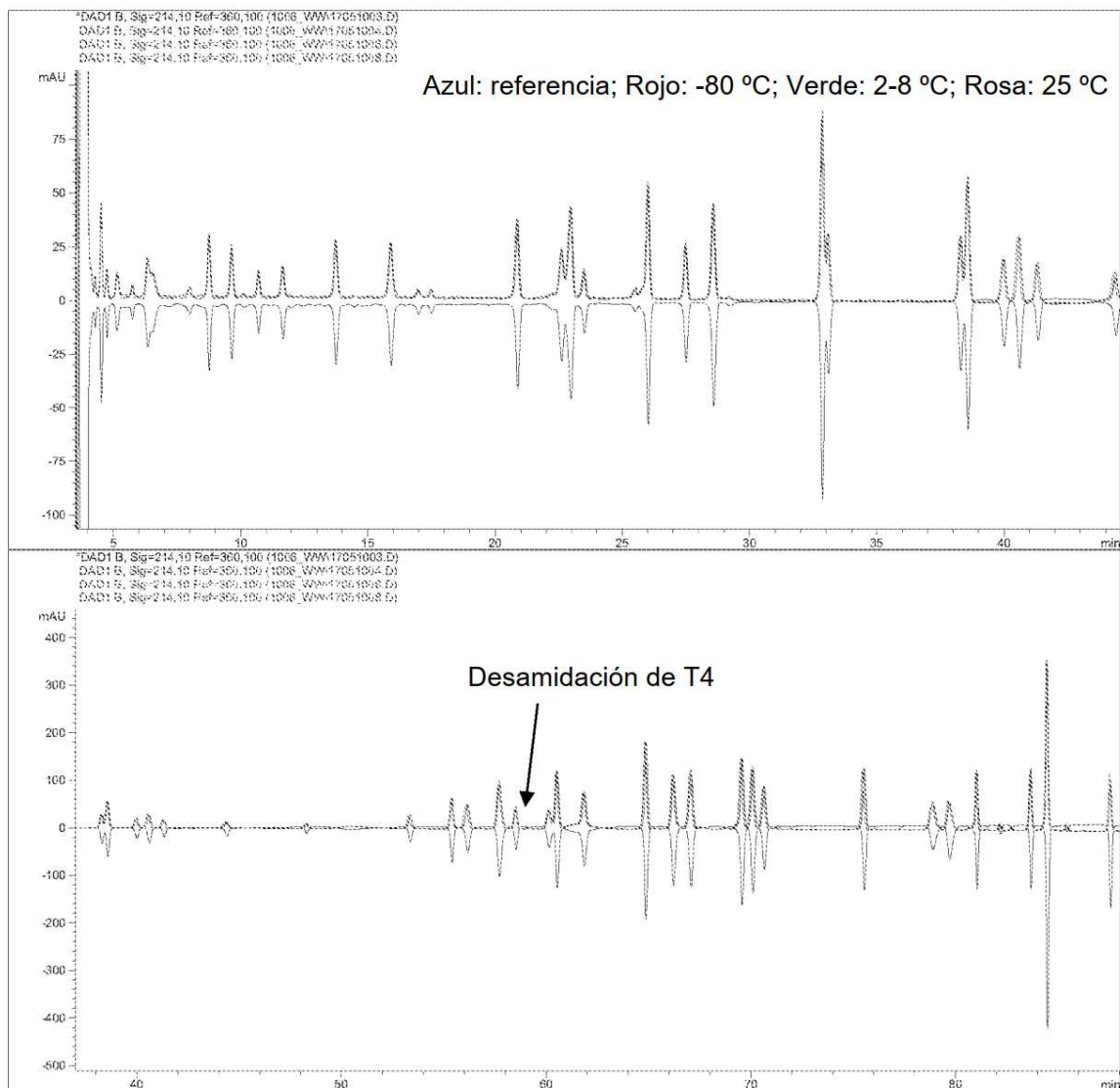


Figura 11

