

TRADUZIONE DEL BREVETTO EUROPEO N. 3479819 INTITOLATO:
"PREPARAZIONE FARMACEUTICA LIQUIDA STABILE"

*** **

DESCRIZIONE

Campo dell'invenzione

La presente invenzione riguarda una formulazione farmaceutica liquida stabile.

Descrizione dell'arte correlata

Il fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α) è una proteina di segnalazione cellulare (citochina) che è coinvolta nell'infiammazione sistemica ed è una citochina che media risposte in fase acuta. TNF- α è correlata a varie malattie e disturbi, tra cui setticemia, infezione, malattie autoimmuni e rigetto di trapianto. TNF- α stimola risposte immunitarie e causa molti problemi clinici associati ad anomalie autoimmuni come artrite reumatoide, spondilite anchilosante, colite ulcerosa, malattia di Crohn nell'adulto, malattia di Crohn pediatrica, psoriasi, artrite psoriasica e simili. Tali anomalie possono essere trattate usando inibitori di TNF- α .

Infliximab è un tipo di anticorpo monoclonale chimerico che può funzionare come inibitore di TNF- α . Formulazioni convenzionali contenenti questo anticorpo vengono preparate come polveri liofilizzate, che vengono ricostituite, diluite e iniettate per via endovenosa usando un regime posologico determinato secondo ciascuna malattia.

Per esempio, l'etichetta di Remicade divulga una formulazione liofilizzata contenente infliximab, saccarosio, polisorbato 80 e fosfato di

sodio. Per l'iniezione endovenosa, divulga un passaggio di ricostituzione di aggiunta di acqua iniettabile alla formulazione liofilizzata, e un passaggio di diluizione della formulazione ricostituita con soluzione salina iniettabile contenente cloruro di sodio.

Tuttavia, la modalità di somministrazione della formulazione convenzionale come descritto sopra (liofilizzazione → ricostituzione → diluizione → somministrazione endovenosa) presenta problemi in quanto è costosa, complicata e causa disagio al paziente dovuto alla somministrazione frequente, rigetto ed effetti collaterali, e dal fatto che una persona che somministra la formulazione è limitata a una persona di formazione medica.

Anche adalimumab è un tipo di anticorpo monoclonale umano che può funzionare come inibitore di TNF- α . Una formulazione liquida contenente adalimumab è divulgata in, per esempio, nell'etichetta di Humira. Inoltre, la pubblicazione della domanda di brevetto coreana n. 10-2014-0134689 divulga una formulazione liquida contenente adalimumab, fosfato di sodio, citrato di sodio, acido citrico, mannitolo, cloruro di sodio e polisorbato 80 (Esempio 1), e una formulazione liquida migliorata contenente adalimumab, fosfato di sodio, citrato di sodio, acido citrico, mannitolo, arginina, cloruro di sodio e polisorbato 80 (Esempio 2).

Tuttavia, nel caso delle formulazioni farmaceutiche liquide sopra-descritte contenenti NaCl o KCl come agente isotonico, potrebbero verificarsi problemi quali precipitazione e gelatinizzazione, e quando la

concentrazione di anticorpo è bassa quanto 50 mg/ml, la frequenza di somministrazione e il ciclo di somministrazione possono essere limitati.

Di conseguenza, sussiste la necessità di una formulazione farmaceutica liquida stabile che possa superare i problemi delle formulazioni farmaceutiche liquide convenzionali sopra-descritte e che contenga un anticorpo, in particolare infliximab, come un inibitore di TNF- α .

WO 2015/177057 riguarda composizioni farmaceutiche liquide di adalimumab, che includono adalimumab o un relativo biosimile, un agente/sistema tamponante acetato come acetato di sodio/acido acetico, e uno stabilizzante a base di zucchero come trealosio.

WO 2013/164837 divulga formulazioni liquide comprendenti una quantità adatta di una o più proteine terapeutiche, preferibilmente anticorpi monoclonali, in uno o più tamponi adatti, uno o più stabilizzanti adatti, e altri eccipienti che sono facoltativamente selezionati tra tensioattivi e agenti di tonicità adatti.

WO 2006/044908 descrive formulazioni anticorpali, includenti anticorpi monoclonali formulati in tampone istidina-acetato, nonché una formulazione comprendente un anticorpo che si lega al dominio II di HER2 (per esempio, pertuzumab), e una formulazione comprendente un anticorpo che si lega a DR5 (per esempio, apomab).

WO 2016/066688 divulga formulazioni farmaceutiche acquose liquide di adalimumab a base di sistemi tampone alternativi al citrato/fosfato.

WO 2015/151115 riguarda una composizione farmaceutica liquida comprendente un anticorpo anti-TNF α , tampone, stabilizzante e tensioattivo.

