

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 3769781

DAL TITOLO:

"FORMULAZIONE ANTI-IFNAR1 STABILE"

*** **

DESCRIZIONE

Questa domanda incorpora per riferimento un Elenco delle sequenze inviato con la domanda tramite EFS-Web come file di testo dal titolo "IFNAR-350WO1_SL.txt" creato il 18 agosto 2016 e avente una dimensione di 2.490.

STATO DELL'ARTE DELL'INVENZIONE

Campo dell'invenzione

La presente invenzione riguarda una formulazione di anticorpi stabile, a bassa viscosità, in cui la formulazione comprende un'alta concentrazione di un anticorpo che si lega specificamente al recettore 1 per interferone alfa (IFNAR1) o un relativo frammento di legame ad antigene. In forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi comprende anifrolumab o un relativo frammento di legame ad antigene.

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi stabile comprendente da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento che si lega specificamente a IFNAR1, da circa 25 mM a circa 130 mM di lisina o di un sale di lisina; un eccipiente non carico; un tensioattivo; e un tampone di formulazione. In alcune forme di realizzazione, l'invenzione riguarda un contenitore, una forma di dosaggio e un kit. In alcune forme di

realizzazione, l'invenzione riguarda un metodo di realizzazione e di uso della formulazione di anticorpi stabile.

Stato dell'arte

Gli anticorpi sono stati usati nel trattamento di varie malattie e condizioni per via della loro specificità di riconoscimento di bersaglio, generando così risultati altamente selettivi a seguito di somministrazione sistemica. Affinché gli anticorpi rimangano efficaci, devono mantenere la loro attività biologica durante la loro produzione, purificazione, trasporto e stoccaggio. Sono state sviluppate nuove tecniche di produzione e purificazione per fornire grandi quantità di anticorpi monoclonali altamente purificati da produrre. Tuttavia, esistono ancora sfide per stabilizzare questi anticorpi per il trasporto e lo stoccaggio, ed esistono perfino ancora più sfide per fornire gli anticorpi in una forma di dosaggio adatta per la somministrazione.

Denaturazione, aggregazione, contaminazione, e formazione di particelle possono essere ostacoli significativi nella formulazione e nello stoccaggio di anticorpi. A causa dell'ampia varietà di anticorpi, non vi sono formulazioni o condizioni universali adatte per lo stoccaggio di tutti gli anticorpi. Le formulazioni ottimali di un anticorpo sono spesso specifiche per quell'anticorpo. Inoltre, le formulazioni di anticorpi potrebbero dover essere ulteriormente adattate a un anticorpo specifico a seconda della concentrazione dell'anticorpo, e/o di una proprietà fisica desiderata, ad esempio viscosità, della formulazione di anticorpi. Le formulazioni per lo stoccaggio di anticorpi sono spesso una parte

significativa del processo di ricerca e sviluppo per un anticorpo commerciale.

Sono stati proposti vari metodi per superare le sfide associate alla stabilità degli anticorpi. Per esempio, in alcuni casi, l'anticorpo viene spesso liofilizzato, e poi ricostituito poco prima della somministrazione. Tuttavia, la ricostituzione aggiunge un ulteriore passaggio al processo di somministrazione, e potrebbe introdurre contaminanti nella formulazione. Inoltre, gli anticorpi ricostituiti potrebbero subire aggregazione e formazione di particelle. Perciò, esiste una necessità di fornire formulazioni di anticorpi stabili che possano superare le sfide associate al trasporto e allo stoccaggio.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda una formulazione di anticorpi stabile, a bassa viscosità, in cui la formulazione comprende un'alta concentrazione di anticorpo anti-recettore 1 per interferone alfa o un relativo frammento di legame ad antigene. L'invenzione è definita dalle rivendicazioni. L'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi comprendente:

- a. 125 a 175 mg/mL di anifrolumab;
- b. dallo 0,02% all'0,08% di un tensioattivo, in cui il tensioattivo è selezionato dal gruppo costituito da polisorbato 20, polisorbato 80 e polossamero;

c. da 100 mM a 150 mM di un eccipiente non carico, in cui l'eccipiente non carico è selezionato dal gruppo costituito da glucosio, saccarosio, trealosio e glicerolo;

d. un tampone di formulazione; ed e. da 25 a 130 mM di un sale di lisina;

in cui la formulazione è ad un pH da 5,5 a 6,5, e in cui la formulazione ha una viscosità uguale o inferiore a 20 mPas a 25 °C

È anche descritta una formulazione di anticorpi comprendente da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di anifrolumab o di un relativo frammento di legame ad antigene; da circa 40 mM a circa 60 mM di lisina HCl; da circa 100 mM a circa 160 mM di trealosio diidrato; da circa 0,02% a circa 0,1% di polisorbato 80; da circa 15 mM a circa 35 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è ad un pH da circa 5,5 a 6,5.

In forme di realizzazione aggiuntive, l'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi comprendente da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL di anifrolumab; da circa 45 mM a circa 55 mM di lisina HCl; da circa 120 mM a circa 140 mM di trealosio diidrato; da circa 0,04% a circa 0,08% di polisorbato 80; e da circa 20 mM a circa 30 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è ad un pH da circa 5,8 a circa 6,1.

È anche descritta in alcune forme di realizzazione, l'invenzione che riguarda una formulazione di anticorpi comprendente:

circa 150 mg/mL di anifrolumab; circa 50 mM di lisina HCl;

circa 130 mM di trealosio diidrato; circa 0,05% di polisorbato 80; e circa 25 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è a un pH di circa 5,9.

È anche descritta in alcune forme di realizzazione, l'invenzione che riguarda una formulazione di anticorpi comprendente:

150 mg/mL di anifrolumab; 50 mM di lisina HCl; 130 mM di trealosio diidrato; 0,05% di polisorbato 80; 25 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è ad un pH di circa 5,9.

È anche descritta in forme di realizzazione aggiuntive, l'invenzione che riguarda una formulazione di anticorpi comprendente: 150 mg/mL di anifrolumab; 50 mM di lisina HCl; 130 mM di trealosio diidrato; 0,05% di polisorbato 80; 25 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è ad un pH di 5,9.

È anche descritta una forma di dosaggio unitario farmaceutica adatta per somministrazione parenterale ad un essere umano che comprende una qualsiasi delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento in un contenitore adatto.

È anche descritto un kit comprendente qualsiasi formulazione di anticorpi descritta nel presente documento, un contenitore come descritto nel presente documento, una forma di dosaggio unitario come descritta nel presente documento, o una siringa pre-riempita come descritta nel presente documento.

È anche descritto un metodo di produzione di una formulazione di anticorpi stabile, il metodo comprendendo: purificare un anticorpo da

circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di un anticorpo anti-IFNAR o di un relativo frammento di legame ad antigene, ponendo l'anticorpo isolato in una formulazione stabilizzante per formare la formulazione di anticorpi stabile, in cui la formulazione di anticorpi stabile risultante comprende da 100 mg/mL a 200 mg/mL dell'anticorpo;

da 25 mM a 130 mM di lisina o un sale di lisina; da 100 mM a 150 mM di eccipiente non carico; da 0,02% a 0,1% di un tensioattivo; e un tampone di formulazione.

È anche descritto un metodo di trattamento di una malattia o di un disturbo mediati da IFN di tipo I in un soggetto che ne ha bisogno, il metodo comprendendo la somministrazione di una quantità terapeuticamente efficace della formulazione di anticorpi di una qualsiasi delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

Allo scopo di illustrare l'invenzione, nei disegni sono raffigurate determinate forme di realizzazione dell'invenzione. Tuttavia, l'invenzione non è limitata alle disposizioni e agli strumenti precisi delle forme di realizzazione raffigurate nei disegni.

La **Figura 1** mostra la viscosità in funzione del pH in un metodo di screening basato su biglie ad alto rendimento.

La **Figura 2** mostra la viscosità in funzione della concentrazione di lisina HCl usando un metodo di screening basato su biglie ad alto rendimento.

La **Figura 3** mostra la viscosità in funzione della concentrazione di anticorpo (anifrolumab) per formulazioni contenenti 25 mM di istidina/istidina-HCl, 25 mM di lisina, 130 mM di trealosio a pH 6,0 (cerchi); e 25 mM di istidina/istidina-HCl, 50 mM di lisina, 130 mM di trealosio a pH 6,0 (rombi).

La **Figura 4** mostra la viscosità in funzione della concentrazione di anticorpo (anifrolumab) per soluzioni contenenti: 0 mM di lisina (rombi); 5 mM di lisina (quadrati); 12,5 mM di lisina (triangoli); 25 mM di lisina (x); e 50 mM di lisina (asterischi).

La **Figura 5** mostra la viscosità in funzione della concentrazione di lisina HCl per soluzioni contenenti: 135 mg/mL di anifrolumab (rombi); 150 mg/mL di anifrolumab (quadrati); e 180 mg/mL di anifrolumab (triangoli).

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Definizioni

Prima di descrivere la presente invenzione in dettaglio, resta inteso che questa invenzione non è limitata a composizioni o passaggi di processo specifici, in quanto possono variare. Va notato che, come usate in questa descrizione e nelle rivendicazioni allegate, le forme singolari "un/uno", "un'/una" e "il/lo/la" includono referenti plurali a meno che il contesto non affermi chiaramente altro. I termini "un/un'" (o "uno/una"), nonché i termini "uno/una o più" e "almeno uno/una" possono essere usati nel presente documento in modo intercambiabile.

Per di più, "e/o" laddove usato nel presente documento deve essere considerato come divulgazione specifica di ciascuno dei due componenti o caratteristiche, con o senza l'altro. Perciò, il termine "e/o" come usato in una frase come "A e/o B" nel presente documento intende includere "A e B", "A o B", "A" (da solo), e "B" (da solo). Analogamente, l'espressione "e/o" come usata in una locuzione come "A, B, e/o C" è intesa contemplare ciascuna delle seguenti forme di realizzazione: A, B, e C; A, B, o C; A o C; A o B; B o C; A e C; A e B; B e C; A (da solo); B (da solo); e C (da solo).

In tutta la presente divulgazione, tutte le espressioni di percentuale, rapporto, e simili sono "in peso" se non diversamente indicato. Come usato nel presente documento, "in peso" è sinonimo del termine "in massa", e indica che un rapporto o una percentuale definiti nel presente documento vengono eseguiti in base al peso piuttosto che al volume, allo spessore, o a qualche altra misura.

Il termine "circa" viene usato nel presente documento per indicare approssimativamente, dell'ordine di, all'incirca, o intorno. Quando il termine "circa" viene usato insieme a un intervallo numerico, esso modifica quell'intervallo estendendo gli estremi al di sopra e al di sotto dei valori numerici elencati. In generale, il termine "circa" viene usato nel presente documento per modificare un valore numerico al di sopra e al di sotto del valore dichiarato di una varianza del 10%.

Se non diversamente definiti, tutti i termini tecnici e scientifici usati nel presente documento hanno lo stesso significato comunemente

inteso da un tecnico del ramo di ordinaria competenza alla quale questa invenzione è correlata. Ad esempio, il Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2a edizione., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, terza edizione., 1999, Academic Press; e Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press, forniscono al tecnico del ramo un dizionario generale di molti dei termini usati in questa invenzione.

Unità, prefissi, e simboli sono indicati nella loro forma accettata del Sistema internazionale delle unità di misura (SI). Gli intervalli numerici sono inclusivi dei numeri che definiscono l'intervallo. Salvo altrimenti indicato, le sequenze amminoacidiche sono scritte da sinistra a destra secondo un orientamento da ammino a carbossi. I titoli forniti nel presente documento non sono limitazioni dei vari aspetti o forme di realizzazione dell'invenzione, che possono essere ottenuti mediante riferimento alla descrizione nel suo complesso. Di conseguenza, i termini definiti immediatamente di seguito sono definiti in modo più completo con riferimento alla descrizione nella sua interezza.

È inteso che ogni volta che nel presente documento vengono descritte forme di realizzazione con l'espressione "comprendente/comprendendo" sono inoltre fornite forme di realizzazione altrimenti analoghe descritte in termini di "consistente/consistendo di" e/o "consistente/consistendo essenzialmente di".

Nel presente documento si fa riferimento ad amminoacidi o mediante i loro simboli a tre lettere comunemente noti o mediante i simboli a una lettera raccomandati dalla commissione per la nomenclatura biochimica di IUPAC-IUB. Analogamente, ai nucleotidi viene fatto riferimento con i loro codici a una lettera comunemente accettati.

Come usato nel presente documento, il termine "forza di iniezione" è la quantità di pressione (in Newton) richiesta per far passare la formulazione di anticorpi attraverso un ago.

Come usato nel presente documento, il termine "malattia autoimmune" si riferisce ad un disturbo, uno stato o una condizione di malattia associati alla formazione di autoanticorpi reattivi verso le cellule proprie del paziente per formare complessi antigene-anticorpo. Il termine "malattia autoimmune" include condizioni come, ad esempio, il lupus eritematoso sistemico, nonché quei disturbi che sono innescati da uno specifico agente esterno, ad esempio, la febbre reumatica acuta. Esempi di disturbi autoimmuni includono, ma non sono limitati a, anemia emolitica autoimmune, epatite autoimmune, malattia di Berger, sindrome da stanchezza cronica, morbo di Crohn, dermatomiosite, fibromialgia, morbo di Graves, tiroidite di Hashimoto, porpora trombocitopenica idiopatica, lichen planus, sclerosi multipla, miastenia grave, psoriasi, febbre reumatica, artrite reumatoide, sclerodermia, sindrome di Sjogren, lupus eritematoso sistemico, diabete di tipo 1, colite ulcerosa, e vitiligine.

In aspetti specifici, la malattia autoimmune è lupus eritematoso sistemico (LES), sclerodermia (SSe), miosite, o nefrite lupica.

I termini "recettore-1 per interferone alfa", "IFNAR1" e "IFNAR" sono usati in modo intercambiabile, e includono varianti, isoforme, omologhi di specie di IFNAR1 umano, e analoghi aventi almeno un epitopo comune con IFNAR1. Si veda, ad esempio, de Weerd et al., J. Biol. Chem. 282:20053-20057 (2007). Di conseguenza, anticorpi umani specifici per IFNAR1 umano, in determinati casi, reagiscono in modo crociato con IFNAR1 da specie diverse dall'uomo, o altre proteine che sono strutturalmente correlate ad IFNAR1 umano (ad esempio, omologhi di IFNAR1 umano). In altri casi, gli anticorpi possono essere completamente specifici per IFNAR1 umano e non esibire reattività crociata di specie o altri tipi. La sequenza di cDNA completa di IFNAR1 umano ha il numero di accesso Genbank NM 000629.

I termini "interferone di tipo I" o "IFN di tipo I", come usati nel presente documento, si riferiscono a membri della famiglia di molecole di interferone di tipo I che sono ligandi per IFNAR1 (ossia, membri della famiglia di molecole di interferone di tipo I che sono in grado di legarsi a IFNAR1). Esempi di ligandi di interferone di tipo I sono interferone alfa 1, 2a, 2b, 4, 5, 6, 7, S, 10, 14, 16, 17, 21, interferone beta e interferone omega.

Il termine "malattia o disturbo mediati da IFN di tipo I" si riferisce a qualsiasi malattia, disturbo o condizione inducibile da IFN di tipo I o IFN α , che esibisce un profilo di espressione di marcatore

farmacodinamico ("PD") o una firma genica (IFN di tipo I GS) di IFN di tipo I. Un profilo di espressione di marcatore PD e una firma genica saranno considerati equivalenti. Queste malattie, disturbi o condizioni includono quelli con una componente autoimmune come lupus eritematoso sistemico (LES), sclerodermia, nefrite lupica, o miosotide. Una malattia o un disturbo mediati da IFN di tipo I possono essere trattati somministrando una piccola molecola o un agente biologico, ad esempio un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene. Se l'agente terapeutico è un agente biologico, può essere un anticorpo specifico per qualsiasi sottotipo di IFN di tipo I o IFN α . Per esempio, l'anticorpo può essere specifico per uno qualsiasi tra IFN α 1, IFN α 2, IFN α 4, IFN α 5, IFN α 6, IFN α 7, IFN α 8, IFN α 10, IFN α 14, IFN α 17, IFN α 21, IFN β , o IFN ω . In alternativa, l'anticorpo può essere specifico per qualsiasi due, qualsiasi tre, qualsiasi quattro, qualsiasi cinque, qualsiasi sei, qualsiasi sette, qualsiasi otto, qualsiasi nove, qualsiasi dieci, qualsiasi undici, qualsiasi dodici sottotipi di IFN di tipo I o IFN α . Se l'anticorpo è specifico per più di un sottotipo di IFN di tipo I, l'anticorpo può essere specifico per IFN α 1, IFN α 2, IFN α 4, IFN α 5, IFN α 8, IFN α 10, e IFN α 21; oppure può essere specifico per IFN α 1, IFN α 2, IFN α 4, IFN α 5, IFN α 8, e IFN α 10; oppure può essere specifico per IFN α 1, IFN α 2, IFN α 4, IFN α 5, IFN α 8, e IFN α 21; oppure può essere specifico per IFN α 1, IFN α 2, IFN α 4, IFN α 5, IFN α 10 e IFN α 21. Un agente terapeutico che modula l'attività di IFN α può neutralizzare l'attività di IFN α . Una malattia o un disturbo mediati da IFN di tipo I possono anche essere trattati con anticorpi specifici per un

recettore per IFN di tipo I, ad esempio IFNAR1. In alcuni aspetti, anticorpi anti-IFNAR1 possono reagire in modo crociato con IFNAR1 di specie diverse dall'uomo. In altri aspetti, gli anticorpi anti-IFNAR1 possono essere specifici solo per IFNAR1, e non esibire reattività crociata di specie o altri tipi. In alcuni aspetti, gli anticorpi anti-IFNAR1 esibiscono affinità di legame ridotte per ligandi FC ed hanno funzione effettrice (ADCC e/o CDC) ridotta o eliminata, legame ridotto o eliminato a ligandi Fc, o tossicità ridotte o eliminate rispetto ad un anticorpo non modificato.