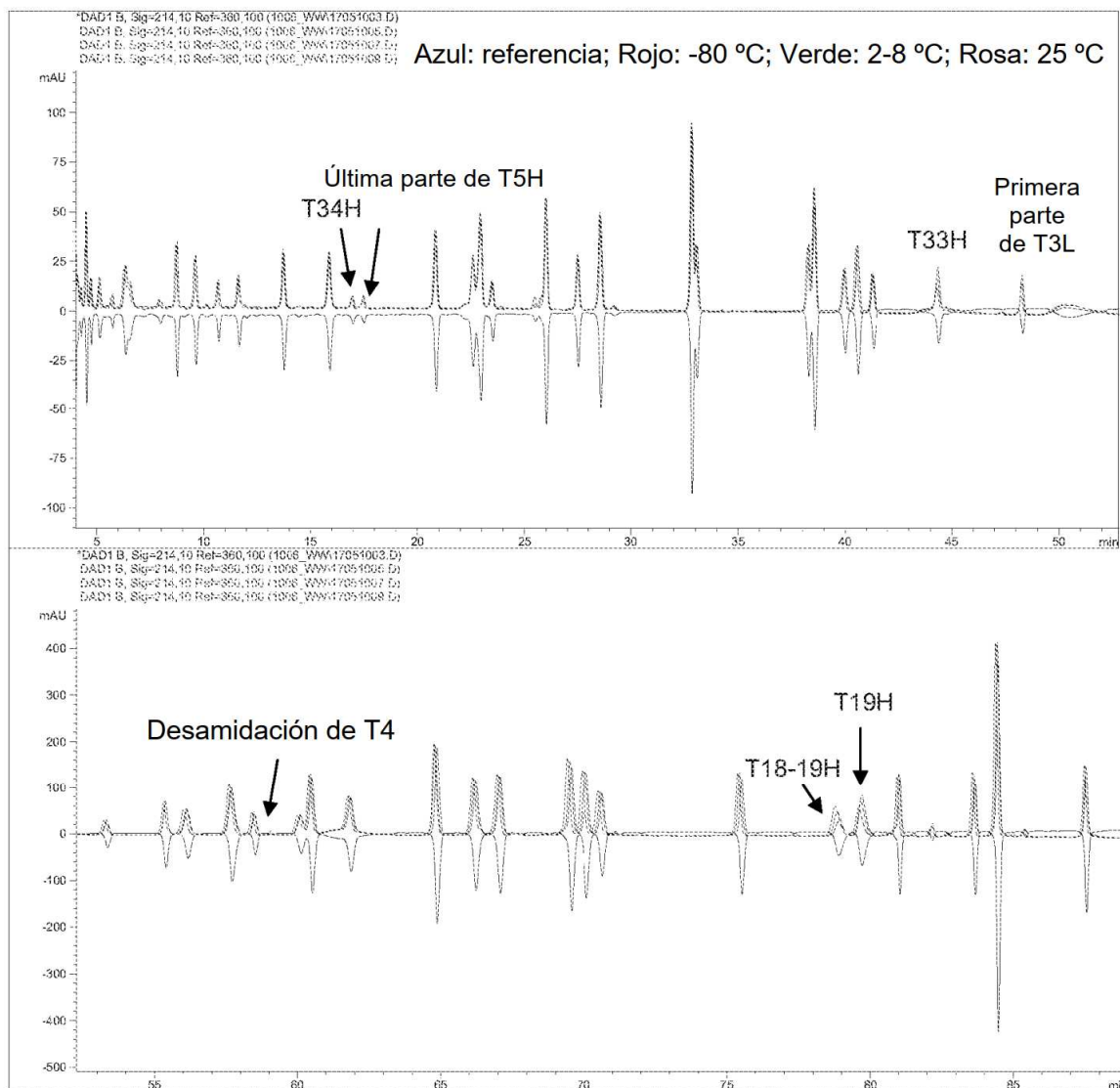


Figura 12