DIVULGAZIONE

Problema tecnico

È un obiettivo della presente invenzione fornire una formulazione farmaceutica liquida stabile che ha bassa viscosità contenente al contempo un contenuto elevato di un anticorpo.

Un altro obiettivo della presente invenzione consiste nel fornire una formulazione farmaceutica liquida avente eccellente stabilità di conservazione a lungo termine basata su eccellente stabilità in condizioni accelerate e condizioni severe.

Ancora un altro obiettivo della presente invenzione consiste nel fornire una formulazione farmaceutica liquida stabile che possa essere somministrata per via sottocutanea.

Soluzione tecnica

Una formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione contiene: (A) infliximab; (B) un tensioattivo; (C) uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e (D) un tampone comprendente acetato o istidina.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, infliximab (A) può essere contenuto a una concentrazione da 10 a 200 mg/ml.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tensioattivo (B) può comprendere polisorbato, polossamero o una relativa miscela.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tensioattivo (B) può comprendere polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80 o una miscela di due o più di essi.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tensioattivo (B) può comprendere polisorbato 80.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tensioattivo (B) può essere contenuto a una concentrazione dallo 0,02 allo 0,1% (p/v).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, l'uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio (C) possono essere contenuti a una concentrazione dall'1 al 10% (p/v).

Nella presente invenzione, il tampone (D) comprende acetato o istidina.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tampone (D) può avere una concentrazione da 1 a 50 mM.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione può avere un pH da 4,0 a 5,5.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione può essere priva di acido aspartico, lisina, arginina, o relative miscele.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione può essere priva di NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na₂SO₄, NaSCN, K₂SO₄ o relative miscele.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione può essere priva di un agente chelante.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione può avere una viscosità da 0,5 cp a 10 cp come misurata dopo 1 mese di conservazione a 40 °C ± 2 °C, o una viscosità da 0,5 cp a 5 cp come misurato dopo 6 mesi di conservazione a 5 °C ± 3 °C.

Una formulazione farmaceutica liquida stabile secondo una forma di realizzazione della presente invenzione può contenere: (A) da 90 a 145 mg/ml di infliximab; (B) dallo 0,02 allo 0,1% (p/v) di un tensioattivo; (C) dall'1 al 10% (p/v) di uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e (D) da 1 a 50 mM di un tampone comprendente acetato o istidina.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere per somministrazione sottocutanea.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può non essere sottoposta a un passaggio di ricostituzione, un passaggio di diluizione o entrambi, prima dell'uso.

Una siringa preriempita secondo una forma di realizzazione della presente invenzione viene riempita con la formulazione farmaceutica liquida stabile.

Un auto-iniettore secondo una forma di realizzazione della presente invenzione include la siringa preriempita al suo interno.

Effetti vantaggiosi

La formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione ha bassa viscosità contenente al contempo un contenuto elevato di un anticorpo, ha eccellente stabilità di conservazione a lungo termine basata su eccellente stabilità in condizioni accelerate e condizioni severe, e può essere somministrata per via sottocutanea.

DESCRIZIONE DI FORME DI REALIZZAZIONE SPECIFICHE

Formulazione farmaceutica liquida stabile

Una formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione contiene: (A) infliximab; (B) un tensioattivo; (C) uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e (D) un tampone comprendente acetato o istidina.

Come usata qui, l'espressione "priva/o di" significa che la formulazione è completamente priva del componente corrispondente. In aggiunta, l'espressione indica che la formulazione è sostanzialmente priva del componente corrispondente, cioè, contiene il componente corrispondente in una quantità che non influenza l'attività dell'anticorpo e la stabilità e la viscosità della formulazione farmaceutica liquida. Per esempio, l'espressione indica che la formulazione contiene il

componente corrispondente in una quantità dallo 0 all'1% (p/v), da 0 a 1 ppm (p/v), o da 0 a 1 ppb (p/v), in base al peso totale della formulazione farmaceutica liquida.

(A) Anticorpo o suo frammento legante l'antigene

Il termine "anticorpo" si riferisce a molecole immunoglobuliniche composte da quattro catene polipeptidiche, due catene pesanti e due catene leggere interconnesse da ponti disolfuro. Altri anticorpi presenti in natura aventi una struttura alterata, per esempio, anticorpi camelidi, sono anche inclusi in questa definizione. Ciascuna catena pesante è composta da una regione variabile di catena pesante e da una regione costante di catena pesante. La regione costante di catena pesante è costituita da tre domini (CH1, CH2 e CH3). Ciascuna catena leggera è composta da una regione variabile di catena leggera e una regione costante di catena leggera. La regione costante di catena leggera è composta da un dominio (CL). La regione variabile di catena pesante e la regione variabile di catena leggera possono essere ulteriormente suddivise in regioni di ipervariabilità, denominate regioni determinanti la complementarità (CDR), inframmezzate da regioni che sono più conservate, denominate regioni cornice (FR). Ciascuna tra la regione variabile di catena pesante e la regione variabile di catena leggera è costituita da tre CDR e quattro FR, che sono disposti dall'ammino-terminale al carbossi-terminale nel seguente ordine: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Secondo la presente invenzione, la formulazione farmaceutica contiene infliximab come anticorpo, un anticorpo monoclonale chimerico