Il termine "MEDI-546" si riferisce ad una versione modificata da Fc dell'anticorpo anti-IFNAR 9D4 descritto nel brevetto statunitense n. 7,662,381. I termini "MEDI-546" e "anifrolumab" sono usati in modo intercambiabile nel presente documento. La sequenza di MEDI-546 è descritta in U.S. 2011-0059078. MEDI-546 comprende una combinazione di tre mutazioni: L234F, L235E e P331S, in cui la numerazione è conforme all'indice EU come stabilito in Kabat, introdotte nella cerniera inferiore e nel dominio CH2 di IgG 1 umana, che causano una diminuzione del loro legame a FcyRI (CD64), FcyRIIA (CD32A), FcyRIII (CD16) e C1q umani. Si vedano, ad esempio, U.S. 2011/0059078 e Oganessian et al. Acta Crystallographica D 64:700-704 (2008), che sono qui incorporati per riferimento nella loro interezza. Le sequenze di VH e Vk di MEDI-546 sono mostrate in TABELLA 1.

TABELLA 1

MEDI-546 VH (SEQ ID NO:1)	
---------------------------	--

	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYIFTNYWIAWVRQMPGKC LESMGIIYPGDSDIRYSPSFQGGQVTISADKSITTAYLQWSSLKAS DTAMYYCARHDIEGFDYWGRGTLTVSS
MEDI-546 V _k (SEQ ID NO:2)	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSFFAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRLSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQ QYDSSAITFGQGTRLEIK

Il termine "anticorpo o relativo frammento di legame ad antigene che modula l'attività di IFN di tipo I" si riferisce ad un anticorpo (si veda sotto) nel suo senso più ampio in grado di modulare l'attività di IFN di tipo I in un paziente. Il termine "modulante" come usato nel presente documento include l'inibizione o la soppressione di un'attività di IFN di tipo I nonché l'induzione o il potenziamento di un'attività di IFN di tipo I. In aspetti specifici, l'attività di IFN di tipo I è attività di IFN α . In alcuni aspetti, la soppressione di un tipo IFN GS è una soppressione di un'attività di IFN di tipo I. In alcuni aspetti, l'anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene è monoclonale. In aspetti specifici, l'anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene che modula l'attività di IFN di tipo I si lega specificamente a un recettore per IFN di tipo I come IFNAR1. In alcuni aspetti specifici, l'anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene si lega specificamente alla subunità 1 di IFNAR1.

Il termine "anticorpo" viene usato nel presente documento nel suo senso più ampio e include, ad esempio, anticorpi monoclonali, anticorpi policlonali, anticorpi multivalenti, anticorpi multispecifici, anticorpi chimerici, e anticorpi umanizzati. Il termine "anticorpo" include anticorpi interi. Il termine "anticorpo" si riferisce anche ad una proteina comprendente almeno due catene pesanti (H) di immunoglobulina e due catene leggere (L) di immunoglobulina interconnesse mediante legami disolfuro, o a una relativa porzione di legame ad antigene. Ciascuna catena pesante è composta da una regione variabile di catena pesante (abbreviata nel presente documento in VH) e da una regione costante di catena pesante. La regione costante di catena pesante è composta da tre domini, CH1, CH2 e CH3. Ciascuna catena leggera è composta da una regione variabile di catena leggera (abbreviata nel presente documento in VL) e da una regione costante di catena leggera. La regione costante di catena leggera è composta da un dominio, CL. Le regioni VH e VL possono essere ulteriormente suddivise in regioni di ipervariabilità, chiamate regioni determinanti la complementarità (CDR), inframmezzate da regioni che sono più conservate, chiamate regioni cornice (FR). Ciascuna VH e VL è composta da tre CDR e quattro FR, disposte dal terminale ammino al terminale carbossi nel seguente ordine: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Le regioni variabili delle catene pesanti e leggere contengono un dominio di legame che interagisce con un antigene. Le regioni costanti degli anticorpi possono mediare il legame dell'immunoglobulina ai tessuti o fattori dell'ospite,

incluse varie cellule del sistema immunitario (ad esempio, cellule effettrici) e il primo componente (C1q) del sistema classico del complemento.

Il termine " frammento di legame ad antigene " si riferisce ad uno o più frammenti di un anticorpo che conservano la capacità di legarsi specificamente ad un antigene (ad esempio IFNAR). È stato mostrato che la funzione di legame ad antigene di un anticorpo può essere espletata da frammenti di un anticorpo a lunghezza intera. Esempi di frammenti di legame compresi nel termine " frammento di legame ad antigene " di un anticorpo includono (i) un frammento Fab, un frammento monovalente che consiste nei domini VL, VH, CL e CH1; (ii) un frammento F(ab')₂, un frammento bivalente che comprende due frammenti Fab collegati da un ponte disolfuro in corrispondenza della regione cerniera; (iii) un frammento Fd che consiste nei domini VH e CH1; (iv) un frammento Fv che consiste nei domini VL e VH di un braccio singolo di un anticorpo, (v) un frammento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546,), che consiste in un dominio VH; e (vi) una regione determinante la complementarità (CDR) isolata. Per di più, sebbene i due domini del frammento Fv, VL e VH, siano codificati da geni separati, possono essere uniti, usando metodi ricombinanti, mediante un linker sintetico che permette loro di essere realizzati come un'unica catena proteica in cui le regioni VL e VH si appaiano per formare molecole monovalenti (note come Fv a catena singola (scFv); si vedano ad esempio, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; e Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Si intende inoltre che tali

anticorpi a catena singola sono racchiusi nel termine "frammento di legame ad antigene" di un anticorpo. Questi frammenti di anticorpo sono ottenuti usando tecniche convenzionali note ai tecnici del ramo, e i frammenti vengono sottoposti a verifica per l'utilità allo stesso modo degli anticorpi intatti.

Un "anticorpo isolato", come usato nel presente documento, è inteso riferirsi ad un anticorpo che è sostanzialmente privo di altri anticorpi aventi specificità antigeniche differenti (ad esempio, un anticorpo isolato che si lega specificamente a IFNAR è sostanzialmente privo di anticorpi che si legano specificamente ad antigeni diversi da IFNAR). Un anticorpo isolato che si lega specificamente a IFNAR può tuttavia avere reattività crociata con altri antigeni, come molecole IFNAR di altre specie. Inoltre, un anticorpo isolato può essere sostanzialmente privo di altro materiale cellulare e/o sostanze chimiche.

Il termine "anticorpo monoclonale", come usato nel presente documento, si riferisce a un preparato di molecole di anticorpo di composizione molecolare singola. Un anticorpo monoclonale presenta una singola specificità e affinità di legame per un particolare epitopo.

Il termine "anticorpo umano", come usato nel presente documento, è inteso a includere anticorpi aventi regioni variabili nelle quali sia le regioni cornice che quelle CDR sono derivate da sequenze di immunoglobulina di linea germinale umana. Inoltre, se l'anticorpo contiene una regione costante, anche la regione costante è derivata da sequenze di immunoglobulina di linea germinale umana. Gli anticorpi

umani della divulgazione possono includere residui amminoacidici non codificati da sequenze di immunoglobulina di linea germinale umana (ad esempio, mutazioni introdotte mediante mutagenesi casuale o sito-specifica in vitro o mediante mutazione somatica in vivo). Tuttavia il termine "anticorpo umano" così come usato nel presente documento, non è inteso a includere anticorpi in cui le sequenze di CDR derivate dalla linea germinale di un'altra specie di mammifero, come un topo, sono state innestate su sequenze di regione cornice umana.

Il termine "anticorpo monoclonale umano" si riferisce ad anticorpi che presentano una singola specificità di legame che hanno regioni variabili in cui sia le regioni cornice che quelle CDR sono derivate da sequenze di immunoglobulina di linea germinale umana. In una forma di realizzazione, gli anticorpi monoclonali umani sono prodotti da un ibridoma che include una cellula B ottenuta da un animale transgenico non umano, per esempio un topo transgenico, avente un genoma comprendente un transgene di catena pesante umana e un transgene di catena leggera fusi a una cellula immortalizzata.

Il termine "anticorpo umano ricombinante", come usato nel presente documento, include tutti gli anticorpi umani che sono preparati, espressi, creati o isolati mediante mezzi ricombinanti, come (a) anticorpi isolati da un animale (ad esempio un topo) che è transgenico o transcromosomico per geni di immunoglobulina umana o da un ibridoma preparato da esso (descritti ulteriormente in seguito), (b) anticorpi isolati da una cellula ospite trasformata per esprimere l'anticorpo umano, per

esempio da un transfettoma, (c) anticorpi isolati da una libreria di anticorpi umani combinatoria ricombinante, e (d) anticorpi preparati, espressi, creati o isolati con qualsiasi altro mezzo che coinvolga lo splicing di sequenze geniche di immunoglobulina umana verso altre sequenze di DNA. Tali anticorpi umani ricombinanti hanno regioni variabili in cui le regioni cornice e CDR sono derivate da sequenze di immunoglobulina di linea germinale umana. In determinate forme di realizzazione, tuttavia, tali anticorpi umani ricombinanti possono essere sottoposti a mutagenesi in vitro (o, quando viene usato un animale transgenico per sequenze di Ig umana, mutagenesi somatica in vivo) e quindi le sequenze amminoacidiche delle regioni VH e VL degli anticorpi ricombinanti sono sequenze che, sebbene derivate da, e correlate a, sequenze di VH e VL di linea germinale umana, possono non esistere in natura all'interno del repertorio di linea germinale anticorpale umana in vivo.

Il termine "anticorpo", come usato nel presente documento, include anche anticorpi "chimerici" nei quali una porzione della catena pesante e/o leggera è identica o omologa a sequenze corrispondenti in anticorpi derivati da una specie particolare o appartenenti ad una classe o sottoclasse particolare di anticorpi, mentre la/e catena/e rimanente/i è/sono identica/identiche o omologa/omologhe a sequenze corrispondenti in anticorpi derivati da un'altra specie o appartenenti ad un'altra classe o sottoclasse di anticorpi, nonché frammenti di tali anticorpi, a condizione che esibiscano l'attività biologica desiderata

(brevetto statunitense n. 4,816,567; e Morrison et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)).

Strutture anticorpali di base nei sistemi vertebrati sono relativamente ben comprese. Si veda, ad esempio, Harlow et al. (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (2a ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press).

Nel caso in cui vi siano due o più definizioni di un termine che è usato e/o accettato nell'arte, la definizione del termine, come usata nel presente documento, intende includere tutti questi significati a meno che non sia esplicitamente dichiarato il contrario. Un esempio specifico è l'uso del termine "regione determinante la complementarità" ("CDR") per descrivere i siti di combinazione di antigene non contigui trovati all'interno della regione variabile dei polipeptidi a catena sia pesante che leggera. Questa particolare regione è stata descritta da Kabat et al. (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" e da Chothia e Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), che sono qui incorporati per riferimento, dove le definizioni includono sovrapposizioni o sottoinsiemi di residui amminoacidici quando confrontate tra loro. Tuttavia, l'applicazione di entrambe le definizioni per riferirsi a una CDR di un anticorpo o relative varianti è intesa come rientrante nella portata dell'espressione come definita e usata nel presente documento. I residui amminoacidici appropriati che racchiudono le CDR come definite da ciascuno dei riferimenti sopra citati sono esposti di seguito nella Tabella 2 come confronto. I numeri esatti

dei residui che racchiudono una particolare CDR variano a seconda della sequenza e delle dimensioni della CDR. I tecnici del ramo possono determinare di routine quali residui comprendono una particolare CDR data la sequenza amminoacidica di regione variabile dell'anticorpo.

TABELLA 2 Definizioni di CDR¹

	Kabat	Chothia
CDR1 di VH	31-35	26-32
CDR2 di VH	50-65	52-58
CDR3 di VH	95-102	95-102
CDR1 VL	24-34	26-32
CDR2 VL	50-56	50-52
CDR3 VL	89-97	91-96

¹La numerazione di tutte le definizioni di CDR nella Tabella 2 è secondo le convenzioni di numerazione esposte da Kabat et al. (si veda sotto).

Kabat et al. ha anche definito un sistema di numerazione per sequenze di dominio variabile applicabile a qualsiasi anticorpo. Un tecnico del ramo può assegnare senza ambiguità questo sistema di "numerazione di Kabat" a qualsiasi sequenza di dominio variabile, senza fare affidamento su alcun dato sperimentale oltre la sequenza stessa. Come usato nel presente documento, "numerazione Kabat" si riferisce al sistema di numerazione esposto da Kabat et al. (1983) U.S. Dept. of

Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest." Se non diversamente specificato, riferimenti alla numerazione di posizioni di residui amminoacidici specifici in un anticorpo anti-IFNAR o di un relativo frammento, variante, o derivato di legame ad antigene della presente divulgazione sono secondo il sistema di numerazione di Kabat.

I termini "trattare" o "trattamento", come usati nel presente documento, si riferiscono sia ad un trattamento terapeutico che a misure profilattiche o preventive, in cui l'obiettivo è prevenire o rallentare (attenuare) un cambiamento fisiologico indesiderato o un disturbo in un soggetto, come la progressione di una malattia o di una condizione infiammatoria. Risultati clinici benefici o desiderati includono, ma non sono limitati a, alleviamento di sintomi, diminuzione dell'estensione di malattia, stato di malattia stabilizzato (ossia non in peggioramento), ritardo o rallentamento della progressione di una malattia, miglioramento o lenimento dello stato di malattia, e remissione (parziale o totale), rilevabile o non rilevabile. Il termine "trattamento" significa anche prolungare la sopravvivenza rispetto ad una sopravvivenza attesa se non si riceve un trattamento. Coloro che necessitano di un trattamento includono coloro che sono già affetti dalla condizione o dal disturbo, nonché coloro inclini ad avere la condizione o il disturbo o coloro nei quali la condizione o il disturbo devono essere prevenuti.

Termini come "che tratta" o "trattamento" o "trattare" si riferiscono sia a (1) misure terapeutiche che curano, rallentano, riducono i sintomi

di, e/o arrestano la progressione di, una condizione o di un disturbo patologici diagnosticati e sia a (2) misure profilattiche o preventive che impediscono e/o rallentano lo sviluppo di una condizione o di un disturbo patologici bersaglio. Quindi, coloro che necessitano di trattamento includono coloro già affetti dal disturbo; coloro che hanno una predisposizione ad avere il disturbo; e coloro in cui il disturbo deve essere prevenuto.

I termini "quantità efficace" o "quantità efficace per" o "quantità terapeuticamente efficace" includono un riferimento a un dosaggio di un agente terapeutico sufficiente a produrre un risultato desiderato.

Per "soggetto" o "paziente" si intende qualsiasi soggetto, in particolare un soggetto mammifero, per il quale si desiderano diagnosi, prognosi, o terapia. Come usato nel presente documento, il termine "soggetto" o "paziente" include qualsiasi animale umano o non umano. Il termine "animale non umano" include tutti i vertebrati, ad esempio mammiferi e non mammiferi, come primati non umani, pecore, cani, gatti, cavalli, vacche, orsi, polli, anfibi, rettili, eccetera. Come usata nel presente documento, una frase come "un paziente avente una malattia o un disturbo mediata da IFN di tipo I" include soggetti, come soggetti mammiferi, che trarrebbero beneficio dalla somministrazione di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene che modula l'attività di IFN di tipo I, ad esempio per rilevamento, imaging, o altra procedura diagnostica, e/o da un trattamento, ossia lenimento o

prevenzione di una malattia, con tale anticorpo o relativo legame ad antigene.

Formulazioni di anticorpi

In forme di realizzazione, la presente invenzione fornisce una formulazione di anticorpi comprendente:

a. da circa 125 a circa 175 mg/mL di anifrolumab;

b. da circa 0,02% a circa 0,08% di un tensioattivo, in cui il tensioattivo è selezionato dal gruppo costituito da polisorbato 20, polisorbato 80 e polossamero;

c. da circa 100 mM a circa 150 mM di un eccipiente non carico, in cui l'eccipiente non carico è selezionato dal gruppo costituito da glucosio, saccarosio, trealosio e glicerolo;

d. un tampone di formulazione; e

e. da circa 25 a 130 mM di un sale di lisina;

in cui la formulazione è ad un pH da 5,5 a 6,5, e in cui la formulazione ha una viscosità uguale o inferiore a 20 mPas a 25 °C.