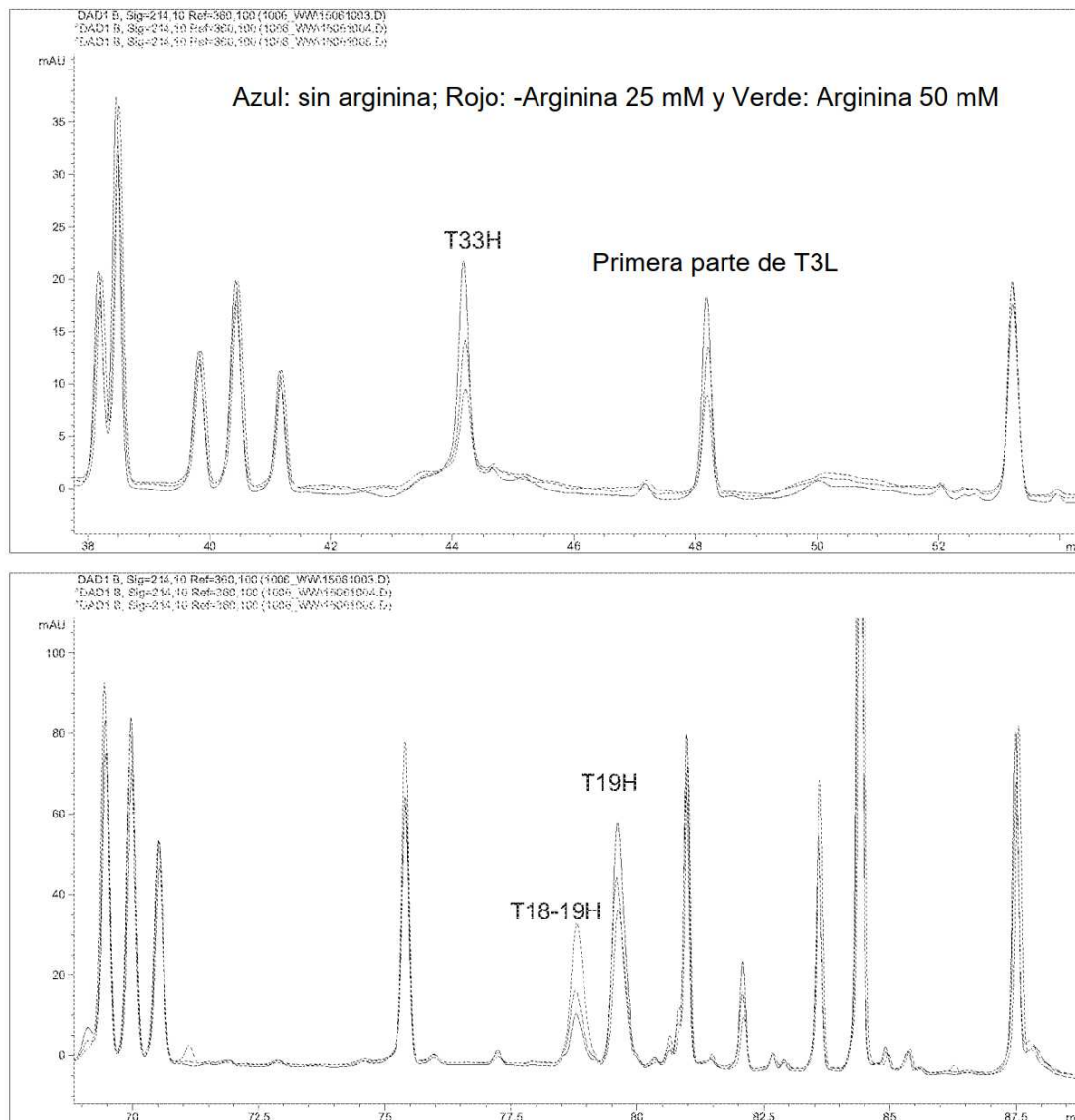
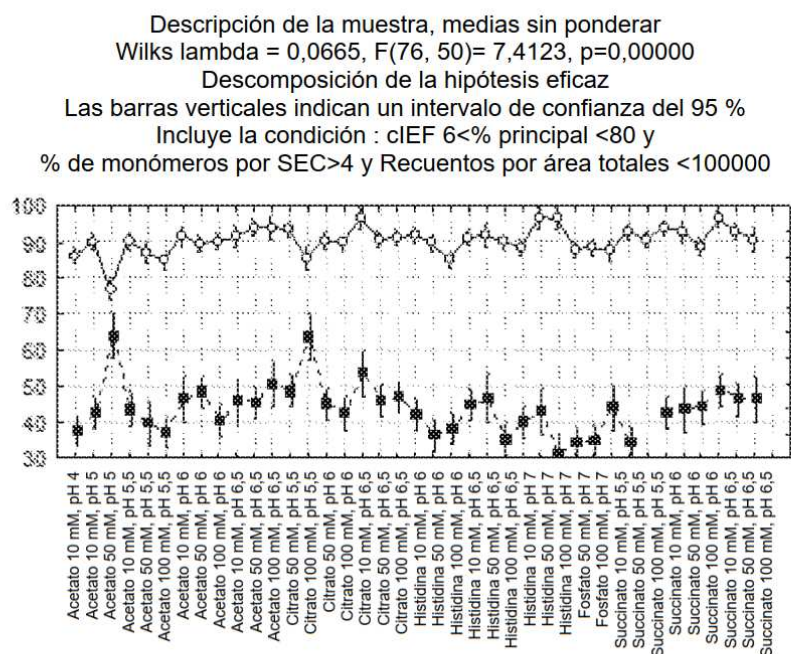