IgG umano-murino. L'anticorpo monoclonale chimerico IgG umano-murino è costituito da regioni variabili di catena pesante e di catena leggera murine e regioni costanti di catena pesante e di catena leggera umane legate a esso. L'anticorpo monoclonale chimerico IgG umano-murino può essere prodotto secondo un metodo noto nell'arte. Per esempio, infliximab può essere prodotto secondo un metodo descritto nel brevetto US n. 6,284,471.

Secondo la presente invenzione, la formulazione farmaceutica contiene infliximab come anticorpo, un anticorpo che si lega a TNF- α o all'epitopo di TNF- α .

La concentrazione di infliximab può essere liberamente controllata entro un intervallo che non influisce sostanzialmente negativamente sulla stabilità e sulla viscosità della formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione. In una forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione di infliximab può essere da 10 a 200 mg/ml. In un'altra forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione di infliximab può essere da 50 a 200 mg/ml. In ancora un'altra forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione di infliximab può essere da 80 a 150 mg/ml. In ancora un'altra forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione di infliximab può essere da 90 a 145 mg/ml. In ancora un'altra forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione di infliximab può essere da 110 a 130 mg/ml. Se la concentrazione di infliximab rientra nell'intervallo sopra-

descritto, l'elevato contenuto di infliximab consente di aumentare il grado di libertà della dose e il ciclo di somministrazione, e la formulazione farmaceutica può presentare eccellente stabilità a lungo termine e bassa viscosità.

(B) Tensioattivo

Esempi del tensioattivo includono, ma non sono limitati a, estere di acido grasso di poliossietilene sorbitano (ad esempio, polisorbato), poliossietilen alchil etere (ad esempio, Brij), alchilfenil poliossietilen etere (ad esempio, Triton-X), copolimeri poliossietilene-poliossipropilene (ad esempio, Polossamero, Pluronic), sodio dodecil solfato (SDS), e simili.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tensioattivo può comprendere estere di acido grasso di poliossietilene sorbitano (polisorbato). Il polisorbato può comprendere polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80 o una miscela di due o più di essi. In una forma di realizzazione della presente invenzione, il polisorbato può comprendere polisorbato 20, polisorbato 80 o una relativa miscela. In un'altra forma di realizzazione della presente invenzione, il polisorbato può comprendere polisorbato 80.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione del tensioattivo può essere liberamente controllata entro un intervallo che non influisce sostanzialmente negativamente sulla stabilità e sulla viscosità della formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione. Per esempio, la concentrazione del tensioattivo può essere dallo 0,001 al 5% (p/v), dallo 0,01 all'1% (p/v), o

dallo 0,02 allo 0,1% (p/v). Se la concentrazione del tensioattivo rientra nell'intervallo sopra-descritto, la composizione farmaceutica può presentare eccellente stabilità a lungo termine e bassa viscosità.

(C) Zucchero e suo derivato

Secondo la presente invenzione, (C) è sorbitolo, mannitolo, trealosio, saccarosio o una miscela di due o più di essi.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione dell'uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio può essere liberamente controllata entro un intervallo che non influisce sostanzialmente negativamente sulla stabilità e sulla viscosità della formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione. Per esempio, la concentrazione dello zucchero o del suo derivato può essere dallo 0,1 al 30% (p/v), dall'1 al 20% (p/v) o dall'1 al 10% (p/v). Se la concentrazione dell'uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio può essere entro questo intervallo, la composizione farmaceutica può presentare eccellente stabilità a lungo termine e bassa viscosità.