Le formulazioni descritte possono comprendere un anticorpo o relativo frammento di legame all'antigene che comprende una sequenza di dominio VH comprendente da 0 a 5 sostituzioni amminoacidiche da un VH di riferimento avente la sequenza amminoacidica SEQ ID NO: 1

Le formulazioni descritte possono comprendere un anticorpo o frammento di legame all'antigene che comprende un dominio Vk comprendente 0-5 sostituzioni amminoacidiche da un Vk di riferimento avente la sequenza amminoacidica SEQ ID NO:2.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo nella formulazione di anticorpi viene purificato prima di essere aggiunto alla formulazione di anticorpi. I termini "isolare" e "purificare" si riferiscono al separare l'anticorpo da un'impurità o da altri contaminanti nella composizione in cui risiede l'anticorpo, ad esempio una composizione comprendente proteine di cellula ospite. In alcune forme di realizzazione, almeno 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,5% o 99,9% (p/p) di un'impurità viene purificato dall'anticorpo. Per esempio, in alcune forme di realizzazione, la purificazione di un anticorpo, ad esempio anticorpo anti-IFNAR1, comprenderebbe separare l'anticorpo dal 99% (p/p) delle proteine di cellula ospite presenti originariamente nella composizione.

In alcune forme di realizzazione, i termini "isolare" e "purificare" si riferiscono a separare un anticorpo, ad esempio anticorpo anti-IFNAR1, da un'impurità o da altri contaminanti nella composizione in misura coerente con le linee guida di un'organizzazione governativa, ad esempio l'Organizzazione mondiale della sanità o la Food and Drug Administration degli Stati Uniti.

Metodi per purificare un anticorpo sono noti ai tecnici del ramo. Tecniche adatte per eseguire una purificazione includono vari tipi di cromatografia, come cromatografia di affinità, interazione idrofobica, scambio ionico (come cromatografia a scambio cationico o cromatografia in modalità mista), e filtrazione.

Cromatografia di affinità si riferisce ad un metodo di separazione mediante il quale un anticorpo, in virtù delle sue proprietà di legame

specifiche, viene legato ad un ligando di affinità per l'anticorpo. Il ligando di affinità funzionale può essere immobilizzato su un supporto solido o semi-solido in modo tale che quando una composizione comprendente l'anticorpo viene fatta passare sul ligando e sul supporto solido, l'anticorpo avente un'affinità di legame specifica per il ligando si adsorbe al ligando, e una o più altre impurità non vengono adsorbite (o vengono legate con un'affinità inferiore) e vengono separate dall'anticorpo. Esempi di impurità che tipicamente non si legano (o non si legano bene) includono impurità correlate al processo (ad esempio, proteine di cellula ospite, DNA, componenti di terreno) e alcune impurità correlate al prodotto (ad esempio, frammenti di anticorpo). In alcune forme di realizzazione, il supporto solido comprendente il ligando viene lavato una o più volte con un tampone per rimuovere ulteriori impurità prima che l'anticorpo adsorbito venga rimosso dal ligando e dal supporto. Dopo che una o più impurità sono state rimosse, l'anticorpo adsorbito può essere rimosso (eluato) dal ligando e dal supporto, determinando l'isolamento dell'anticorpo dalla composizione originale. Metodi di rimozione dell'anticorpo dal ligando e dal supporto dipendono dal ligando e sono noti ai tecnici del ramo e possono includere, ad esempio, cambiamenti nell'ambiente, ad esempio, pH, aggiunta di agenti caotropici o denaturanti, o aggiunta di tamponi di eluizione disponibili in commercio. In alcune forme di realizzazione, più di un processo di purificazione per affinità può essere impiegato su una composizione di anticorpi. Vari ligandi di affinità sono noti nell'arte, incluse proteina A e proteina G (e

relative combinazioni). Ligandi immobilizzati sono disponibili in commercio. Per esempio, sistemi di affinità di Proteina A includono MabSelect, MabSelect SuRe, MabSelect Xtra, MabSelect SuRe LX, Sepharose CL-4B, ProSep vA, ProSep vA Ultra, e Ceramic HyperD.

La cromatografia a scambio ionico include cromatografia a scambio cationico e cromatografia mista. Cromatografia a scambio cationico si riferisce a qualsiasi metodo mediante il quale un anticorpo e alcune impurità o impurità possono essere separati in base alle differenze di carica usando una matrice a scambio cationico. Una matrice a scambio cationico comprende generalmente gruppi legati in modo covalente, con carica negativa. Possono essere impiegate resine a scambio cationico deboli o forti. Comunemente, resine a scambio cationico forti comprendono gruppi organici supportati comprendenti acido solfonico o gruppi solfonato, a seconda del pH. Resine scambiatrici di cationi deboli comprendono comunemente gruppi organici supportati comprendenti acido carbossilico o gruppi carbossilato, a seconda del pH. In determinate forme di realizzazione, possono essere usate resine a scambio cationico multimodali, che incorporano meccanismi di legame aggiuntivi così come le interazioni ioniche, per esempio una o più interazioni di legame idrogeno e interazioni idrofobiche. Esempi di resine a scambio cationico adatte sono ben note nell'arte e possono includere, ma non sono limitate a, Fractogel, carbossimetile (CM), solfoetile (SE), solfopropile (SP), fosfato (P) e solfonato (S), PROPAC WCX-10™ (Dionex), Capto S, S-Sepharose FF, Fractogel EMD SO₃M, Toyopearl

Megacap II SP 550C, Poros 50 HS, e matrice di SP-sepharose. In alcune forme di realizzazione, più di un processo di cromatografia a scambio cationico può essere impiegato sulla composizione.

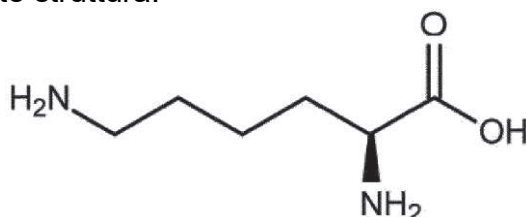
Cromatografia in modalità mista si riferisce a un metodo che utilizza più di una forma di interazione tra la fase stazionaria e gli analiti al fine di ottenere la loro separazione dalle impurità (ad esempio, impurità correlate al processo, come proteine di cellula ospite, DNA, e/o virus endogeni o avventizi). Esempi di matrici a scambio anionico adatte sono noti nell'arte e possono includere, ma non sono limitati a, Capto Adhere, Sartobind Q, Natrix Q, Chromasorb Q, e Mustang Q.

In alcune forme di realizzazione, possono essere usati passaggi di filtrazione aggiuntivi per rimuovere le impurità. Per esempio, in alcune forme di realizzazione viene usata nanofiltrazione o ultrafiltrazione. La nanofiltrazione comprende far passare la composizione attraverso una matrice avente una dimensione dei pori, ad esempio, inferiore a 75 nm, inferiore a 50 nm, e anche inferiore a 15 nm, per separare le impurità, ad esempio virus, dall'anticorpo. Nanofiltri e ultrafiltri disponibili in commercio che possono essere impiegati sono fabbricati da vari fornitori come Millipore Corporation (Billerica, Mass., ad esempio, Viresolve Pro e Viresolve Pro+), Pall Corporation (East Hills, N.Y.), GE Healthcare Sciences (Piscataway, N.J.), e Sartorius Corporation (Goettingen, Germania).

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo usato nelle formulazioni descritte ad esempio, un anti-IFNAR, o relativo frammento

di legame all'antigene comprende la sequenza di VH definita da Kabat in SEQ ID NO: 1 e Vk definito da Kabat di SEQ ID NO:2, in cui l'anticorpo è nella formulazione a una concentrazione da 10 mg/ml a 300 mg/ml, da 30 mg/ml a 250 mg/ml, da 50 mg/ml a 200 mg/ml, da 100 mg/ml a 200 mg/ml, da 125 mg/ml a 175 mg/ml, da 130 mg/ml a 170 mg/mL, da 135 mg/ml a 165 mg/mL, da 140 mg/ml a 160 mg/mL, da 145 mg/ml a 155 mg/mL, 130 mg/ml, 135 mg/ml, 140 mg/ml, 145 mg/ml, 146 mg/ml, 147 mg/ml, 148 mg/ml, 149 mg/ml, 150 mg/ml, 151 mg/ml, 152 mg/ml, 153 mg/ml, 154 mg/ml, 155 mg/ml, 156 mg/ml, 157 mg/ml, 158 mg/ml, 159 mg/ml o 160 mg/ml. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo è in concentrazione di circa 50 mg/ml, 55 mg/ml, 60 mg/ml, 65 mg/ml, 70 mg/ml, 75 mg/ml, 80 mg/ml, 85 mg/ml, 90 mg/ml, 95 mg/ml, 100 mg/ml, 125 mg/ml, 130 mg/ml, 140 mg/ml, 150 mg/ml, 160 mg/ml, 170 mg/ml, 180 mg/ml, 190 mg/ml, 200 mg/ml.

Le formulazioni di anticorpi della presente invenzione comprendono lisina. La lisina è un amminoacido essenziale avente la seguente struttura:



Lisina, come usata nel presente documento, può includere la forma in base libera di lisina, nonché qualsiasi e tutti i suoi sali. In forme di realizzazione, la forma di sale di lisina è lisina acetato, lisina monocloruro, lisina dicloruro, lisina L-aspartato, e lisina L-glutammato. In

alcune forme di realizzazione, lisina include un relativo sale farmaceuticamente accettabile. Per esempio, lisina includerebbe lisina cloridrato. 17 Lisina, come usata nel presente documento, include anche tutti gli enantiomeri (ad esempio, L-lisina e S-lisina) e qualsiasi combinazione di enantiomeri (ad esempio, 50% di L-lisina e 50% di S-lisina; 90% -100% di L-lisina e 10%-0% di S-lisina, eccetera). In alcune forme di realizzazione, il termine "lisina" include più del 99% di L-lisina e meno dell'1% di S-lisina. In alcune forme di realizzazione, il termine "lisina" include una L-lisina pura dal punto di vista enantiomerico. In alcune forme di realizzazione, la lisina è una lisina di grado farmaceutico.

Le formulazioni di anticorpi descritte possono comprendere da circa 10 a circa 100 mM di lisina, da circa 20 a circa 90 mM di lisina, da circa 30 mM di lisina a circa 80 mM di lisina, da circa 40 a circa 70 mM di lisina, da circa 45 a circa 65 mM di lisina, da circa 45 a circa 60 mM di lisina, da circa 50 a circa 55 mM di lisina nella formulazione di anticorpi, ad esempio, una formulazione di anticorpi comprendente da 100 a 200 mg/mL di anticorpo, o circa 150 mg/mL di anticorpo. Le formulazioni di anticorpi descritte possono comprendere circa 50 mM di lisina HCl in una formulazione di anticorpi comprendente da 100 a 200 mg/mL di anticorpo, o circa 150 mg/mL di anticorpo, un eccipiente non carico, un tensioattivo, e un tampone di formulazione.

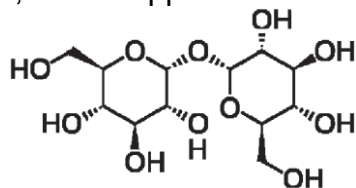
Le formulazioni di anticorpi descritte possono comprendere un eccipiente non carico. Il termine eccipiente si riferisce a una sostanza farmacologicamente inattiva formulata con l'anticorpo come descritto nel

presente documento. In alcune forme di realizzazione, l'eccipiente può aiutare nella prevenzione della denaturazione o in altro modo aiutare nella stabilizzazione dell'anticorpo. Eccipienti adatti che possono essere usati nelle composizioni farmaceutiche sono noti nell'arte. Esempi possono essere presi, ad esempio, dal manuale: Gennaro, Alfonso R.: "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990. In alcune forme di realizzazione, l'eccipiente è un eccipiente "non carico", ossia, l'eccipiente non porta una carica positiva "+" o negativa "-". In alcune forme di realizzazione, l'eccipiente è selezionato dal gruppo che consiste in fruttosio, glucosio, mannosio, sorbosio, xilosio, lattosio, maltosio, saccarosio, destrano, pullulano, destrina, ciclodestrine, amido solubile, trealosio, sorbitolo, eritritolo, isomalto, lattitolo, maltitolo, xilitolo, glicerolo, lattitolo, amido idrossietilico, glucani idrosolubili.

L'eccipiente non carico è da circa 1 mM a circa 1 M, da circa 2 mM a circa 500 mM, da circa 5 mM a circa 400 mM, da circa 10 mM a circa 300 mM o da circa 20 mM a circa 250 mM nella formulazione di anticorpi. L'eccipiente non carico è da circa 30 mM a circa 230 mM, da circa 40 mM a circa 220 mM, da circa 50 mM a circa 210 mM, da circa 60 mM a circa 210 mM, da circa 70 mM a circa 200 mM, da circa 80 mM a circa 190 mM, da circa 90 mM a circa 180 mM, da circa 100 mM a circa 170 mM, da circa 110 mM a circa 160 mM, da circa 120 mM a circa 150 mM, da circa 125 mM a circa 145 mM, da circa 125 mM a circa 140 mM, circa 120 mM, circa 125 mM, circa 130 mM, circa 135 mM, circa 140 mM,

circa 150 mM, circa 160 mM o circa 170 mM nella formulazione di anticorpi, ad esempio una formulazione di anticorpi che comprende da 100 a 200 mg/mL di anticorpo. In una forma di realizzazione, l'eccipiente non carico è circa 130 mM nella formulazione di anticorpi. L'eccipiente non carico è da circa 50 mM a circa 500 mM, da circa 100 mM a circa 450 mM, da circa 110 mM a circa 350 mM, circa 120 mM, circa 125 mM, circa 130 mM, circa 140 mM o circa 145 mM nella formulazione di anticorpi, ad esempio, una formulazione di anticorpi comprendente da 100 a 200 mg/mL di anticorpo o circa 150 mg/mL di anticorpo. L'eccipiente non carico è circa 130 mM nella formulazione di anticorpi.

In alcune forme di realizzazione, l'eccipiente non carico è il trealosio, come rappresentato dalla formula:



Il trealosio può essere da circa 1 mM a circa 1 M, da circa 2 mM a circa 500 mM, da circa 5 mM a circa 400 mM, da circa 10 mM a circa 300 mM o da circa 20 mM a circa 250 mM nella formulazione di anticorpi. Il trealosio può essere da circa 30 mM a circa 230 mM, da circa 40 mM a circa 220 mM, da circa 50 mM a circa 210 mM, da circa 60 mM a circa 210 mM, da circa 70 mM a circa 200 mM, da circa 80 mM a circa 190 mM, da circa 90 mM a circa 180 mM, da circa 100 mM a circa 170 mM, da circa 110 mM a circa 160 mM, da circa 120 mM a circa 150 mM, da circa 125 mM a circa 145 mM, da circa 125 mM a circa 140 mM, circa

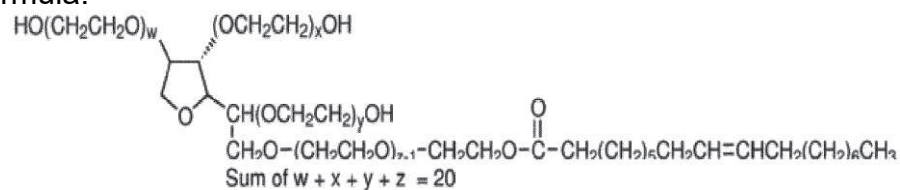
120 mM, circa 125 mM, circa 130 mM, circa 135 mM, circa 140 mM, circa 150 mM, circa 160 mM o circa 170 mM nella formulazione di anticorpi, ad esempio una formulazione di anticorpi che comprende da 100 a 200 mg/mL di anticorpo. Il trealosio può essere circa 130 mM nella formulazione di anticorpi. Il trealosio può essere da circa 50 mM a circa 500 mM, da circa 100 mM a circa 450 mM, da circa 110 mM a circa 350 mM, circa 120 mM, circa 125 mM, circa 130 mM, circa 140 mM o circa 145 mM nella formulazione di anticorpi, ad esempio, una formulazione di anticorpi comprendente da 100 a 200 mg/mL di anticorpo o circa 150 mg/mL di anticorpo. Il trealosio può essere circa 130 mM nella formulazione di anticorpi.