Figura 13





Descripción de la muestra

○ % de monómeros  
 ■ Media del % de cIEF

Figura 14



Programa Design Expert®

Monómero por SEC

● Puntos de diseño

■ B1 Acetato

▲ B2 Succinato

◆ B3 Histidina

X1 = A: pH

X2 = B: amortiguador

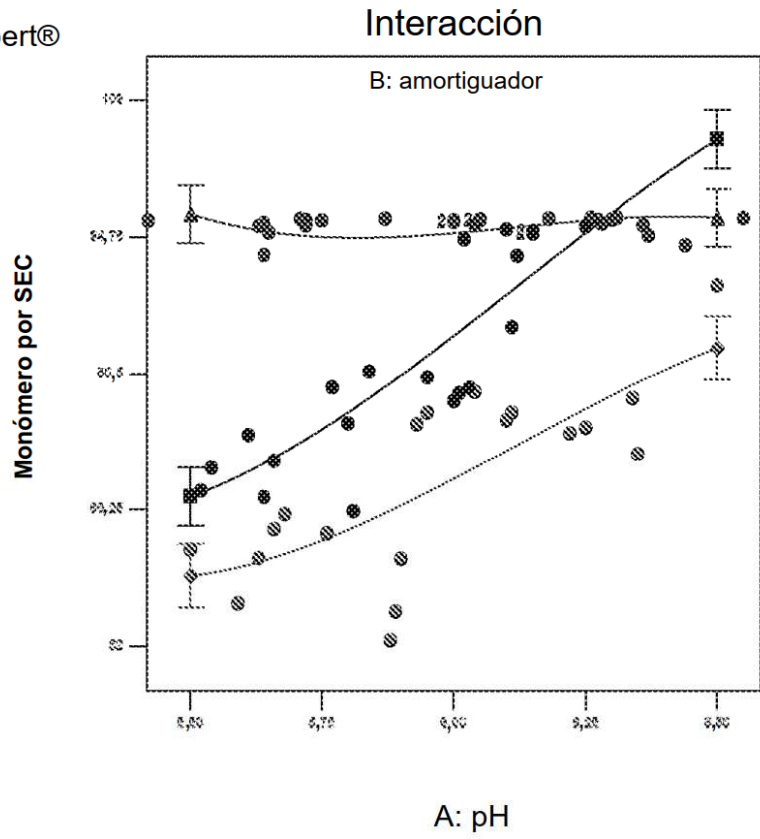