(D) Tampone

Il tampone che viene usato nella presente invenzione è una sostanza neutralizzante che minimizza la variazione di pH causata da una sostanza acida o alcalina. Esempi del tampone includono fosfato, acetato, succinato, gluconato, glutammato, citrato, istidina, e simili. Nella presente invenzione, il tampone comprende acetato o istidina. Se il

tampone comprende sia acetato che istidina, la stabilità della formulazione farmaceutica può essere ridotta.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tampone può comprendere acetato. Esempi dell'acetato includono, ma non sono limitati a, acetato di sodio, acetato di zinco, acetato di alluminio, acetato di ammonio, acetato di potassio e simili. Per la regolazione del pH, il tampone può inoltre comprendere un acido, per esempio, acido acetico. Quando il tampone comprende acetato, può essere massimamente preferibile in termini di regolazione del pH e stabilità.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il tampone può comprendere istidina. Quando il tampone comprende istidina, può comprendere un sale di istidina, per esempio, istidina cloruro, istidina acetato, istidina fosfato, istidina solfato o simili. Per la regolazione del pH, il tampone può comprendere un acido, per esempio, acido cloridrico, acido acetico, acido fosforico, acido solforico o simili.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di citrato, fosfato o una relativa miscela.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la concentrazione del tampone (o l'anione del tampone) può essere liberamente controllata entro un intervallo che non influisce sostanzialmente negativamente sulla stabilità e sulla viscosità della formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione. Per esempio, la concentrazione del tampone o del suo

anione può essere da 1 a 50 mM, da 5 a 30 mM, o da 10 a 25 mM. Se la concentrazione del tampone o del suo anione è entro questo intervallo, la composizione farmaceutica può presentare eccellente stabilità a lungo termine e bassa viscosità.

(E) pH

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il pH della composizione farmaceutica liquida stabile può essere da 4,0 a 5,5, o da 4,7 a 5,3. Se il pH è entro questo intervallo, la composizione farmaceutica può presentare eccellente stabilità a lungo termine e bassa viscosità. Il pH della formulazione farmaceutica può essere regolato usando il tampone. In altre parole, se la formulazione farmaceutica contiene un certo contenuto del tampone, può presentare il pH nell'intervallo sopra-descritto senza dover usare un agente di regolazione del pH separato. Se citrato, fosfato o una relativa miscela è usato/a come tampone, può essere difficile mostrare il pH nell'intervallo sopra-descritto. Se la formulazione farmaceutica contiene inoltre un acido (ad esempio, acido cloridrico) o una base (ad esempio, idrossido di sodio) come agente di regolazione del pH separato, la stabilità dell'anticorpo può essere ridotta.

(F) Altri componenti

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di acido aspartico, lisina, arginina, o relative miscele. Se la formulazione farmaceutica liquida stabile contiene questi amminoacidi, può diventare

solida. In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può contenere uno o più amminoacidi, esclusi i tre amminoacidi sopra-descritti. In questo caso, la formulazione farmaceutica liquida stabile può contenere l'uno o più amminoacidi in una quantità del 5% (p/v) o meno, per esempio, dallo 0,001 al 5% (p/v), dallo 0,001 all'1% (p/v), dallo 0,01 al 5% (p/v), dallo 0,01 all'1% (p/v), dallo 0,1 al 5% (p/v), o dallo 0,1 all'1% (p/v).

In un'altra forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può contenere taurina. In questo caso, la taurina può essere contenuta in una quantità del 5% (p/v) o meno, per esempio, dallo 0,001 al 5% (p/v), dallo 0,001 all'1% (p/v), dallo 0,01 al 5% (p/v), dallo 0,01 all'1% (p/v), dallo 0,1 al 5% (p/v), o dallo 0,1 all'1% (p/v).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na₂SO₄, NaSCN, K₂SO₄ o simili come un sale di metallo. Se la formulazione farmaceutica liquida stabile contiene questi sali di metalli, può avvenire la precipitazione nella formulazione, e la formulazione può essere gelatinizzata e può avere scarsa stabilità.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di un agente chelante (ad esempio, EDTA). Se la formulazione farmaceutica contiene un agente chelante, il suo tasso di ossidazione può essere aumentato.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di un conservante. Esempi del conservante includono ottadecil dimetilbenzil ammonio cloruro, esametonio cloruro, benzalconio cloruro, benzetonio cloruro, fenolo, butil alcol, benzil alcol, alchil parabene, catecolo, resorcinolo, cicloesano, 3-pentanol, m-cresolo e simili. Se la formulazione farmaceutica contiene il conservante, il conservante potrebbe non contribuire a migliorare la stabilità della formulazione farmaceutica.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile della presente invenzione può inoltre contenere un additivo noto nell'arte, che non influenza sostanzialmente negativamente l'attività dell'anticorpo e la stabilità e la bassa viscosità della formulazione. Per esempio, la formulazione farmaceutica può inoltre contenere un trasportatore acquoso, un antiossidante o una miscela di due o più di essi. Il trasportatore acquoso è un trasportatore che è farmaceuticamente accettabile (sicuro e non tossico quando somministrato agli esseri umani) ed è utile per la preparazione di formulazioni farmaceutiche liquide. Esempi del trasportatore acquoso includono, ma non sono limitati a, acqua sterile per iniezione (SWFI), acqua batteriostatica per iniezione (BWFI), soluzione salina sterile, soluzione di Ringer, destrosio e simili. Esempi dell'antiossidante includono, ma non sono limitati a, acido ascorbico e simili.