Vari altri componenti possono essere inclusi nella formulazione di anticorpi. La formulazione di anticorpi può comprendere un tampone (ad esempio, tampone istidina, acetato, fosfato o citrato), e/o un agente stabilizzante (ad esempio, albumina umana), eccetera. La formulazione di anticorpi può comprendere trasportatori farmaceuticamente accettabili, inclusi, ad esempio, scambiatori di ioni, allumina, stearato di alluminio, lecitina, proteine del siero, come albumina sierica umana, sostanze tampone come fosfati, saccarosio, glicina, acido sorbico, sorbato di potassio, miscele di gliceridi parziali di acidi grassi vegetali saturi, acqua, sali o elettroliti, come protamina solfato, idrogenofosfato di disodio, idrogenofosfato di potassio, cloruro di sodio, sali di zinco, silice colloidale, trisilicato di magnesio, polivinilpirrolidone, sostanze a base di cellulosa,

glicole di polietilene, carbossimetilcellulosa sodica, poliacrilati, polimeri a blocchi di polietilene-polioossipropilene, e glicole di polietilene.

Le formulazioni di anticorpi divulgate possono inoltre comprendere un tensioattivo. In alcune forme di realizzazione, il tensioattivo è selezionato dal gruppo costituito da Triton X-100, Tween 80, polisorbato 20, polisorbato 80, nonossinol-9, poliossamero, alcol stearilico, dodecil solfato di sodio, e monostearato di sorbitano.

In alcune forme di realizzazione, il tensioattivo è polisorbato 80, ossia poliossietilene (20) monooleato di sorbitano, come rappresentato dalla formula:



Il Polisorbato 80 (PS-80) è disponibile commercialmente da vari venditori commerciali, ad esempio, Alkest[®] TW 80 (Univar[®]), e Tween[®] 80 (Sigma-Aldrich[®]). I richiedenti hanno scoperto che in alcuni casi, controllare la concentrazione di PS-80 nella formulazione di anticorpi aggiunge stabilità e riduce la quantità di formazione di particelle quando viene stoccata per lunghi periodi di tempo.

PS-80 può essere da circa 0,01% a circa 0,1%, da circa 0,02% a circa 0,09%, da circa 0,02% a circa 0,08%, da circa 0,03% a circa 0,08%, da circa 0,04% a circa 0,07%, da circa 0,05% a circa 0,06%, circa 0,02%, circa 0,03%, circa 0,04%, circa 0,05%, circa 0,06% circa 0,07% della formulazione di anticorpi, ad esempio una formulazione di anticorpi

comprendente da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di anticorpo o circa 150 mg/mL di anticorpo. In alcune forme di realizzazione, PS-80 è circa 0,05% nella formulazione di anticorpi.

In alcune forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi comprende inoltre tampone istidina/istidina HCl. La formulazione di anticorpi descritta comprende da circa 1 mM a circa 100 mM, da circa 5 mM a circa 80 mM di tampone istidina/istidina HCl, da circa 10 mM a circa 60 mM di tampone istidina/istidina HCl, da circa 15 mM a circa 50 mM di tampone istidina/istidina HCl, da circa 15 mM a circa 30 mM di tampone istidina/istidina HCl, o circa 25 mM di tampone istidina/istidina HCl nelle formulazioni di anticorpi, ad esempio, una formulazione di anticorpi comprendente da 100 a 200 mg/mL di anticorpo o circa 150 mg/mL di anticorpo. In una forma di realizzazione, un tampone istidina/istidina HCl è circa 25 mM nella formulazione di anticorpi.

È divulgata una formulazione di anticorpi comprendente: 150 mg/mL di anifrolumab o di un relativo frammento di legame ad antigene; 50 mM di lisina HCl; 130 mM di eccipiente non carico; 0,05% di tensioattivo; 25 mM di tampone di formulazione, in cui la formulazione è a un pH di circa 5,9.

È divulgata una formulazione di anticorpi comprendente: 150 mg/mL di anifrolumab; 50 mM di lisina HCl; 130 mM di eccipiente non carico; 0,05% di tensioattivo; 25 mM di tampone di formulazione, in cui la formulazione è a un pH di circa 5,9

In forme di realizzazione aggiuntive, l'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi comprendente: 150 mg/mL di anifrolumab; 50 mM di lisina HCl; 130 mM di trealosio diidrato; 0,05% di polisorbato 80; 25 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è ad un pH di 5,9.

È divulgata una formulazione di anticorpi stabile comprendente: (a) da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di un anticorpo in cui l'anticorpo è anifrolumab, (b) da circa 0,02% a circa 0,1% di polisorbato-80, (c) da circa 100 mM a circa 160 mM di trealosio, (d) da circa 40 mM a circa 60 mM di L-lisina HCl, (e) e 15-35 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è da circa 5,5 a circa 6,5.

In ulteriori forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi stabile comprendente: (a) da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL di un relativo anticorpo, in cui l'anticorpo è anifrolumab, (b) da circa 0,04% a circa 0,08 di polisorbato-80, (c) da circa 120-140 mM di trealosio diidrato, (d) circa 45-55 mM di L-lisina HCl, e (e) circa 20-30 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è da circa 5,8 a circa 6,1.

In ulteriori forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi stabile comprendente: (a) circa 150 mg/mL di un anticorpo in cui l'anticorpo è anifrolumab, (b) circa 0,05% di polisorbato-80, (c) circa 130 mM di trealosio diidrato, (d) circa 50 mM di L-lisina HCl, e (e) circa 25 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è circa 5,9.

B

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi comprendente: 150 mg/mL di anifrolumab; 50 mM di lisina HCl; 130 mM di trealosio diidrato; 0,05% di polisorbato 80; 25 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è ad un pH di circa 5,9.

In forme di realizzazione aggiuntive, l'invenzione riguarda una formulazione di anticorpi comprendente: 150 mg/mL di anifrolumab; 50 mM di lisina HCl; 130 mM di trealosio diidrato; 0,05% di polisorbato 80; 25 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è ad un pH di 5,9.

In alcune forme di realizzazione, vari componenti possono essere omessi dalla formulazione di anticorpi o essa può essere "sostanzialmente priva" di quel componente. Il termine "sostanzialmente privo/a," come usato nel presente documento, si riferisce ad una formulazione di anticorpi, detta formulazione contenendo meno di 0,01%, meno di 0,001%, meno di 0,0005%, meno di 0,0003% o meno di 0,0001% del componente designato.

Le formulazioni di anticorpi possono avere differenti concentrazioni di osmolarità. Metodi di misurazione dell'osmolarità di formulazioni di anticorpi sono noti ai tecnici del ramo e possono includere, ad esempio, un osmometro (ad esempio, un osmometro a depressione del punto di congelamento Advanced Instrument Inc 2020). In alcune forme di realizzazione, la formulazione ha un'osmolarità tra 200 e 600 mosm/kg, tra 260 e 500 mosm/kg, o tra 300 e 450 mosm/kg.

Le formulazioni di anticorpi descritte possono avere vari livelli di pH. In alcune forme di realizzazione, il pH della formulazione di anticorpi è tra 4 e 7, tra 4,5 e 6,5, o tra 5 e 6. Il pH della formulazione di anticorpi descritta è 5,0. In alcune forme di realizzazione, il pH della formulazione di anticorpi è 6,0. Vari mezzi possono essere utilizzati per ottenere il livello di pH desiderato, inclusa, ma non limitata a, l'aggiunta del tampone appropriato.

Le formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento hanno varie viscosità. Metodi di misurazione della viscosità di formulazioni di anticorpi sono noti ai tecnici del ramo e possono includere, ad esempio, un reometro (ad esempio, reometro Anton Paar MCR301 con un accessorio a piastra da 50 mm, 40 mm, o 20 mm). Le viscosità sono state riportate a un limite di taglio elevato di velocità di taglio di 1000 per secondo. La formulazione di anticorpi descritta può avere una viscosità inferiore a 20 centipoise (cP), inferiore a 18 cP, inferiore a 15 cP, inferiore a 13 cP, o inferiore a 11 cP. La formulazione di anticorpi descritta può avere una viscosità inferiore a 13 cP. Un tecnico del ramo apprezzerà che la viscosità dipende dalla temperatura, quindi, se non diversamente specificato, le viscosità fornite nel presente documento sono misurate a 25 °C se non diversamente specificato.

La forza di iniezione è correlata alla quantità di resistenza fornita dalla formulazione di anticorpi quando si somministra la formulazione di anticorpi a un soggetto. La forza di iniezione dipenderà dal calibro dell'ago di somministrazione, nonché dalla temperatura. La formulazione

di anticorpi descritta può avere una forza di iniezione inferiore a 15 N, 12 N, 10 N, o 8 N quando viene fatta passare attraverso un ago spinale a parete sottile (STW) da 27 Ga. In alcune forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi ha una forza di iniezione inferiore a 15 N, 12 N, 10 N, o 8 N quando viene fatta passare attraverso un ago STW da 29 Ga.

Le formulazioni di anticorpi della presente invenzione sono una soluzione acquosa. La formulazione di anticorpi non è stata sottoposta a temperature di congelamento, e/o non è stata congelata, ossia è rimasta in uno stato liquido. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo nella formulazione di anticorpi non è stato sottoposto a liofilizzazione.

Come usato nel presente documento, il termine stabilità è generalmente correlato al mantenere l'integrità o al ridurre al minimo la degradazione, la denaturazione, l'aggregazione o il dispiegamento di un agente biologicamente attivo come una proteina, un peptide o un'altra macromolecola bioattiva. Come usata nel presente documento, "stabilità migliorata" generalmente significa che, in condizioni note per risultare in degradazione, denaturazione, aggregazione o dispiegamento, la proteina (ad esempio, anticorpo come anifrolumab), il peptide o un'altra macromolecola bioattiva di interesse mantiene una maggiore stabilità rispetto a una proteina, un peptide o un'altra macromolecola bioattiva di controllo.

In alcune forme di realizzazione, stabilità si riferisce a una formulazione di anticorpi avente livelli di formazione di particelle da bassi a non rilevabili. La frase "livelli di formazione di particelle da bassi a non

B

rilevabili", come usata nel presente documento, si riferisce a campioni contenenti meno di 1000 particelle/mL, meno di 700 particelle/ml, meno di 650 particelle/ml, meno di 500 particelle/ml, meno di 400 particelle/ml, meno di 200 particelle/ml, meno di 100 particelle/ml, o meno di 1 particella/ml come determinato mediante analisi HIAC o analisi visiva, in cui le particelle rilevate sono di dimensioni superiori a 10 micron, dopo uno stoccaggio a circa 40 °C per circa 18 mesi. In alcune forme di realizzazione, non viene rilevata alcuna particella nella formulazione di anticorpi, né mediante analisi HIAC né mediante analisi visiva.

In alcune forme di realizzazione, stabilità si riferisce a ridotta frammentazione dell'anticorpo. In forme di realizzazione, il tasso di frammentazione dell'anticorpo, ad esempio anifrolumab, nelle formulazioni dell'invenzione è da circa 2,0 a 4,0 percento al mese per 12 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione, il tasso di frammentazione dell'anticorpo, ad esempio anifrolumab, nelle formulazioni dell'invenzione è da circa 2,0 a 4,0 percento al mese per 6 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione, il tasso di frammentazione dell'anticorpo, ad esempio anifrolumab, nelle formulazioni dell'invenzione è da circa 2,0 a 4,0 percento al mese per 2 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione, il tasso di frammentazione

dell'anticorpo, ad esempio anifrolumab, nelle formulazioni dell'invenzione è da circa 3,0 a 4,0 percento al mese per 2 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000.

In ulteriori forme di realizzazione, stabilità si riferisce a ridotta aggregazione dell'anticorpo. In forme di realizzazione, il tasso di aggregazione delle formulazioni di anticorpi della presente invenzione contenenti, ad esempio anifrolumab, è da circa 0,5 a 2,5% al mese per 12 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione, il tasso di aggregazione delle formulazioni di anticorpi della presente invenzione contenenti, ad esempio anifrolumab, è da circa 0,5 a 2,5% al mese per 6 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione, il tasso di aggregazione delle formulazioni di anticorpi della presente invenzione contenenti, ad esempio anifrolumab, è da circa 0,5 a 2,5% al mese per 2 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione aggiuntive, il tasso di aggregazione delle formulazioni di anticorpi della presente invenzione contenenti, ad esempio anifrolumab, è da circa 1 a 2% al mese per 2 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000.

In ulteriori forme di realizzazione, stabilità si riferisce a ridotte perdite di purezza. In forme di realizzazione, il tasso di perdita di purezza delle formulazioni di anticorpi della presente invenzione contenenti, ad esempio anifrolumab, è da circa 3 a 5% al mese per 12 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione, il tasso di perdita di purezza delle formulazioni di anticorpi della presente invenzione contenenti, ad esempio anifrolumab, è da circa 3 a 5% al mese per 6 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000. In forme di realizzazione aggiuntive, il tasso di perdita di purezza delle formulazioni di anticorpi della presente invenzione contenenti, ad esempio anifrolumab, è da circa 3,5 a 4,5% al mese per 2 mesi come determinato mediante analisi HP-SEC effettuata su un sistema HPLC Agilent con una colonna TSK-Gel G3000.

Un tecnico del ramo apprezzerà che la stabilità di una proteina dipende da altre caratteristiche oltre alla composizione della formulazione. Per esempio, la stabilità può essere influenzata da temperatura, pressione, umidità, pH, e forme esterne di radiazione. Perciò, se non diversamente specificato, la stabilità a cui si fa riferimento nel presente documento è considerata essere misurata a 40 °C, ad una pressione di una atmosfera, al 50% di umidità relativa, a pH di 6,0 ed a livelli di radiazione di fondo normali. La stabilità dell'anticorpo nella formulazione di anticorpi può essere determinata mediante vari mezzi. In

alcune forme di realizzazione, la stabilità di un anticorpo è determinata mediante cromatografia ad esclusione dimensionale (SEC). SEC separa analiti (ad esempio, macromolecole come proteine e anticorpi) sulla base di una combinazione delle loro dimensioni idrodinamiche, del coefficiente di diffusione, e di proprietà di superficie. Così, per esempio, SEC può separare anticorpi nella loro conformazione tridimensionale naturale da anticorpi in vari stati di denaturazione, e/o da anticorpi che sono stati degradati. In SEC, la fase stazionaria è generalmente composta da particelle inerti impaccate in una matrice tridimensionale densa all'interno di una colonna di vetro o acciaio. La fase mobile può essere acqua pura, un tampone acquoso, un solvente organico, miscele di questi, o altri solventi. Le particelle della fase stazionaria hanno pori e/o canali piccoli che consentiranno l'ingresso solo a specie al di sotto di una determinata dimensione. Particelle grandi sono pertanto escluse da questi pori e canali, ma le particelle più piccole vengono rimosse dalla fase mobile fluente. Il tempo che le particelle trascorrono immobilizzate nei pori della fase stazionaria dipende, in parte, da quanto a fondo possono penetrare nei pori. La loro rimozione dal flusso della fase mobile fa sì che impieghino più tempo per eluire dalla colonna e ciò risulta in una separazione tra le particelle in base alle differenze nelle loro dimensioni.

In alcune forme di realizzazione, SEC è combinata con una tecnica di identificazione per identificare o caratterizzare proteine, o relativi frammenti. L'identificazione e la caratterizzazione di proteine possono essere conseguite mediante varie tecniche, incluse, ma non

limitate a, tecniche cromatografiche, ad esempio, cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC), saggi immunologici, elettroforesi, spettroscopia ultravioletta/visibile/infrarossa, spettroscopia raman, spettroscopia raman amplificata da superfici, spettroscopia di massa, gascromatografia, diffusione di luce statica (SLS), spettroscopia a infrarossi in trasformata di Fourier (FTIR), dicroismo circolare (CD), tecniche di dispiegamento di proteine indotto da urea, fluorescenza intrinseca del triptofano, calorimetria a scansione differenziale, e/o legame a proteine ANS.

In alcune forme di realizzazione, l'identificazione di proteine viene ottenuta mediante cromatografia liquida ad alta pressione. Vari strumenti e apparati sono noti ai tecnici del ramo per effettuare una HPLC. Generalmente HPLC comporta caricare un solvente liquido contenente la proteina di interesse su una colonna di separazione, nella quale avviene la separazione. La colonna di separazione HPLC è riempita con particelle solide (ad esempio silice, polimeri, o assorbenti), e la miscela di campione viene separata in composti mentre interagisce con le particelle della colonna. La separazione HPLC è influenzata dalle condizioni del solvente liquido (ad esempio, pressione, temperatura), da interazioni chimiche tra la miscela di campione e il solvente liquido (ad esempio, idrofobicità, protonazione, eccetera), e da interazioni chimiche tra la miscela di campione e le particelle solide impaccate all'interno della colonna di separazione (ad esempio, affinità di ligando, scambio ionico, eccetera).

In alcune forme di realizzazione, la SEC e l'identificazione di proteine avvengono all'interno dello stesso apparato, o simultaneamente. Per esempio, SEC e HPLC possono essere combinate, cui spesso si fa riferimento come HP-SEC.