Figura 15

Programa Design Expert®

Monómero por SEC

• Puntos de diseño

■ B1 Acetato

▲ B2 Succinato

◆ B3 Histidina

X1 = A: pH

X2 = B: amortiguador

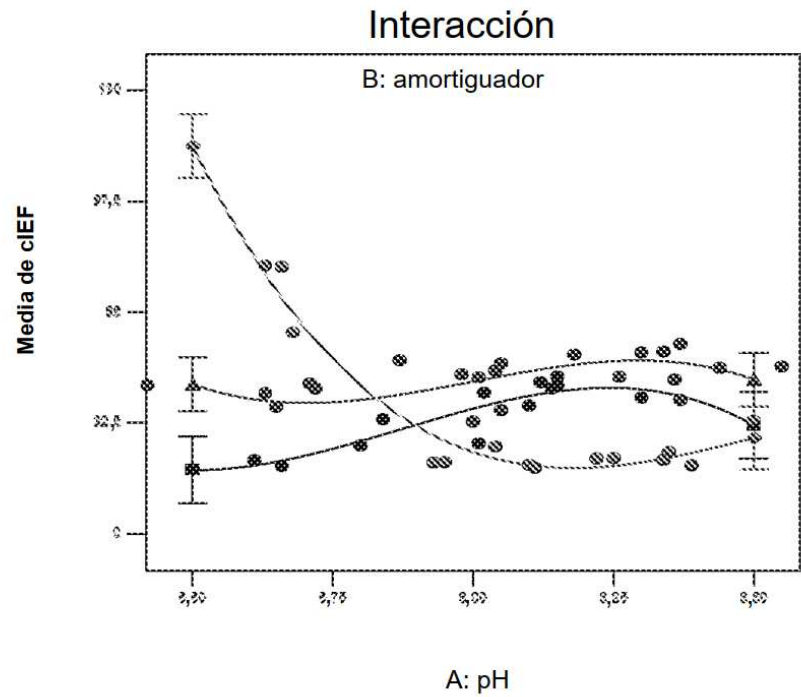


Figura 16

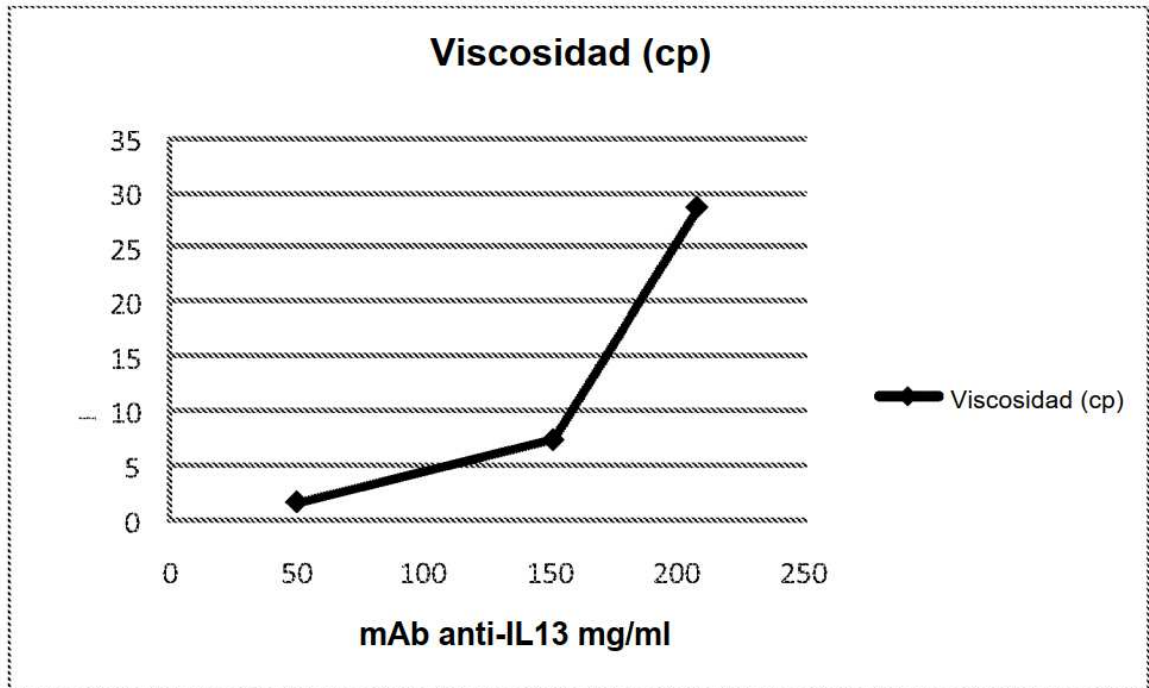
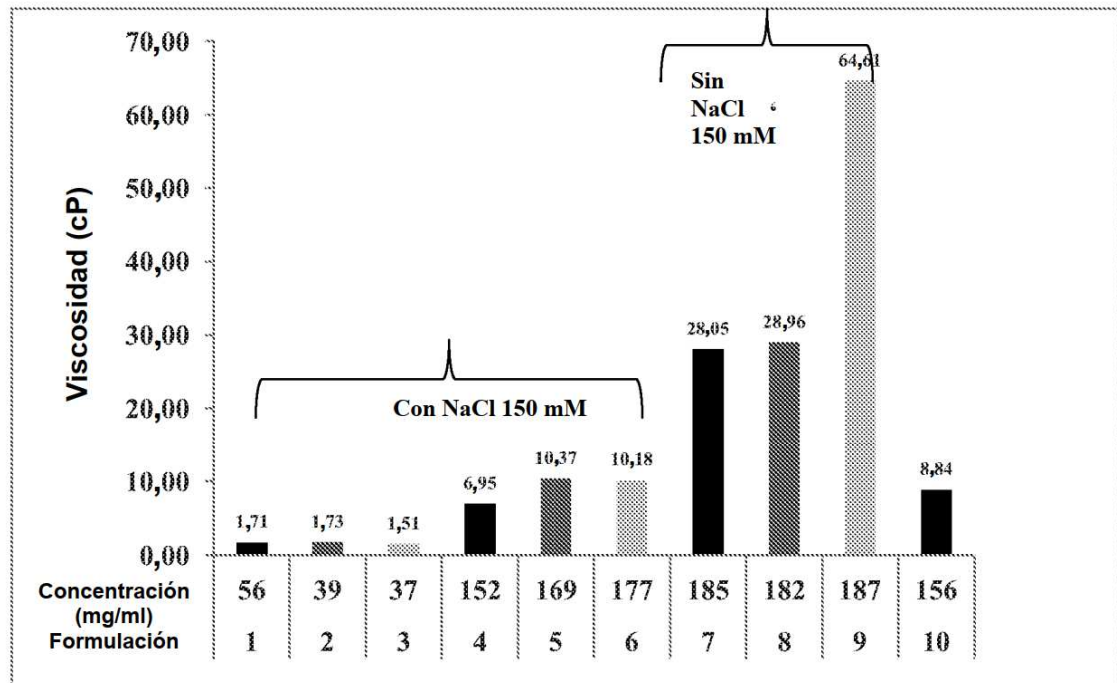