(G) Formulazione farmaceutica liquida "stabile"

Il termine "stabile" nella formulazione farmaceutica liquida "stabile" della presente invenzione indica che infliximab essenzialmente mantiene la sua stabilità fisica e/o stabilità chimica e/o attività biologica durante la produzione e/o al momento della conservazione. Varie tecniche analitiche per misurare la stabilità proteica sono facilmente disponibili nell'arte.

La stabilità fisica può essere valutata mediante metodi noti nell'arte, che includono la misurazione di un'attenuazione apparente della luce del campione (assorbanza o densità ottica). Una tale misurazione di attenuazione della luce è correlata alla torbidità di una formulazione. In aggiunta, per stabilità fisica, i contenuti dei componenti ad alto peso molecolare, i contenuti dei componenti a basso peso molecolare, le quantità di proteine intatte, il numero di particelle subvisibili, e simili, possono essere misurati.

La stabilità chimica può essere valutata mediante, per esempio, rilevamento e quantificazione chimica delle forme alterate dell'anticorpo. La stabilità chimica include alterazione della carica (per esempio, che si verifica come risultato di deammidazione o ossidazione) che può essere valutata mediante, per esempio, cromatografia a scambio ionico. Per la stabilità chimica, possono essere misurate le varianti di carica (picchi acidi o basici).

L'attività biologica può essere valutata mediante metodi noti nell'arte. Per esempio, l'affinità di legame all'antigene può essere misurata mediante ELISA.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida può essere stabile per un lungo periodo di tempo.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, l'espressione formulazione farmaceutica liquida "stabile" indica una formulazione farmaceutica liquida che soddisfa uno o più dei seguenti criteri.

Torbidità

- una formulazione farmaceutica liquida avente un'assorbanza A_{600} da 0 a 0,0300, o da 0 a 0,0700, come misurata mediante uno spettrofotometro dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$;

- una formulazione farmaceutica liquida avente un'assorbanza A_{600} da 0 a 0,0300, o da 0 a 0,0700, come misurata mediante uno spettrofotometro dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa;

Contenuto del componente principale (picco principale)

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di un contenuto del componente principale dopo 4 settimane di

conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ è dal 98% al 100% come misurato mediante SE-HPLC;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di un contenuto del componente principale dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa è dal 98% al 100% come misurato mediante SE-HPLC;

Contenuto dei componenti ad alto peso molecolare (un picco il cui tempo di ritenzione è precedente a quello del picco principale (IgG intatta))

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto dei componenti ad alto peso molecolare dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ è dallo 0 all'1,00% come misurato mediante SE-HPLC;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto dei componenti ad alto peso molecolare dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ in una condizione chiusa è dallo 0 all'1,00% come misurato mediante SE-HPLC;

Contenuto dei componenti a basso peso molecolare (un picco il cui tempo di ritenzione è successivo a quello del picco principale (IgG intatta))

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto dei componenti a basso peso molecolare dopo 12 mesi di conservazione a

una temperatura di $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ è dallo 0 allo 0,40% come misurato mediante SE-HPLC;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto dei componenti a basso peso molecolare dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ in una condizione chiusa è dallo 0 allo 0,40% come misurato mediante SE-HPLC;

Contenuto di immunoglobulina G intatta

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di immunoglobulina G intatta (% di IgG intatta) dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ è dal 94,0% al 100% come misurato mediante CE non ridotta-SDS;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di immunoglobulina G intatta (% di IgG intatta) dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ in una condizione chiusa è dal 94,0% al 100% come misurato mediante CE non ridotta-SDS;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di immunoglobulina G intatta (% di IgG intatta) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ è dal 94,0% al 100% come misurato mediante CE non ridotta-SDS;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di immunoglobulina G intatta (% di IgG intatta) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa è dal 94,0% al 100% come misurato mediante CE non ridotta-SDS;

Contenuto di catena pesante e catena leggera intatte

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (% di HC+LC intatte) dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ è dal 99,0% al 100% come misurato mediante CE ridotta-SDS;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (% di HC+LC intatte) dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ in una condizione chiusa è dal 99,0% al 100% come misurato mediante CE ridotta-SDS;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (% di HC+LC intatte) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ è dal 98,0% al 100% come misurato mediante CE ridotta-SDS;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (% di HC+LC intatte) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa è dal 98,0% al 100% come misurato mediante CE ridotta-SDS;