In alcune forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi comprende circa 100 mg/ml a circa 200 mg/ml di anticorpo in cui l'anticorpo è anifrolumab, in cui detta formulazione è stabile in seguito a stoccaggio a circa 40° C per 1 - 24 mesi. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è stabile in seguito a stoccaggio a circa 25 °C per 1-18 mesi. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è stabile in seguito a stoccaggio a circa 5 °C per 1-6 mesi. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è stabile in seguito a stoccaggio a circa 5 °C per 1-3 mesi. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è stabile in seguito a stoccaggio a circa 5 °C per 1-12 mesi. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è stabile in seguito a stoccaggio a circa 5 °C per almeno 18 mesi. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è stabile in seguito a stoccaggio a circa 5 °C per almeno 24 mesi, o 36 mesi.

Il termine "stabile" può essere relativo e non assoluto. Perciò, in alcune forme di realizzazione l'anticorpo è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%, meno del 5% o meno del 2% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante HP- SEC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 2 °C a 8 °C per 6 mesi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%,

meno del 5% o meno del 2% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante SEC HPLC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 2 °C a 8 °C per 12 mesi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo nella formulazione di anticorpi è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%, meno del 5% o meno del 2% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante HP-SEC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 2 °C a 8 °C per 18 mesi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo nella formulazione di anticorpi è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%, meno del 5% o meno del 2% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante SEC HPLC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 2 °C a 8 °C per 24 mesi.

In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%, meno del 5% o meno del 2% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante HP-SEC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 23 °C a 27 °C per 3 mesi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%, meno del 5% o meno del 2% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante HP-SEC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 23 °C a 27 °C per 6 mesi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%, meno del 5% o meno del 2%

dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante HP-SEC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 23 °C a 27 °C per 12 mesi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo è stabile se meno del 20%, meno del 15%, meno del 10%, meno del 5% o meno del 2% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato come determinato mediante HP-SEC quando l'anticorpo viene stoccato ad una temperatura da 23 °C a 27 °C per 24 mesi.

In alcune forme di realizzazione l'anticorpo è stabile se meno del 6%, meno del 4%, meno del 3%, meno del 2% o meno dell'1% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato al mese come determinato mediante HP- SEC quando l'anticorpo è stoccato a 40 °C. In alcune forme di realizzazione l'anticorpo è stabile se meno del 6%, meno del 4%, meno del 3%, meno del 2% o meno dell'1% dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato al mese come determinato mediante HP- SEC quando l'anticorpo è stoccato a 5 °C.

In forme di realizzazione l'anticorpo è stabile se l'1%, il 2%, il 3%, il 4%, il 5% o il 6% (o da circa l'1% al 6%) dell'anticorpo è degradato, denaturato, aggregato o dispiegato al mese per 1-3 mesi, da 1 a 6 mesi, da 1 a 12 mesi, da 1 a 18 mesi, o da 1 a 24 mesi come determinato mediante HP-SEC quando l'anticorpo è stoccato a 5 °C.

In alcune forme di realizzazione, le formulazioni di anticorpi della presente invenzione possono essere considerate stabili se l'anticorpo

dimostra una perdita minima o nulla dell'attività di legame dell'anticorpo (inclusi relativi frammenti di anticorpo) della formulazione rispetto a un anticorpo di riferimento misurata mediante saggi di legame di anticorpo noti ai tecnici del ramo, come, ad esempio, ELISA, eccetera, per un periodo di 8 settimane, 4 mesi, 6 mesi, 9 mesi, 12 mesi o 24 mesi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo stoccato a circa 40 °C per almeno 1 mese conserva almeno l'80%, almeno l'85% circa, almeno il 90% circa, almeno il 95% circa, almeno il 98% circa, o almeno il 99% circa della capacità di legarsi a un polipeptide recettore INFAR1 rispetto ad un anticorpo di riferimento che non è stato stoccato. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo stoccato a circa 5 °C per almeno 6 mesi conserva almeno l'80%, almeno l'85% circa, almeno il 90% circa, almeno il 95% circa, almeno il 98% circa, o almeno il 99% circa della capacità di legarsi a un polipeptide recettore INFAR1 rispetto ad un anticorpo di riferimento che non è stato stoccato. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo stoccato a circa 40 °C per almeno 1 mese conserva almeno il 95% della capacità di legarsi a un polipeptide recettore INFAR1 rispetto ad un anticorpo di riferimento che non è stato stoccato. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo stoccato a circa 5 °C per almeno 6 mesi conserva almeno il 95% della capacità di legarsi a un polipeptide recettore INFAR1 rispetto a un anticorpo di riferimento che non è stato stoccato.

I richiedenti hanno riscontrato che le formulazioni di anticorpi fornite nel presente documento danno come risultato una formazione di

particelle notevolmente ridotta come determinato mediante ispezione visiva, imaging a microflusso (MFI), o cromatografia ad esclusione dimensionale (SEC).

In alcune forme di realizzazione, la formulazione è sostanzialmente priva di particelle in seguito a stoccaggio a circa 40 °C per almeno 1 mese come determinato mediante ispezione visiva. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è sostanzialmente priva di particelle in seguito a stoccaggio a circa 5 °C per almeno 6 mesi, almeno 9 mesi, almeno 12 mesi, almeno 15 mesi, almeno 18 mesi, almeno 24 mesi, o almeno 36 mesi come determinato mediante ispezione visiva.

In alcune forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi della presente invenzione può essere usata per scopi farmaceutici. Anticorpi usati nelle applicazioni farmaceutiche generalmente devono avere un elevato livello di purezza, specialmente per quanto riguarda contaminanti dalla coltura cellulare, inclusi contaminanti proteici cellulari, contaminanti di DNA cellulare, virus ed altri agenti trasmissibili. Si veda "WHO Requirements for the use of animal cells as in vitro substrates for the production of biologicals: Requirements for Biological Substances n. 50." n. 878. Allegato 1, 1998. In risposta alle preoccupazioni sui contaminanti, l'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) ha stabilito limiti ai livelli di vari contaminanti. Per esempio, l'OMS ha raccomandato un limite di DNA inferiore a 10 ng per dose per prodotti a base di proteine. Allo stesso modo, la Food and Drug Administration (FDA) degli Stati Uniti ha fissato un limite di DNA inferiore o uguale a 0,5 pg/mg di proteine. Le

formulazioni di anticorpi descritte che soddisfano o superano i limiti di contaminanti come definiti da una o più organizzazioni governative, ad esempio, la Food and Drug Administration degli Stati Uniti e/o l'Organizzazione mondiale della sanità.

In alcune forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi descritta nel presente documento è farmaceuticamente accettabile. "Farmaceuticamente accettabile" si riferisce ad una formulazione di anticorpi che è, entro la portata di un giudizio medico solido, adatta al contatto con i tessuti degli esseri umani e degli animali, senza eccessiva tossicità o altre complicazioni commisurate con un rapporto rischio/beneficio ragionevole.

La purezza delle formulazioni di anticorpi può variare. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo terapeutico di interesse, ad esempio un anticorpo anti-IFNAR1, è maggiore del 90% (peso/peso) dei polipeptidi totali presenti nella formulazione di anticorpi. In alcune forme di realizzazione, l'anticorpo terapeutico di interesse, ad esempio, anti-IFNAR1, è maggiore del 95% (peso/peso), 98% (peso/peso), 99% (peso/peso), 99,5% (peso/peso) o 99,9% (peso/peso) del polipeptide totale presente nella formulazione di anticorpi.

Vengono divulgati metodi di trattamento di una malattia o di un disturbo mediati da IFN di tipo I in un soggetto che ne ha bisogno, mediante somministrazione di una quantità terapeuticamente efficace della formulazione di anticorpi descritta nel presente documento. In forme di realizzazione, la malattia o il disturbo sono selezionati dal gruppo che

consiste in lupus eritematoso sistemico (LES), diabete mellito insulino dipendente, malattia infiammatoria intestinale, sclerosi multipla, psoriasi, tiroidite autoimmune, artrite reumatoide, glomerulonefrite, sclerodermia, miosite e nefrite lupica. In ulteriori forme di realizzazione, la malattia o il disturbo è una malattia infiammatoria intestinale come morbo di Crohn, colite ulcerosa, e celiachia. In ulteriori forme di realizzazione, la malattia o il disturbo è una malattia o un disturbo polmonari, come lupus eritematoso sistemico.

La formulazione di anticorpi divulgata nel presente documento può essere somministrata a un soggetto attraverso vari mezzi. In alcune forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi è adatta per somministrazione parenterale, ad esempio tramite inalazione (ad esempio, polvere o spray aerosol), somministrazione transmucosale, endovenosa, sottocutanea, o intramuscolare. In alcune forme di realizzazione, la formulazione è una formulazione iniettabile. Viene anche divulgato un contenitore sigillato comprendente qualsiasi delle formulazioni di anticorpi come descritte nel presente documento.

Vengono divulgate varie forme di dosaggio farmaceutiche. Varie forme di dosaggio potrebbero essere applicabili alle formulazioni fornite nel presente documento. Si veda, ad esempio, Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volume 1, 2a edizione. Un dosaggio unitario farmaceutico può comprendere la formulazione di anticorpi in un contenitore adatto, ad esempio una fiala o siringa. Una forma di dosaggio unitario farmaceutico può comprendere una formulazione di anticorpi

erogata per via endovenosa, sottocutanea o intramuscolare. Una forma di dosaggio unitario farmaceutico può comprendere una formulazione di anticorpi erogata mediante aerosol. Una forma di dosaggio unitario farmaceutico può comprendere una formulazione di anticorpi erogata per via sottocutanea. Una forma di dosaggio unitario farmaceutico può comprendere una formulazione di anticorpi erogata mediante aerosol. Una forma di dosaggio unitario farmaceutico può comprendere una formulazione di anticorpi somministrata per via intranasale.

Le formulazioni di anticorpi possono essere preparate come forme di dosaggio unitario preparando una fiala contenente un'aliquota della formulazione di anticorpi acquosa per un solo utilizzo. Per esempio, un dosaggio unitario per fiala può contenere 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml, o 20 ml di differenti concentrazioni di un anticorpo che si lega specificatamente al recettore IFNAR1 che variano tra circa 0,1 mg/ml e circa 300 mg/ml. Se necessario, questi preparati possono essere regolati ad una concentrazione desiderata aggiungendo un diluente sterile a ciascuna fiala. In una forma di realizzazione specifica, le formulazioni di anticorpi acquose sono formulate in fiale monodose come un liquido sterile che contiene da circa 2 mg/mL a circa 20 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab. In un'altra forma di realizzazione specifica, le formulazioni di anticorpi acquose della presente invenzione sono formulate in fiale monodose come un liquido sterile che contiene da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di un

anticorpo in cui l'anticorpo è anifrolumab, da circa 45 a 55 mM di lisina HCl, da circa 0,04% a circa 0,08% di polisorbato-80, da circa 120 mM a circa 140 mM di trealosio, e circa 20-30 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è circa 6. In una forma di realizzazione, l'anticorpo dell'invenzione è fornito da 140 a 160 mg/ml in fiale ambra di borosilicato di tipo I USP da 3 cc (West Pharmaceutical Services-Part No. 6800-0675). In un'altra forma di realizzazione, l'anticorpo dell'invenzione è fornito a 150 mg/ml in fiale ambra di borosilicato USP Tipo I da 3 cc.

Le formulazioni di anticorpi della presente invenzione possono essere preparate come forme di dosaggio unitario preparando una siringa pre-riempita contenente un'aliquota della formulazione di anticorpi acquosa per un solo utilizzo. Per esempio, un dosaggio unitario per siringa pre-riempita può contenere 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,6 ml, 0,7 ml, 0,8 ml, 0,9 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml, o 20 ml di differenti concentrazioni di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene che si lega specificamente a un polipeptide IFNAR1 che variano da circa 140 mg/ml a circa 160 mg/ml. In una forma di realizzazione specifica, le formulazioni di anticorpi acquose della presente invenzione sono formulate in siringhe pre-riempite monodose come un liquido sterile che contiene da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab, da circa 45 a 55 mM di lisina HCl, da circa 0,04% a circa 0,08% di polisorbato-80, da circa 120

mM a circa 140 mM di trealosio, e circa 20-30 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è circa 6. In una forma di realizzazione specifica, le formulazioni di anticorpi acquose della presente invenzione sono formulate in siringhe pre-riempite monodose come un liquido sterile che contiene da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab, da circa 45 a 55 mM di lisina HCl, da circa 0,04% a circa 0,08% di polisorbato-80, da circa 120 mM a circa 140 mM di trealosio, e circa 20-30 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è circa 6.

Varie quantità di dosaggio possono essere somministrate in un unico utilizzo. Per esempio, in alcune forme di realizzazione 0,1 mg, 0,2 mg, 0,3 mg, 0,4 mg, 0,5 mg, 0,6 mg, 0,7 mg, 0,8 mg, 0,9 mg, 1,0 mg, 1,1 mg, 1,2 mg, 1,3 mg, 1,4 mg, 1,5 mg, 1,6 mg, 1,7 mg, 1,8 mg, 1,9 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 12 mg, 14 mg, 16 mg, 18 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 70 mg, o 100 mg di anticorpo possono essere somministrati in una singola dose.

Possono essere usati vari tipi di siringhe. La siringa può essere riempita con la formulazione di anticorpi immediatamente prima di una somministrazione a un soggetto, ad esempio, meno di 1 settimana, 1 giorno, 6 ore, 3 ore, 2 ore, 1 ora, 30 minuti, 20 minuti, o 10 minuti prima di una somministrazione a un soggetto. In alcune forme di realizzazione, la siringa viene riempita con la formulazione di anticorpi nel punto di vendita al dettaglio, o dalla struttura nella quale avviene il trattamento del

soggetto. In alcune forme di realizzazione, la siringa è pre-riempita, ad esempio la siringa è riempita con la formulazione di anticorpi più di 1 giorno, 2 giorni, 4 giorni, 1 settimana, 2 settimane, 1 mese, 2 mesi, 3 mesi, 6 mesi, 12 mesi, 18 mesi, 24 mesi, 3 anni, o 4 anni prima di una somministrazione a un soggetto. In alcune forme di realizzazione, la siringa pre-riempita comprende un ago, ad esempio, un ago a parete regolare da 27G, un ago a parete sottile da 27G, un ago a parete regolare da 29G, o un ago a parete sottile da 29G. In alcune forme di realizzazione, la siringa pre-riempita comprende un ago spinale a parete sottile da 27 G.

In alcune forme di realizzazione, può essere usata qualsiasi siringa adatta per una somministrazione al soggetto desiderato. In alcune forme di realizzazione, la siringa è una siringa di plastica o una siringa di vetro. In alcune forme di realizzazione, la siringa è realizzata con materiali che sono sostanzialmente privi di tungsteno. In alcune forme di realizzazione, la siringa è rivestita di silicone. In alcune forme di realizzazione, la siringa pre-riempita comprende uno stantuffo avente un disco di resina fluoropolimerica. Esempi di siringhe possono includere, ma non sono limitati a, BD Hypak™ SCF 1 MLL 27G1/2-5B BD260L WL, MDN con olio di silicio da 0,4 mg con ago da 27 G STW; Hypak™ per Biotech lunga 1 ml (Becton Dickinson), con tappo a stantuffo lunga 1 mL Becton Dickinson Hypak 4023 Flurotec Daikyo Si1000 (n. di catalogo 47271919); C3Pin; Hypak™ per Biotech con olio di silicio da 0,8 mg (Becton Dickinson); e siringhe CZ (West, n. di catalogo 19550807).

Le formulazioni di anticorpi acquose della presente invenzione possono essere sterilizzate mediante vari metodi di sterilizzazione, inclusi filtrazione sterile, radiazione, eccetera. In una forma di realizzazione specifica, la composizione di anticorpi sottoposta a diafiltrazione è sterilizzata mediante filtrazione con un filtro pre-sterilizzato da 0,2 micron. Formulazioni di anticorpi acquose sterilizzate della presente invenzione possono essere somministrate a un soggetto per prevenire, trattare, e/o gestire una risposta immunitaria, ad esempio una risposta infiammatoria.

L'invenzione fornisce inoltre siringhe pre-riempite comprendenti le formulazioni di anticorpi dell'invenzione citata.

L'invenzione fornisce inoltre siringhe pre-riempite comprendenti le formulazioni di anticorpi dell'invenzione citata. In alcune forme di realizzazione, la siringa pre-riempita comprende (a) da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di anifrolumab da circa 40 a 60 mM di lisina HCl, da circa 100 mM a circa 160 mM di trealosio diidrato, da 0,02% a circa 0,1% di polisorbato 80, e da circa 15 mM a circa 35 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è da circa 5,5 a circa 6,5.

L'invenzione fornisce inoltre siringhe pre-riempite comprendenti le formulazioni di anticorpi dell'invenzione citata. In alcune forme di realizzazione, la siringa pre-riempita comprende (a) da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL di anifrolumab, da circa 45 a 55 mM di lisina HCl, da 120 mM a circa 140 mM di trealosio diidrato, da 0,04% a circa 0,08% di

polisorbato 80, e da 20 mM a circa 30 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è da 5,8 a circa 6,1.

L'invenzione fornisce inoltre siringhe pre-riempite comprendenti le formulazioni di anticorpi dell'invenzione citata. In alcune forme di realizzazione, la siringa pre-riempita comprende (a) circa 150 mg/mL di un anticorpo in cui l'anticorpo è anifrolumab, circa 50 mM di lisina HCl, circa 0,05% di polisorbato-80, circa 130 mM di trealosio diidrato, e circa 25 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è circa 5,9.