Figura 17



Negro- acetato  
 Gris-succinato  
 Gris suave-histidina

Figura 18

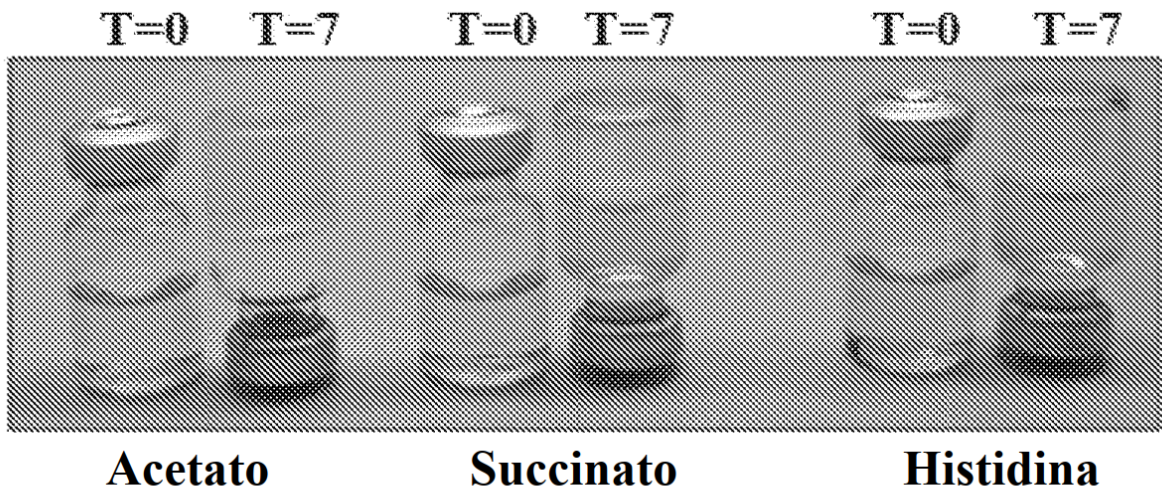


Figura 19

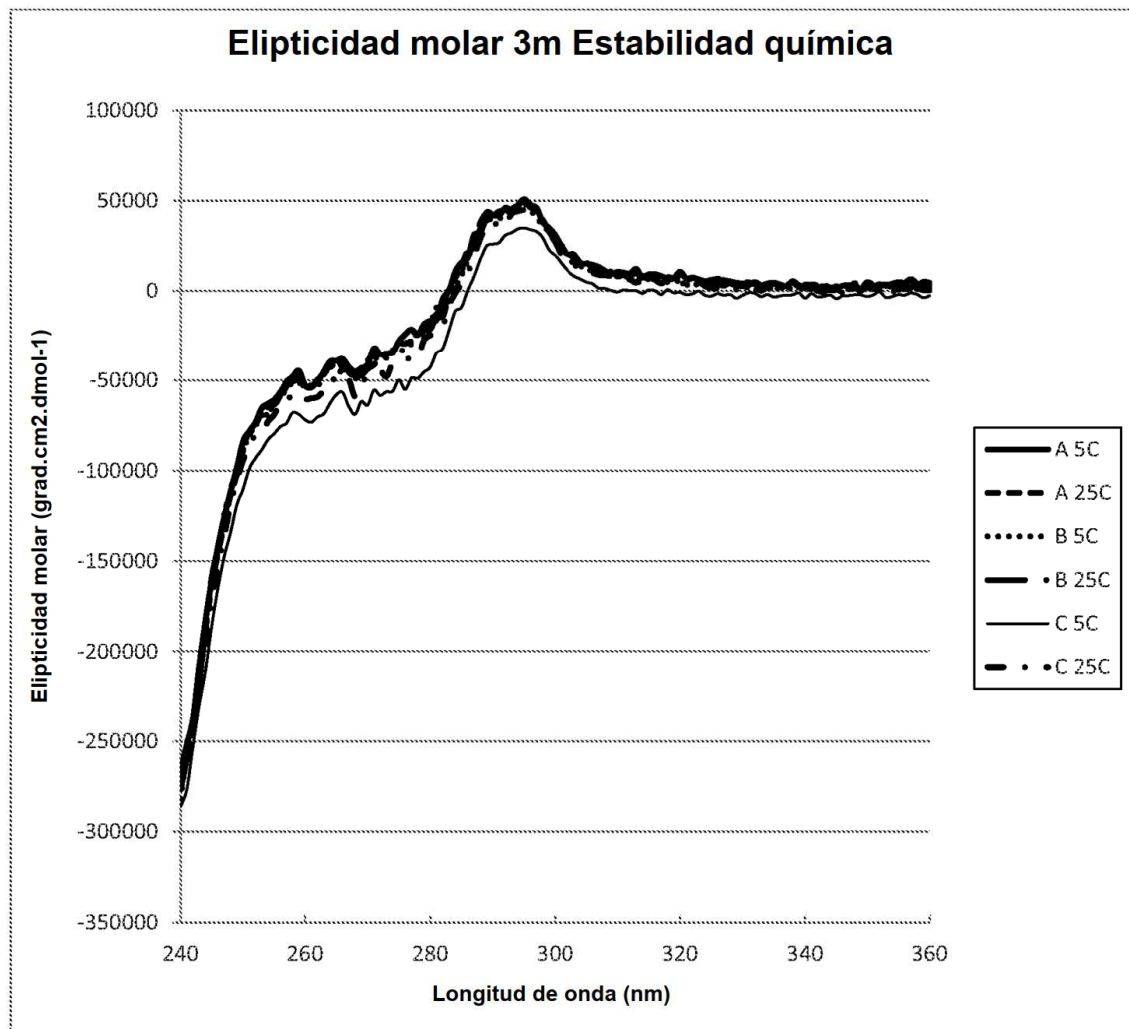


Figura 20