Numero di particelle subvisibili

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00}\text{ }\mu\text{m}$, $<_{400,00}\text{ }\mu\text{m}$) dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ è da 0 a 1.000 come misurato mediante HIAC;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00} \mu\text{m}$, $<_{400,00} \mu\text{m}$) dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ in una condizione chiusa è da 0 a 1.000 come misurato mediante HIAC;
- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($\geq_{1,00} \mu\text{m}$, $<_{100,00} \mu\text{m}$) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ è da 0 a 30.000 come misurato mediante MFI;
- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($\geq_{1,00} \mu\text{m}$, $<_{100,00} \mu\text{m}$) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa è da 0 a 30.000 come misurato mediante MFI;
- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00} \mu\text{m}$, $<_{100,00} \mu\text{m}$) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ è da 0 a 200 come misurato mediante MFI;
- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00} \mu\text{m}$, $<_{100,00} \mu\text{m}$) dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa è da 0 a 200 come misurato mediante MFI;
- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00} \mu\text{m}$, $<_{100,00} \mu\text{m}$) dopo 6 settimane di

conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ è da 0 a 500 come misurato mediante MFI;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00}\text{ }\mu\text{m}$, $<_{100,00}\text{ }\mu\text{m}$) dopo 6 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa è da 0 a 500 come misurato mediante MFI;

Tasso di ossidazione

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il tasso di ossidazione di Met 255 di catena pesante dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ è dallo 0% al 2,5% come misurato mediante LC-MS;

- una formulazione farmaceutica liquida in cui il tasso di ossidazione di Met 255 di catena pesante dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa è dallo 0% al 2,5% come misurato mediante LC-MS;

Varianti di carica

- una formulazione farmaceutica liquida che presenta un picco acido dal 20% al 35% come misurato mediante IEC-HPLC dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;

- una formulazione farmaceutica liquida che presenta un picco acido dal 20% al 35% come misurato mediante IEC-HPLC dopo 4

settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa;

- una formulazione farmaceutica liquida che presenta un picco basico dal 33% al 40% come misurato mediante IEC-HPLC dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;

- una formulazione farmaceutica liquida che presenta un picco basico dal 33% al 40% come misurato mediante IEC-HPLC dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa;

Affinità di legame di TNF- α

- una formulazione farmaceutica liquida avente a affinità di legame di TNF- α dall'80% al 120% come misurato mediante ELISA dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$; e

- una formulazione farmaceutica liquida avente un'affinità di legame di TNF- α dall'80% al 120% come misurato mediante ELISA dopo 12 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ in una condizione chiusa.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica può avere una viscosità da 0,5 cp a 10,0 cp come misurato dopo 1 mese di conservazione a una temperatura di $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. In un'altra forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica può avere una viscosità da 0,5 cp a 5,0 cp come misurato dopo 6 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Metodo per la preparazione della formulazione farmaceutica

liquida stabile

La formulazione farmaceutica liquida stabile della presente invenzione può essere preparata usando qualsiasi metodo noto che non sia limitato a un metodo particolare. Per esempio, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere preparata mediante l'aggiunta di un tampone a una soluzione contenente un tensioattivo e uno zucchero o suo derivato regolando al contempo il pH della soluzione, e aggiungendo quindi un anticorpo alla soluzione miscelata. In alternativa, la formulazione farmaceutica liquida può essere preparata mediante la preparazione di una soluzione contenente alcuni eccipienti nel passaggio finale di un processo di purificazione, e aggiungendo quindi il componente rimanente alla soluzione. Per esempio, la formulazione farmaceutica liquida può essere preparata mediante la preparazione di una soluzione contenente un anticorpo, un tampone e uno zucchero o suo derivato, e aggiungendo quindi un tensioattivo alla soluzione.

In aggiunta, il metodo per la preparazione della formulazione può comprendere o non comprendere un passaggio di liofilizzazione.

Quando il metodo di preparazione non comprende il passaggio di liofilizzazione, per esempio, la formulazione farmaceutica liquida preparata secondo la presente invenzione può essere trattata mediante sterilizzazione, e quindi posta immediatamente in un contenitore chiuso.

Quando il metodo di preparazione comprende il passaggio di liofilizzazione, per esempio, la formulazione farmaceutica liquida

preparata secondo la presente invenzione può essere liofilizzata o liofilizzata e conservata, e poi i componenti rimossi o modificati mediante liofilizzazione e/o conservazione possono essere supplementati o sostituiti, preparando quindi la formulazione farmaceutica liquida secondo la presente invenzione. In alternativa, solamente i componenti della formulazione farmaceutica liquida della presente invenzione, esclusi i componenti che possono essere rimossi o modificati mediante liofilizzazione e/o conservazione, possono essere liofilizzati o liofilizzati e conservati, e quindi i componenti esclusi possono essere aggiunti a essi, preparando così la formulazione farmaceutica liquida secondo la presente invenzione.