L'invenzione fornisce inoltre siringhe pre-riempite comprendenti le formulazioni di anticorpi dell'invenzione citata. In alcune forme di realizzazione, la siringa pre-riempita comprende (a) circa 150 mg/mL di anifrolumab, circa 50 mM di lisina HCl, circa 0,05% di polisorbato-80, circa 130 mM di trealosio diidrato, e circa 25 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è circa 5,9.

In una forma di realizzazione specifica, le formulazioni di anticorpi della presente invenzione sono formulate in siringhe pre-riempite monodose come un liquido sterile che contiene da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab, da circa 45 a 55 mM di lisina HCl, da circa 0,04% a circa 0,08% di polisorbato-80, da circa 120 mM a circa 140 mM di trealosio, e circa 20-30 mM di istidina/istidina HCl. In forme di realizzazione, il pH della formulazione è circa 6.

In forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una siringa pre-riempita comprendente una formulazione di anticorpi della presente invenzione, in cui la siringa pre-riempita ha una forza di scorrimento media tra 1 e 20 N quando dotata di un ago spinale a parete sottile (STW) da 27 Gauge. In forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una siringa pre-riempita comprendente una formulazione di anticorpi della presente invenzione, in cui la siringa pre-riempita ha una forza di scorrimento media tra 5 e 15 N quando dotata di un ago spinale a parete sottile (STW) da 27 Gauge. In forme di realizzazione, l'invenzione riguarda una siringa pre-riempita comprendente una formulazione di anticorpi della presente invenzione, in cui la siringa pre-riempita ha una forza di scorrimento media di circa 8 N quando dotata di un ago spinale a parete sottile (STW) da 27 Gauge.

È descritto un kit comprendente qualsiasi delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento, dei contenitori descritti nel presente documento, delle forme di dosaggio unitario descritte nel presente documento, o la siringa pre-riempita descritta nel presente documento.

Viene descritto un metodo di produzione di una formulazione di anticorpi stabile comprendente un anticorpo, il metodo comprendendo: (a) purificare un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL, in cui l'anticorpo è anifrolumab; e (b) porre l'anticorpo isolato in una formulazione stabilizzante per formare la formulazione di anticorpi stabile, in cui la formulazione di

anticorpi stabile risultante comprende: (i) da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab, e (ii) da circa 25 mM a circa 130 mM di lisina o di un sale di lisina; (iii) da circa 100 mM a circa 150 mM di trealosio (iv) da circa 0,02% a circa 0,1% di polisorbato-80.

Viene anche descritto un metodo di produzione di una formulazione di anticorpi stabile comprendente un anticorpo, il metodo comprendendo: (a) purificare un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL, in cui l'anticorpo è anifrolumab; e (b) porre l'anticorpo isolato in una formulazione stabilizzante per formare la formulazione di anticorpi stabile, in cui la formulazione di anticorpi stabile risultante comprende: da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL dell'anticorpo; da circa 45 mM a circa 55 mM di lisina HCl di lisina o di un sale di lisina; da circa 100 mM a circa 150 mM di eccipiente non carico; da circa 0,02% a circa 0,1% di un tensioattivo; e un tampone di formulazione.

Viene anche descritto un metodo di produzione di una formulazione di anticorpi stabile comprendente un anticorpo, il metodo comprendendo: (a) purificare un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL, in cui l'anticorpo è anifrolumab; e (b) porre l'anticorpo isolato in una formulazione stabilizzante per formare la formulazione di anticorpi stabile, in cui la risultante formulazione di anticorpi stabile comprende da circa 145 mg/mL a circa 155 mg/mL dell'anticorpo, da circa 25 mM a circa 130

mM di lisina o di un sale di lisina; da circa 120 mM a circa 140 mM di trealosio diidrato; da circa 0,04% a circa 0,08% di polisorbato 80; da circa 20 mM a circa 30 mM di istidina/istidina HCl, in cui la formulazione è a un pH da circa 5,8 a 6,1.

Viene anche descritto un metodo di realizzazione di una formulazione di anticorpi stabile, il metodo comprendendo (a) purificare un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene a circa 150 mg/mL, in cui l'anticorpo è anifrolumab; e (b) porre l'anticorpo isolato in una formulazione stabilizzante per formare la formulazione di anticorpi stabile, in cui la formulazione di anticorpi stabile risultante comprende: (i) circa 150 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab, e (ii) circa 50 mM di lisina HCl; (iii) circa 130 mM di trealosio, (iv) circa 0,05%% di polisorbato-80.

Viene descritto un metodo di produzione di una formulazione ricostituita di anticorpi o di un relativo frammento di legame ad antigene comprendente anifrolumab, il metodo comprendendo: (a) purificare l'anticorpo da una coltura cellulare; (b) liofilizzare l'anticorpo isolato; (c) aggiungere l'anticorpo liofilizzato a una soluzione acquosa per formare una formulazione di anticorpi ricostituita, in cui la formulazione di anticorpi ricostituita comprende: (i) da circa 100 mg/mL a circa 200 mg/mL di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab, e (ii) da circa 45 a circa 55 mM di lisina HCl.

Viene descritta una formulazione di anticorpi comprendente un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene in cui l'anticorpo è anifrolumab, in cui la formulazione di anticorpi è essenzialmente priva di particelle. In alcune forme di realizzazione, il termine "essenzialmente privo/a di particelle" si riferisce all'assenza di particelle visibili quando si osserva sotto una scatola luminosa. In alcune forme di realizzazione, il termine "essenzialmente privo/a di particelle" è sinonimo della frase "livelli di formazione di particelle da bassi a non rilevabili" come descritto in precedenza. In alcune forme di realizzazione, essenzialmente privo/a di particelle si riferisce a campioni contenenti meno di 30 particelle/ml, meno di 20 particelle/ml, meno di 20 particelle/ml, meno di 15 particelle/ml, meno di 10 particelle/ml, meno di 5 particelle/ml, meno di 2 particelle/ml, o meno di 1 particella/ml in cui le particelle sono maggiori di 25 μm e il conteggio delle particelle è determinato mediante analisi HIAC o analisi visiva. In alcune forme di realizzazione, essenzialmente privo/a di particelle si riferisce a campioni contenenti da 1 a 50 particelle/ml, da 2 a 40 particelle/ml, 3-30 particelle/ml, da 4 a 25 particelle/ml, o da 5 a 20 particelle/ml in cui le particelle sono maggiori di 25 μm e il conteggio delle particelle è determinato mediante analisi HIAC o analisi visiva. In alcune forme di realizzazione, il termine "particelle visibili" si riferisce a particelle maggiori di 25 μm .

In alcune forme di realizzazione, essenzialmente privo/a di particelle si riferisce a campioni contenenti da 1 a 200 particelle/ml, da 10 a 150 particelle/ml, da circa 30 particelle/ml a circa 100 particelle/ml,

o da 40 a 80 particelle/ml, in cui le particelle sono maggiore di 5 μm e il conteggio delle particelle è determinato mediante analisi HIAC o analisi visiva. In alcune forme di realizzazione, il termine "particelle visibili" si riferisce a particelle maggiori di 5 μm . In alcune forme di realizzazione, non viene rilevata alcuna particella nella formulazione di anticorpi, né mediante analisi HIAC né mediante analisi visiva.

Viene descritta una formulazione di anticorpi comprendente un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene in cui l'anticorpo è anifrolumab, in cui la formulazione di anticorpi è essenzialmente priva di particelle per almeno 1 mese, almeno 2 mesi, almeno 3 mesi, almeno 4 mesi, almeno 5 mesi, almeno 6 mesi, almeno 8 mesi, almeno 10 mesi, almeno 12 mesi o almeno 18 mesi quando stoccata a una temperatura da 38° a 42 °C. Viene descritta una formulazione di anticorpi comprendente un anticorpo o un relativo frammento di legame ad antigene, in cui l'anticorpo è anifrolumab, in cui la formulazione di anticorpi è essenzialmente priva di particelle per almeno 1 mese, almeno 2 mesi, almeno 3 mesi, almeno 4 mesi, almeno 5 mesi, almeno 6 mesi, almeno 8 mesi, almeno 10 mesi, almeno 12 mesi, almeno 18 mesi, almeno 24 mesi, almeno 30 mesi, almeno 36 mesi o almeno 48 mesi quando stoccata a 2-6 °C.

Viene anche descritto un metodo di purificazione di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene in cui l'anticorpo è anifrolumab, il metodo comprendendo (i) ottenere una coltura cellulare comprendente l'anticorpo, (ii) effettuare una cromatografia di affinità

sull'anticorpo, (iv) effettuare uno scambio cationico sull'anticorpo, (v) effettuare una cromatografia in modalità mista sull'anticorpo.

Viene descritto un metodo di purificazione di un anticorpo o di un relativo frammento di legame ad antigene in cui l'anticorpo è anifrolumab, il metodo comprendendo (i) ottenere una coltura cellulare comprendente l'anticorpo, (ii) legare l'anticorpo a una colonna di Proteina A, (iii) eluire l'anticorpo dalla colonna di Proteina A, (iv) effettuare uno scambio cationico sull'anticorpo, (v) effettuare una cromatografia in modalità mista sull'anticorpo. In alcune forme di realizzazione, il metodo di purificazione di un anticorpo comprende inoltre un processo di inattivazione virale. In alcune forme di realizzazione, il passaggio di inattivazione virale viene effettuato abbassando il pH a meno di 4,0. In alcune forme di realizzazione, il metodo comprende inoltre un processo di diafiltrazione. In alcune forme di realizzazione, il metodo comprende inoltre un processo di filtrazione. In alcune forme di realizzazione, il processo di filtrazione è sufficiente per rimuovere particelle virali attive.

Viene anche descritto un metodo di trattamento di un paziente. In alcune forme di realizzazione, il metodo comprende somministrare le formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento, i contenitori descritti nel presente documento, le forme di dosaggio unitario descritte nel presente documento, o la siringa pre-riempita descritta nel presente documento a un soggetto che ne ha bisogno.

Formulazioni di anticorpi possono essere adatte per trattamento di una malattia o disturbo polmonare mediante la somministrazione della

formulazione di anticorpi descritta nel presente documento. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione riguarda un metodo di trattamento di un paziente con una malattia o un disturbo eosinofili mediante la somministrazione della formulazione di anticorpi descritta nel presente documento. Viene anche descritto un metodo di trattamento di una malattia o di un disturbo polmonari in un soggetto, il metodo comprendendo la somministrazione delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento. In alcune forme di realizzazione, l'invenzione riguarda un metodo di trattamento di una malattia o di un disturbo eosinofili in un soggetto, il metodo comprendendo somministrare le formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento. Viene descritto un trattamento di malattie o disturbi polmonari, ad esempio, asma, BPCO, asma eosinofila, asma eosinofila e neutrofila combinate, asma sensibile all'aspirina, aspergillosi broncopolmonare allergica, bronchite eosinofila acuta e cronica, polmonite eosinofila acuta e cronica, sindrome di Churg-Strauss, sindrome ipereosinofila, eosinofilia polmonare indotta da farmaci, sostanze irritanti e radiazioni, eosinofilia polmonare indotta da infezione (funghi, tubercolosi, parassiti), eosinofilia polmonare correlata a malattia autoimmune, esofagite eosinofila, o morbo di Crohn o relative combinazione in un soggetto, il metodo comprendendo la somministrazione delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento. Viene descritto il trattamento di asma in un soggetto, il metodo comprendendo la somministrazione delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento. Viene anche

descritto il trattamento di BPCO in un soggetto, il metodo comprendendo la somministrazione delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento.

In alcune forme di realizzazione, una quantità terapeuticamente efficace delle formulazioni di anticorpi descritte nel presente documento viene somministrata per trattare una condizione. Come usato nel presente documento, il termine "quantità terapeuticamente efficace" si riferisce alla quantità di una terapia (ad esempio, un anticorpo che si lega in modo immunospecifico a un polipeptide recettore IFNAR1), che è sufficiente a ridurre la gravità di una malattia o di un disturbo (ad esempio, una malattia o un disturbo caratterizzati da espressione e/o attività aberrante di un polipeptide IFNAR1, una malattia o un disturbo caratterizzati da espressione e/o attività aberrante di un recettore IFNAR1 o una o più relative subunità, una malattia autoimmune, una malattia infiammatoria, una malattia proliferativa, o un'infezione o uno o più relativi sintomi), ridurre la durata di una condizione, migliorare uno o più sintomi di tale malattia o disturbo, prevenire l'avanzamento di tale malattia o disturbo, causare la regressione di tale malattia o disturbo, o potenziare o migliorare l'effetto terapeutico/gli effetti terapeutici di un'altra terapia. In alcune forme di realizzazione, la quantità terapeuticamente efficace non può essere specificata in anticipo, e può essere determinata da un prestatore di cure, per esempio, da un medico o da un altro operatore sanitario, usando vari mezzi, per esempio, la titolazione della dose. Appropriate quantità terapeuticamente efficaci possono anche

essere determinate mediante sperimentazione di routine usando, per esempio, modelli animali.

I termini "terapie" e "terapia" possono riferirsi a qualsiasi protocollo, metodo e/o agente che può essere usato nella prevenzione, nel trattamento, nella gestione, o nel miglioramento di una malattia o di un disturbo (ad esempio, una malattia o un disturbo caratterizzati da espressione e/o attività aberrante di un polipeptide IFNAR1, una malattia o un disturbo caratterizzati da espressione e/o attività aberrante di un recettore IFNAR1 o di una o più relative sottounità, una malattia autoimmune, una malattia infiammatoria, una malattia proliferativa, o un'infezione (preferibilmente un'infezione respiratoria) o di uno o più relativi sintomi). In determinate forme di realizzazione, i termini "terapia" e "terapia" si riferiscono a terapia biologica, terapia di supporto, e/o altre terapie utili nel trattamento, nella gestione, nella prevenzione, o nel miglioramento di tale malattia o disturbo o di uno o più sintomi noti a personale medico del ramo.

Come usato nel presente documento, il termine "protocollo terapeutico" si riferisce a un regime per dosare la, e stabilire la tempistica della, somministrazione di una o più terapie (ad esempio, agenti terapeutici) che ha un'efficacia terapeutica.

La via di somministrazione della formulazione di anticorpi può essere tramite, per esempio, modalità di somministrazione orale, parenterale, inalatoria o topica. Il termine parenterale, come usato nel presente documento, include, ad esempio, una somministrazione

endovenosa, endoarteriosa, intraperitoneale, intramuscolare, sottocutanea, rettale, o vaginale. L'anticorpo può essere un anticorpo anti-IFNAR1 e la via di somministrazione è un'iniezione intramuscolare. Sebbene tutte queste forme di somministrazione siano chiaramente contemplate in alcune forme di realizzazione, la formulazione di anticorpi è adatta per somministrazione tramite iniezione, in particolare per iniezione o gocciolamento endovenoso o endoarterioso.

In alcune forme di realizzazione, le composizioni e i metodi consentono a un fabbricatore di produrre una formulazione di anticorpi adatta per la somministrazione a un essere umano in un modo più efficiente, riducendo i costi, riducendo i passaggi del metodo, riducendo le opportunità di errore, riducendo le opportunità di introduzione di additivi non sicuri o impropri, riducendo gli sprechi, aumentando i tempi di stoccaggio, eccetera.

ESEMPI

L'invenzione viene ora descritta facendo riferimento ai seguenti Esempi specifici. Questi esempi sono solo illustrativi e l'invenzione non deve in alcun modo essere interpretata come limitata a questi esempi.

Esempio 1

Materiali e metodi

Materiali

Tutti i materiali usati erano di grado USP o soddisfacenti più farmacopee. Tutte le soluzioni e i tamponi sono stati preparati usando acqua USP o HPLC e sono stati filtrati prima di un ulteriore utilizzo. I

campioni per gli studi di stabilità sono stati preparati in condizioni asettiche nel Biosafety Cabinet Hood (BSC). Il materiale sfuso è stato stoccato a 2-8 °C. Gli studi di stabilità sono stati eseguiti usando le forniture elencate nella TABELLA 3.

TABELLA 3

Componente	Processo di purificazione
MEDI-546	Dalla linea cellulare clone cNS0 19B4
Fiale	Fiale Fiolax da 3 cc (Schott, p/n: 1230392)
Tappi	Tappo in gomma grigio da 13 mm HBR Teflon2 442/50 West (articolo n: 10124671)
Sovrasigilli	TruEdge® Flip-Off® in alluminio da 13 mm

Determinazione della concentrazione di proteine

Le concentrazioni di proteine sono state determinate misurando l'assorbanza a 280 nm con uno spettrofotometro UV-Vis Agilent usando una procedura adattata da SOP DV-6233. È stato usato un coefficiente di estinzione misurato di 1,39 (mg/mL) · cm⁻¹. Per i campioni, sono stati applicati fattori di correzione di densità secondo TD-0025 per formulazioni contenenti zucchero o non contenenti zucchero.