Metodo d'uso della formulazione farmaceutica liquida stabile

La formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione può essere usata per il trattamento di malattie in cui l'attività di TNF- α agisce come fattore dannoso. Esempi di malattie in cui l'attività di TNF- α agisce come fattore dannoso includono, ma non sono limitate a, setticemia, malattie autoimmuni, malattie infettive, rigetto di trapianto, cancro maligno, disturbi polmonari, disturbi intestinali, disturbi cardiaci e simili.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, le malattie in cui l'attività di TNF- α agisce come fattore dannoso possono essere selezionate tra artrite reumatoide, spondilite anchilosante, colite

ulcerosa, malattia di Crohn nell'adulto, malattia di Crohn pediatrica, psoriasi e artrite psoriasica.

La formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la presente invenzione può essere fornita come forma farmaceutica singola, forma farmaceutica multipla o una forma per autoiniezione sottocutanea.

Le concentrazioni di altri componenti, incluso l'anticorpo, nella formulazione farmaceutica liquida, are come descritto sopra, e il volume totale della formulazione farmaceutica liquida può essere da 0,2 a 2,0 mL.

La dose e la tempistica di somministrazione della formulazione farmaceutica liquida possono variare a seconda del tipo di malattia, della gravità e del decorso della malattia, della salute del paziente e della risposta al trattamento, e del giudizio del medico curante, e non sono limitate a dose e tempistica particolari di somministrazione. Per esempio, uno o più prodotti contenenti la formulazione farmaceutica liquida possono essere somministrati a una dose da 1 a 10 mg/kg in base alla concentrazione dell'anticorpo, e quindi la stessa dose o dosi differenti possono essere somministrate a intervalli di una settimana, due settimane, tre settimane, un mese, due mesi o tre mesi.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può non essere sottoposta a un passaggio di ricostituzione, un passaggio di diluizione o entrambi, prima dell'uso.

**Uso della formulazione farmaceutica liquida stabile in
medicina e metodo di stabilizzazione**

La presente invenzione fornisce anche una formulazione farmaceutica liquida stabile contenente: (A) infliximab; (B) un tensioattivo; (C) uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e (D) un tampone per uso nel trattamento di un paziente affetto da una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso.

La presente invenzione fornisce anche un metodo di stabilizzazione di infliximab in una formulazione farmaceutica liquida, il metodo comprendendo la preparazione di una formulazione farmaceutica liquida stabile contenente: (A) infliximab; (B) un tensioattivo; (C) uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e (D) un tampone comprendente acetato o istidina.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso oppure il metodo di stabilizzazione, infliximab (A) può essere contenuto a una concentrazione da 10 a 200 mg/ml.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso oppure il metodo di

stabilizzazione, il tensioattivo (B) può comprendere polisorbato, polossamero o una relativa miscela.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso oppure il metodo di stabilizzazione, il tensioattivo (B) può comprendere polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, o una miscela di due o più di essi.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, il tensioattivo (B) può comprendere polisorbato 80.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, il tensioattivo (B) può essere contenuto a una concentrazione dallo 0,02 allo 0,1% (p/v).

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, l'uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio (C) possono essere contenuti a una concentrazione dall'1 al 10% (p/v).

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, il tampone (D) può comprendere acetato o istidina.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, il tampone (D) può avere una concentrazione da 1 a 50 mM.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può avere un pH da 4,0 a 5,5.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di acido aspartico, lisina, arginina o relative miscele.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere

priva di NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na₂SO₄, NaSCN, K₂SO₄, o relative miscele.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di un agente chelante.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere priva di un conservante.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può inoltre contenere un trasportatore acquoso, un antiossidante o una miscela di due o più di essi.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può avere una viscosità da 0,5 cp a 10 cp come misurata dopo 1 mese di conservazione a una temperatura di 40 °C \pm 2 °C, o una viscosità da 0,5

cp a 5 cp come misurata dopo 6 mesi di conservazione a una temperatura di $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può contenere: (A) da 90 a 145 mg/ml di infliximab; (B) dallo 0,02 allo 0,1% (p/v) di un tensioattivo; (C) dall'1 al 10% (p/v) di uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e (D) da 1 a 50 mM di un tampone comprendente acetato o istidina.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso, la formulazione farmaceutica liquida stabile può essere somministrata per via sottocutanea.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la formulazione farmaceutica liquida stabile può non essere sottoposta a un passaggio di ricostituzione, un passaggio di diluizione o entrambi, prima dell'uso.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di

stabilizzazione, una siringa preriempita può essere riempita con la formulazione farmaceutica liquida stabile prima dell'uso.