Misurazioni della viscosità con cono e piastra

Le viscosità sono state misurate usando un reometro Anton Paar MCR301 con accessorio a cono e piastra. Per ridurre al minimo il volume richiesto, è stato usato un cono da 20 mm con misurazioni in replica

singola a scopo di screening. I risultati sono stati riportati al limite di taglio elevato di velocità di taglio di 1000 al secondo.

Determinazione della purezza mediante cromatografia ad esclusione dimensionale (HPSEC)

L'analisi SEC è stata effettuata su un sistema HPLC Agilent con un TSK-Gel G3000 secondo le attuali linee guida di Formulation Sciences.

Aspetto visivo

L'ispezione visiva dei campioni è stata effettuata esaminando i campioni nel loro rispettivo contenitore, per particelle, colore, e limpidezza usando standard di particelle e la guida adattata dalla procedura operativa standard: valutazione dell'aspetto visivo di sostanze farmaceutiche e di prodotti farmaceutici a base di proteine.

Studi per valutare l'impatto dei livelli di eccipienti su stabilità e viscosità

Al fine di studiare gli impatti di concentrazione, livello di trealosio e livello di lisina HCl (fattori) su stabilità e viscosità (risposte) è stato utilizzato un approccio di progetto sperimentale. È stato preparato un progetto Box Behnken usando il software JMP9.1 (SAS, Inc., Cary, NC). Il progetto includeva fattori: concentrazione (da 100 a 200 mg/mL); livello di trealosio (da 0 a 211 mM); e livello di lisina HCl (da 25 a 130 mM). Il pH è stato impostato a 6,0 in base ai precedenti dati di stabilità di formulazione per le formulazioni del ciclo 1. Il livello di polisorbato è stato impostato allo 0,02%. Il livello basso di lisina è stato definito a 25 mM

sulla base di studi preliminari di screening della viscosità ad alto rendimento in cui è stato osservato un grande calo della viscosità nell'intervallo da 0 a 25 mM di lisina HCl ad alte concentrazioni (si veda l'Esempio 2). La stabilità è stata valutata effettuando uno studio di stabilità accelerato a 40 °C con valutazione dell'aspetto visivo e della purezza mediante HP-SEC (perdita, aggregazione, frammentazione di monomeri) come letture. Sono stati misurati anche i conteggi di particelle sub-visibili a 5 °C dopo 1,8 mesi, ma non sono stati ulteriormente analizzati poiché non è stata osservata alcuna differenziazione significativa tra i campioni.

Robustezza e impatto del livello di lisina HCl sul profilo di viscosità

Una soluzione madre di MEDI-546 a ~ 200 mg/mL in 25 mM di istidina/istidina HCl, 25 mM di lisina HCl (nota: questa è la fascia a bassa lisina HCl), 130 mM di trealosio diidrato, pH 6,0 è stata preparata e usata per preparare una serie di diluizioni formulate con 0,02% di polisorbato 80. La concentrazione e le viscosità sono state misurate e tracciate. È stata preparata e misurata anche la condizione di formulazione nominale (50 mM di lisina HCl). Una soluzione madre di lisina HCl 0,5 M è stata preparata così come usata per aggiungere la soluzione madre di MEDI-546 al livello nominale di 50 mM di lisina. Sono state effettuate alla stessa diluizione e formulazione e le viscosità e le concentrazioni sono state misurate.

Valutazione della funzionalità della formulazione guida in siringhe pre-riempite STW da 27Ga

Siringhe pre-riempite ("PFS") (BD Hypak SCF 1MLL 27G1/2-SB); olio di silicone MDN da 0,4 mg con ago a parete sottile da 27 G STW) sono state riempite con MEDI-546 a 150 mg/mL in istidina/istidina HCl 25 mM, lisina HCl 50 mM, trealosio diidrato 130 mM, polisorbato 80 0,05%, pH 5,9. La viscosità di questo lotto è stata misurata come 9,4 mPas e la concentrazione come 150,7 mg/mL. Tappi BD Hypak SCF 1MLL 4023 FLUR Daikyo SI1000 sono stati applicati con tappatura sottovuoto. Un Instron 5542 (Norwood, MA 02062) è stato usato per misurare le prestazioni di scorrimento a 260 mm/min. Inoltre, tre analisti hanno valutato il tempo necessario per iniettare con e senza guanti per simulazione di artrite (guanti per artrite del Georgia Tech Research Institute e dispositivo per esercitarsi con le iniezioni da Limbsnthings, Regno Unito).

Esempio 2

Riepiloghi dei risultati di screening della viscosità ad alto rendimento

Lo screening della viscosità ad alto rendimento è stato effettuato con nanoparticelle. In breve, nanoparticelle di dimensioni note sono state misurate in acqua (viscosità nota) e nei campioni (viscosità sconosciuta) e il rapporto è stato usato per determinare la viscosità sconosciuta dei campioni. Questi dati sono stati raccolti per scopi di screening e di tendenza e non per la determinazione della viscosità assoluta.

I risultati dello screening HTS per viscosità vs. pH sono mostrati nella Figura 1. I risultati hanno suggerito che la viscosità aumentava con il pH. Sulla base di questo potenziale impatto del pH sulla viscosità e sui possibili effetti di tipo Dorman durante il TFF, abbiamo stabilito che il pH della formulazione dovrebbe essere selezionato a 5,9. Per lo sviluppo di PFS sarà necessario effettuare una ulteriore robustezza sull'impatto del pH. I risultati dello screening HTS per viscosità vs lisina HCl (Figura 2) hanno mostrato un grande calo della viscosità da zero a 25 mM di lisina HCl. Le osservazioni pratiche di laboratorio sulla preparazione di un campione hanno anche indicato che senza lisina i campioni erano più viscosi e più difficili da maneggiare a concentrazioni più elevate. Per questo motivo gli esperimenti sono iniziati con 25 mM di lisina HCl come livello basso.

Esempio 3

Valutazione complessiva dei risultati di stabilità e viscosità per le formulazioni

La Tabella 4 fornisce un riepilogo dei risultati di viscosità e stabilità accelerati per le formulazioni di anticorpi. La Tabella 5 fornisce un riepilogo dei risultati delle particelle sub-visibili (mediante HIAC) per le formulazioni dopo 1,8 mesi a 5 °C. Una valutazione complessiva dei risultati mostra che i tassi di perdita di purezza a 40 °C erano tutti accettabili, variando da 3,8 a 4,8 percento al mese. Il tasso di frammentazione variava da 2,8 a 3,4 percento al mese e il tasso di aggregazione variava da 0,7 a 2,0 percento al mese. Le ispezioni visive

dopo 1 mese a 40 °C indicano prestazioni simili per tutte le formulazioni (tutte erano standard 1 per particelle, <III o II per la limpidezza e Y6 per il colore). I dati delle particelle sub-visibili (HIAC) hanno mostrato che tutti i campioni avevano meno di 670 particelle per mL di dimensioni maggiori di 10 micron. La viscosità variava da 2,8 a 39,7 mPas per tutte le formulazioni. Molte delle formulazioni a 150 mg/mL avevano valori di viscosità accettabili.

Un'ulteriore analisi dei dati negli esempi seguenti mostra come i dati sono stati usati e interpretati per selezionare una formulazione appropriata e robusta che massimizzi la stabilità fornendo al contempo una viscosità accettabile.

TABELLA 4 - Riepilogo di viscosità e di risultati di stabilità accelerati per le formulazioni

ID D O E	Lisi na HCl (m M)	Treal osio (mM)	Conc. bersa glio (mg/ mL)	Visco sità (mPa. s)	Tasso di aggrega zione a 40 °C (%/mese)	Tasso di framment azione a 40 °C (%/mese)	Tasso di perdi ta di purezza a 40 °C (%me se)	Aspett o di visivo dopo 1 mese a 40 °C (partic elle, colore, limpide zza)
1	130	211	150	13,8	1,1	2,8	3,8	1, Y6, <III
2	77, 5	105,5	150	11,5	1,4	2,9	4,4	1, Y6, <III
5	130	105,5	200	25,9	15	2,9	4,4	1, Y6, <III
6	77, 5	0	100	2,8	1,3	3,1	4,5	1, Y6, <III
7	25	105,5	200	29,6	1,9	2,8	4,7	1, Y6, <III

ID D O E	Lisi na HCl (m M)	Treal osio (mM)	Conc. bersa glio (mg/ mL)	Visco sità (mPa. s)	Tasso di aggrega zione a 40 °C (%/mese)	Tasso di framment azione a 40 °C (%/mese)	Tasso di perdi ta di purezza a 40 °C (%me se)	Aspett o di visivo dopo 1 mese a 40 °C (partic elle, colore, limpide zza)
8	130	0	150	9,8	1,5	3,0	4,5	1, Y6, <III
9	77, 5	105,5	150	12,6	1,4	2,9	4,3	1, Y6, <III
10	77, 5	105,5	150	12,8	1,5	2,9	4,4	1, Y6, II
11	130	105,5	100	4,0	1,1	3,0	4,1	1, Y6, <III
12	77, 5	0	200	39,7	2,0	2,8	4,8	1, Y6, <III

B

ID	Lisina HCl (mM)	Trealosio (mM)	Conc. bersaglio (mg/mL)	Viscosità (mPa.s)	Tasso di aggregazione a 40 °C (%/mese)	Tasso di frammentazione a 40 °C (%/mese)	Tasso di perdita di purezza a 40 °C (%/mese)	Aspetto visivo dopo 1 mese a 40 °C (particelle, colore, limpidezza)
13	25	0	150	12,1	1,7	2,8	4,6	1, Y6, <III
14	25	211	150	16,7	1,3	2,9	4,2	1, Y6, II
15	77,5	211	200	33,9	1,3	2,9	4,2	1, Y6, <III
16	25	105,5	100	4,1	0,9	3,4	4,3	1, Y6, <III
17	77,5	211	100	5,1	0,7	3,3	4,0	1, Y6, <III

TABELLA 5 - Riepilogo dei risultati delle particelle sub-visibili per le formulazioni dopo 1,8 mesi a 5 °C

B

ID DOE	Lisina HCl (mM)	Trealosio (mM)	Conc. bersaglio (mg/mL)	SVP \geq 2 μ m (HIAC) per mL	SVP \geq 10 μ m (HIAC) per mL	SVP \geq 25 μ m (HIAC) per mL
1	130	211	150	880	20	0
2	77,5	105,5	150	2640	80	20
5	130	105,5	200	3493	0	0
6	77,5	0	100	4120	80	0
7	25	105,5	200	3627	53	0
8	130	0	150	4540	60	20
9	77,5	105,5	150	5940	220	40
10	77,5	105,5	150	5640	20	0
11	130	105,5	100	1387	67	0
12	77,5	0	200	1680	53	0
13	25	0	150	1691	40	0
14	25	211	150	3980	20	0
15	77,5	211	200	44853	667	53
16	25	105,5	100	5800	93	13
17	77,5	211	100	5440	120	13

Esempio 4

Analisi dei risultati

La Tabella 6 riassume l'interpretazione e le conclusioni tratte dai dati:

TABELLA 6 - Output per significatività dei fattori sulle risposte misurate

	Concentrazione	Livello di lisina HCl	Livello di trealosio
Risultati della viscosità	Impatto significativo: La viscosità aumentava con la concentrazione.	Non significativo (per l'intervallo testato oltre 25 mM)	Non significativo. Tendenza minore per l'aumento di viscosità con trealosio più elevato.
Conclusioni sulla viscosità	I dati suggeriscono che 150 mg/mL è possibile (<20 mPas) ma che 200 mg/mL avrà una viscosità troppo elevata (>30 mPas). Nel lavoro precedente è stato dimostrato che la lisina diminuisce la viscosità. Una fascia con 25 mM come estremità bassa e 50 mM come livello nominale fornirebbe un'appropriata solidità.		

	Concentrazione	Livello di lisina HCl	Livello di trealosio
Tasso di aggregazione	Significativo: l'aggregazione aumentava con concentrazione	Non significativo	Significativo: il trealosio diminuiva l'aggregazione di una piccola quantità.
Conclusioni sul tasso di aggregazione	Si è osservato che la strategia per massimizzare il trealosio con il vincolo isotonic (è stato osservato un piccolo beneficio incrementale di trealosio molto più elevato per giustificare l'ipertonicità) minimizzerà l'aggregazione.		
Tasso di frammentazione	Significativo: la frammentazione diminuiva leggermente con la concentrazione. Il tasso variava dal 2,8 al 3,4 per cento per mese a 40 °C.	Non significativo	Non significativo

	Concentrazione	Livello di lisina HCl	Livello di trealosio
Conclusioni sul tasso di frammentazione	La frammentazione non è probabilmente un problema nell'intero spazio della conoscenza a 5 °C. Le differenze di tasso erano molto minori e potevano essere artefatti della variabilità del metodo a causa del "pop" sulla spalla della SEC sulla stabilità.		
Conclusioni complessive.	Nel complesso, una formulazione guida a 150 mg/mL con 50 mM di lisina HCl per ridurre al minimo la viscosità e 130 mM di trealosio per ridurre al minimo l'aggregazione raggiungerà una condizione isotonica quando sarà presente 25 mM di tampone istidina. Il livello di polisorbato richiederà un'ottimizzazione aggiuntiva.		

Sulla base dei risultati dell'analisi, è stata ulteriormente valutata una formulazione con MEDI-546 a 150 mg/mL in 25 mM di istidina/istidina HCl, 50 mM di lisina HCl, 130 mM di trealosio disidratato, 0,05% di polisorbato 80 e un pH di 5,9.

Esempio 6

Conferma della viscosità e della funzionalità di una siringa per una formulazione di anticorpi

Idealmente la forza di scorrimento per una siringa pre-riempita dovrebbe essere la più bassa possibile per garantire la funzionalità. In questo lavoro puntiamo a una viscosità inferiore a 20 mPas e ad una forza di scorrimento inferiore a 15 N. L'esperienza precedente è stata che formulazioni con viscosità nominali inferiori a 15 mPas hanno prestazioni di scorrimento accettabili quando equipaggiate con aghi a parete sottile da 27 Gauge. Fino a 20 mPas sono possibili in PFS STW da 27 Ga. La formulazione e PFS dovrebbero includere robustezza per tenere conto della variabilità nelle siringhe e nella formulazione.

In questa sezione documentiamo dati aggiuntivi che dimostrano la robustezza di una curva di viscosità vs concentrazione di formulazione rispetto a una formulazione con lisina HCl di fascia bassa (25 mM). In questa sezione vengono valutati anche i risultati delle prestazioni di scorrimento e della fattibilità del tempo di iniezione con la formulazione nominale in PFS STW da 27 Ga.

Robustezza e impatto del livello di lisina HCl sul profilo di viscosità

Una serie di diluizioni di MEDI-546 da 100 a 200 mg/mL è stata preparata in due formulazioni. Contenevano MEDI-546 in 25 mM di istidina/istidina-HCl, 130 mM di trealosio diidrato con 0,02% di polisorbato 80 a pH 6,0 con 25 mM o 50 mM di lisina HCl. Le curve di viscosità sono mostrate in Figura 3. I risultati mostrano che la viscosità delle formulazioni con livelli di lisina sia bassi (25 mM) che nominali (50 mM) è accettabile a 150 mg/mL (<15 mPas) e che entrambi sono al di

sotto di circa 20 mPas a 165 mg/mL. Pertanto sono stati confermati i risultati secondo cui il livello nominale di 50 mM di lisina HCl è adeguatamente compreso dal livello inferiore di 25 mM in termini di prestazioni di viscosità. In base all'impatto del pH sulla viscosità e ai possibili effetti di tipo Dorman durante TFF, il pH della formulazione di anticorpi è stato selezionato per essere 5,9.

Valutazione della funzionalità della formulazione di anticorpi in siringhe pre-riempite

La Tabella 7 fornisce i risultati della valutazione della funzionalità di una formulazione avente MEDI-546 a 150 mg/mL in 25 mM di istidina/istidina HCl, 50 mM di lisina HCl, 130 mM di trealosio diidrato, 0,05% di polisorbato 80 e un pH di 5,9.

Le forze richieste per iniettare il prodotto farmaceutico MEDI-546 erano entro intervalli accettabili. La Tabella 8 fornisce i risultati della valutazione sull'iniezione da parte dell'utilizzatore (analisti di laboratorio). Gli utilizzatori hanno riferito che "la forza di iniezione era comoda"; i guanti per artrite rendevano difficile maneggiare APFS"; "il dispositivo SSI ha funzionato". È stata rilevata una certa variabilità nella velocità di iniezione dovuta al fatto che gli utenti non erano avvezzi all'uso di guanti e di un dispositivo per esercitarsi con le iniezioni (nota: la forza di iniezione non è stata considerata un problema). Questi risultati indicano che questa formulazione è adatta per l'uso in una PFS con un ago STW da 27 Ga. Questi studi non hanno identificato alcun problema con la viscosità delle formulazioni di anticorpi.

Tabella 7 - Valutazione della funzionalità della formulazione di anticorpi

Replicato	Forza di sblocco (N)	Forza di scorrimento media (N)	Forza di scorrimento max. (N)	Forza max. ass. (N)
1	8,0	7,3	8,0	8,5
2	7,0	8,7	9,1	9,1
3	7,8	7,7	8,2	8,5

Tabella 8 - Valutazione del tempo di iniezione da parte dell'utilizzatore

Analista	Tempo di iniezione (s) - usando guanti per artrite e APFS (flangia, dispositivo SSI)	Tempo di iniezione (s) - PFS scoperta
1	9,8	15,6
2	17	10,4
3	8,1	5,9

Esempio 7

Effetti della lisina e di proteine sulla viscosità

La viscosità di soluzioni di lisina a differenti concentrazioni è stata misurata in funzione della concentrazione di proteina (anifrolumab), come mostrato nella Tabella 9 e nella Figura 4.

13

Tabella 9

lisina 0 mM	
conc. (mg/mL)	viscosità (cP)
130,5	8,3
145,8	12,3
180,5	38,4
lisina 5 mM	
conc. (mg/mL)	viscosità (cP)
133,5	8,6
147,8	13,5
174,4	33,0
lisina 12,5 mM	
conc. (mg/mL)	viscosità (cP)
134,6	6,6

B

lisina 12,5 mM	
147,5	11,9
176,4	20,1
lisina 25 mM	
conc. (mg/mL)	viscosità (cP)
135,9	6,1
148,2	8,6
181,6	17,5
lisina 50 mM	
conc. (mg/mL)	viscosità (cP)
135,8	5,6
148,3	6,8
178,8	11,1

La viscosità di soluzioni di anticorpo (anifrolumab) a differenti concentrazioni è stata misurata come funzione della concentrazione di proteine, come mostrato nella Tabella 10 e nella Figura 5.

Tabella 10

Bersaglio 135 mg/ml	
mM di lisina	viscosità (cP)
0	8,3
5	8,6
12,5	6,6
25	6,1
50	5,6
Bersaglio 150 mg/ml	
mM di lisina	viscosità (cP)
0	12,3
5	13,5
12,5	11,9
25	8,6
50	6,8

B

Bersaglio 150 mg/ml	
Bersaglio 180 mg/ml	
mM di lisina	viscosità (cP)
0	38,4
5	33,0
12,5	20,1
25	17,5
50	11,1

Gli esempi mostrati sopra illustrano vari aspetti dell'invenzione e la messa in pratica dei metodi dell'invenzione.

ELENCO DELLE SEQUENZE

<110> DEPAZ, ROBERTO

DEJESUS, NATALIE

BEE, JARED

<120> "FORMULAZIONE ANTI-IFNAR1 STABILE"

<130> IFNAR-350WO1

<140> 62/207164

<141> 19-05-2015

<160> 2

<170> PatentIn versione 3.5

<210> 1

B

<211> 117

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Descrizione di sequenza artificiale: Sintetico

polipeptide

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Cys Leu Glu Ser Met

B

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Ile Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Ile Glu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Descrizione di sequenza artificiale: Sintetico

polipeptide

<400> 2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

B

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Phe Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Leu Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Ala

B

85

90

95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100

105

RIVENDICAZIONI

1. Formulazione di anticorpi comprendente:

a. 100 a 200 mg/mL di anifrolumab;

b. dallo 0,02% all'0,08% di un tensioattivo, in cui il tensioattivo è selezionato dal gruppo costituito da polisorbato 20, polisorbato 80 e polossamero;

c. da 100 mM a 150 mM di un eccipiente non carico, in cui l'eccipiente non carico è selezionato dal gruppo costituito da fruttosio, glucosio, mannosio, sorbosio, xilosio, lattosio, maltosio, saccarosio, destrano, pullulano, destrina, ciclodestrine, amido solubile, trealosio, sorbitolo, eritritolo, isomalto, lattitolo, maltitolo, xilitolo, glicerolo, lattitolo, amido idrossietilico e glucani idrosolubili;

d. un tampone di formulazione; e

e. da 25 a 130 mM di un sale di lisina:

in cui la formulazione è ad un pH da 5,5 a 6,5,

e in cui la formulazione ha una viscosità uguale o inferiore a 20 mPas a 25 °C.

2. Formulazione di anticorpi di rivendicazione 1, in cui la formulazione è ad un pH di 5,9.

3. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il sale di lisina è selezionato dal gruppo costituito da lisina acetato, lisina

monocloruro, lisina dicloruro, lisina L-aspartato, lisina L-glutammato e lisina HCl.

4. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il tensioattivo è polisorbato 80.

5. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui la formulazione comprende lo 0,05% di un tensioattivo.

6. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il tampone di formulazione è un tampone acetato, tampone TRIS, tampone HEPES, tampone cloridrato, tampone arginina, tampone glicina, tampone citrato, tampone istidina o tampone TES.

7. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il tampone di formulazione è un tampone istidina, facoltativamente in cui il tampone istidina comprende istidina cloridrato.

8. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il tampone di formulazione è istidina/istidina cloridrato.

9. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il tampone di formulazione comprende da 10 mM a 40 mM di istidina/istidina cloridrato, facoltativamente in cui il tampone comprende 25 mM di istidina/istidina cloridrato.

10. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui l'eccipiente non carico è selezionato dal gruppo costituito da glucosio, saccarosio, trealosio e glicerolo, facoltativamente in cui l'eccipiente non carico è trealosio, facoltativamente in cui l'eccipiente non carico è trealosio diidrato.



11. Formulazione di anticorpi di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui la formulazione è adatta per somministrazione endovenosa, sottocutanea, o intramuscolare.

12. Siringa preriempita contenente la formulazione di anticorpi di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 11.

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.

LEGENDA DELLE TAVOLE DEI DISEGNI

TAVOLA 1/5

Figura 1

“Viscosity vs. pH (25°C)” = Viscosità vs. pH (25 °C)

“Viscosity” = Viscosità

TAVOLA 2/5

Figura 2

“Viscosity vs. LysineHCl (25°C)” = Viscosità vs. Lisina HCl (25 °C)

“Viscosity” = Viscosità

“LysineHCl” = Lisina HCl

TAVOLA 3/5

Figura 3

“MEDI-546 Viscosity Screening” = Screening della viscosità di MEDI-546

“Viscosity” = Viscosità

“Concentration” = Concentrazione

“25 mM his, 25 mM lys, 130 mM treh, pH 6.0” = 25 mM his, 25 mM lys, 130 mM treh, pH 6,0

“25 mM his, 50 mM lys, 130 mM treh, pH 6.0” = 25 mM his, 50 mM lys, 130 mM treh, pH 6,0

TAVOLA 4/5

Figura 4

“Viscosity vs Protein Conc” = Viscosità vs Conc. delle proteine

“Viscosity” = Viscosità

B

“Protein Concentration” = Concentrazione delle proteine

TAVOLA 5/5

Figura 5

“Viscosity vs Lysine Conc” = Viscosità vs Conc. di Lisina

“Viscosity” = Viscosità

“mM lysine-HCl” = mM di lisina-HCl

B

FIG. 1

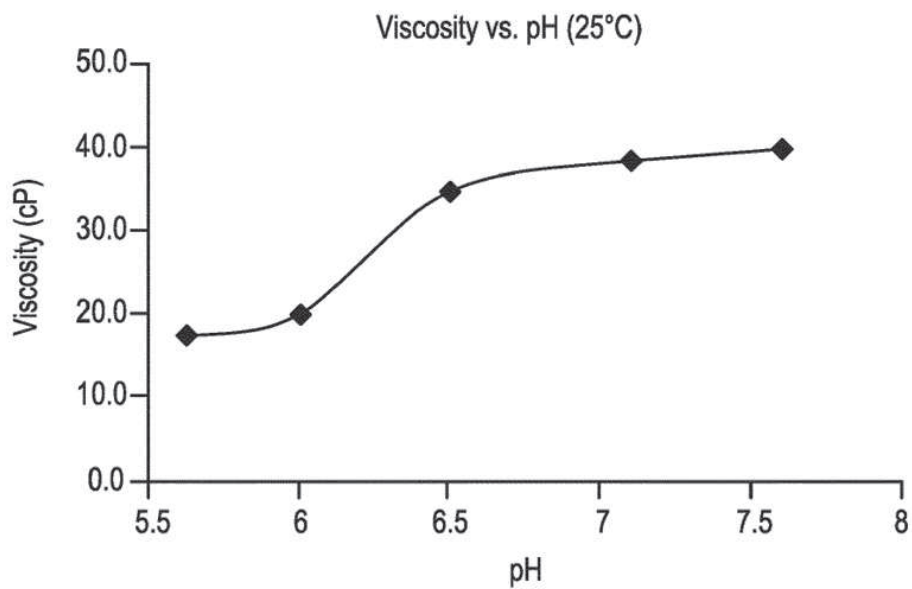
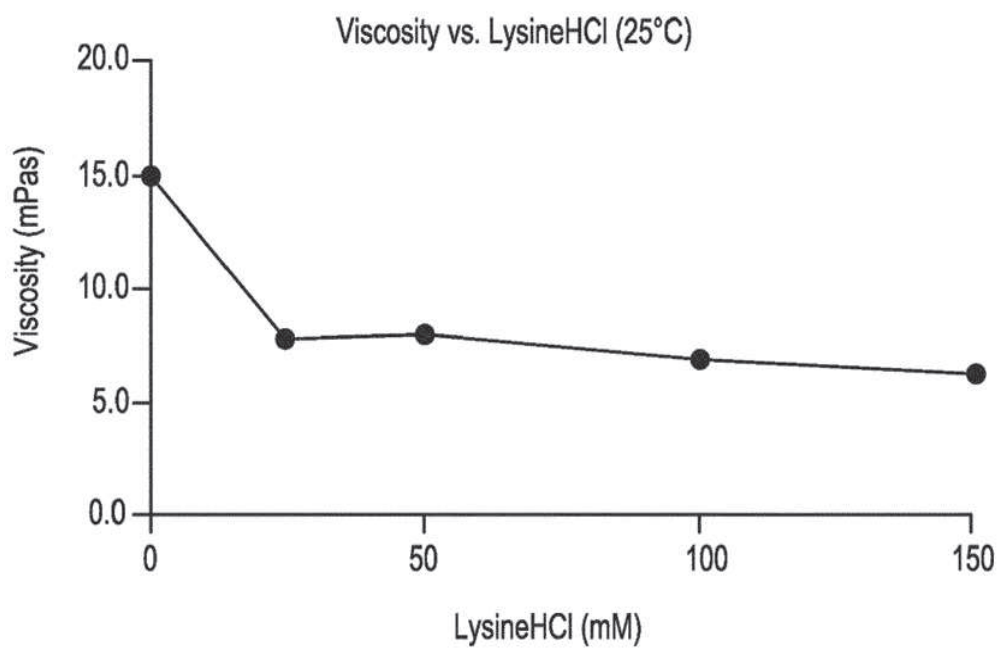


FIG. 2



B

FIG. 3

MEDI-546 Viscosity Screening

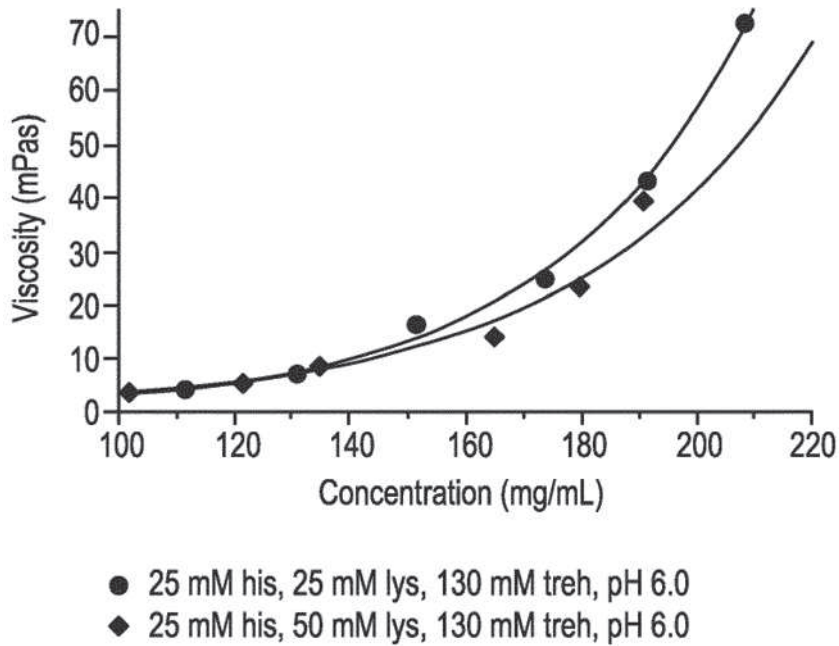
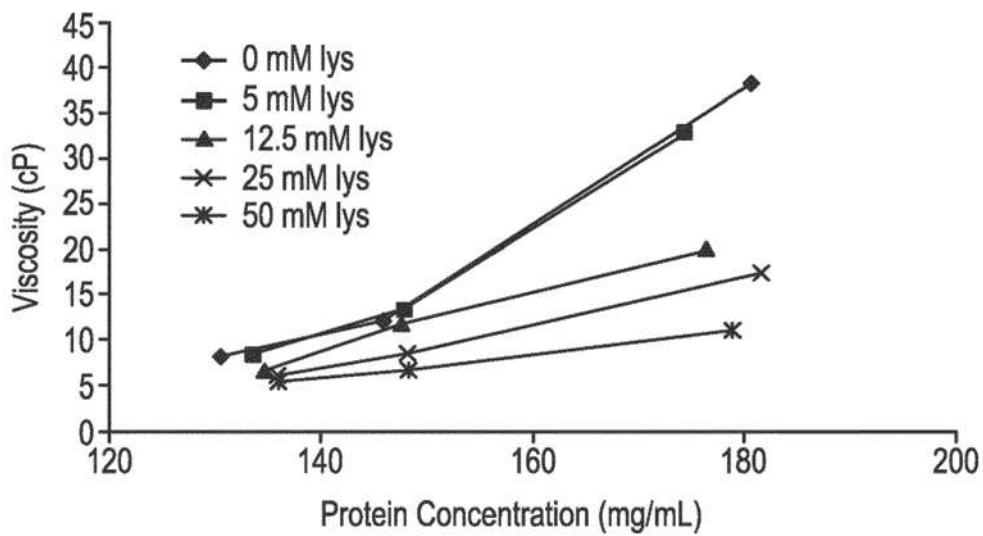


FIG. 4

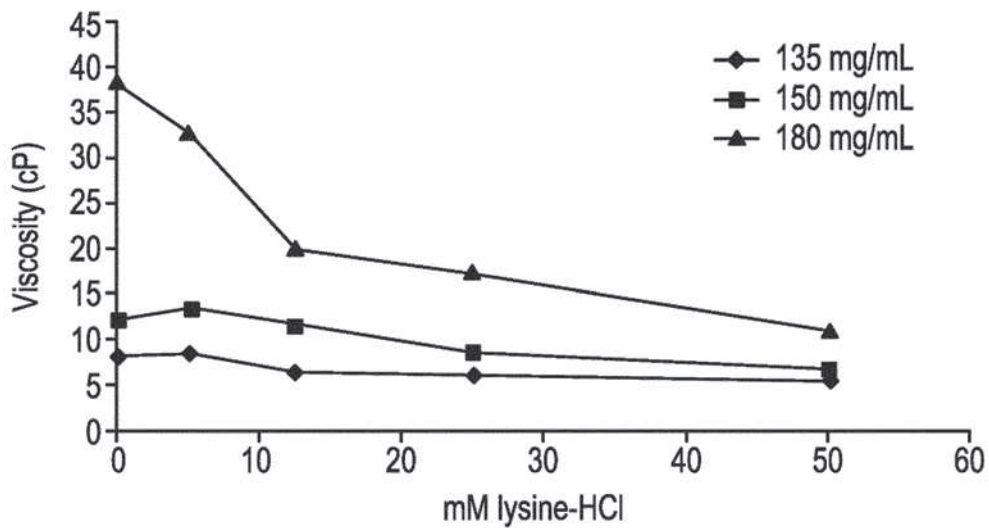
Viscosity vs Protein Conc



B

FIG. 5

Viscosity vs Lysine Conc



B

ELENCO DELLE SEQUENZE

<110> DEPAZ, ROBERTO

DEJESUS, NATALIE

BEE, JARED

<120> "FORMULAZIONE ANTI-IFNAR1 STABILE"

<130> IFNAR-350WO1

<140> 62/207164

<141> 19-05-2015

<160> 2

<170> PatentIn versione 3.5

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Descrizione di sequenza artificiale: Sintetico
polipeptide

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1

5

10

15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Cys Leu Glu Ser Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Ile Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Ile Glu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

B

<213> Sequenza artificiale

<220>

<223> Descrizione di sequenza artificiale: Sintetico
polipeptide

<400> 2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly 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 Ser Ser
 20 25 30

Phe Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Leu Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Ala
 85 90 95

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