In una forma di realizzazione della formulazione farmaceutica liquida stabile come definito sopra per uso nel trattamento di una malattia in cui attività di TNF- α agisce come fattore dannoso o il metodo di stabilizzazione, la siringa preriempita può essere inclusa in un auto-iniettore prima dell'uso.

Prodotto

La presente invenzione fornisce anche un prodotto comprendente: la formulazione farmaceutica liquida stabile; e un contenitore che riceve la formulazione farmaceutica liquida stabile in uno stato chiuso.

La formulazione farmaceutica liquida stabile è come descritto sopra.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il contenitore può essere formato da un materiale come vetro, un polimero (plastica), un metallo o simili ma non è limitato a ciò. In una forma di realizzazione della presente invenzione, il contenitore è una bottiglia, una fiala, una cartuccia, una siringa (siringa preriempita, auto-siringa), o una provetta, ma non è limitato a ciò. In una forma di realizzazione della presente invenzione, il contenitore può essere una fiala di vetro o polimero, o una siringa preriempita di vetro o polimero.

Forme di prodotto specifiche della fiala, cartuccia, siringa preriempita o auto-siringa sopra-descritta, e metodi di riempimento della

fiala, cartuccia, siringa preriempita o auto-siringa con la formulazione farmaceutica liquida stabile possono essere facilmente disponibili o implementate da qualsiasi persona esperta nel campo tecnico a cui appartiene la presente invenzione. Per esempio, i brevetti US n. 4,861,335 e 6,331,174, ecc., divulgano la forma di prodotto specifica di una siringa preriempita e un metodo di riempimento. Per esempio, i brevetti US n. 5,085,642 e 5,681,291, ecc., divulgano la forma di prodotto specifica di un'auto-siringa e un metodo di assemblaggio. La fiala, cartuccia, siringa preriempita o auto-siringa sopra-descritta che viene usata nella presente invenzione può essere un prodotto disponibile in commercio, o un prodotto fabbricato separatamente considerando le proprietà fisiche della formulazione farmaceutica liquida stabile, un'area a cui deve essere somministrata la formulazione, la dose della formulazione, e simili.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, l'interno del contenitore può non essere rivestito con olio siliconico. Se è rivestito con olio siliconico, la stabilità della formulazione può essere ridotta. Il contenitore può essere un contenitore a dose singola o a dose multipla.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il prodotto può inoltre comprendere istruzioni che forniscono un metodo per usare la formulazione farmaceutica liquida stabile, un metodo per conservare la formulazione, o entrambi. Il metodo per usare la formulazione include un metodo per il trattamento di una malattia in cui l'attività di TNF- α agisce come fattore dannoso, e può includere la via di

somministrazione, la dose della formulazione e la tempistica di somministrazione.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, il prodotto può comprendere altri strumenti necessari (ad esempio, un ago, una siringa, ecc.) da un punto di vista commerciale e un punto di vista dell'utilizzatore.

Esempi

L'anticorpo usato nei seguenti esempi sperimentali era infliximab purificato da Remsima disponibile in commercio (prodotto da Celltrion).

La stabilità fisica, la stabilità chimica e l'attività biologica delle formulazioni farmaceutiche liquide usate nei seguenti esempi sperimentali sono state misurate usando i seguenti metodi.

- Torbidità

L'assorbanza a 600 nm è stata misurata usando uno spettrofotometro UV-Vis.

- Contenuto del componente principale

Il contenuto del componente principale (% del picco principale) è stato misurato usando la cromatografia liquida a esclusione dimensionale-ad alta prestazione (HPLC).

- Contenuto dei componenti ad alto peso molecolare

Il contenuto dei componenti ad alto peso molecolare (% pre-picco) è stato misurato usando la cromatografia liquida a esclusione dimensionale-ad alta prestazione (HPLC).

- Contenuto dei componenti a basso peso molecolare

Il contenuto dei componenti a basso peso molecolare (% post-picco) è stato misurato usando la cromatografia liquida a esclusione dimensionale-ad alta prestazione (HPLC).

- Contenuto di immunoglobulina G intatta (% di IgG intatta)

Il contenuto di immunoglobulina G intatta (%) è stato misurato usando elettroforesi capillare non ridotta-Sodio dodecil solfato (NR CE-SDS).

- Contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (% di HC+LC intatte)

Il contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (%) è stato misurato usando elettroforesi capillare ridotta-Sodio dodecil solfato (R CE-SDS).

- Numero di particelle subvisibili

Esempi sperimentali da 1 a 4: il numero di particelle subvisibili è stato misurato usando Micro Flow Imaging (MFI).

Esempio sperimentale 5: il numero di particelle subvisibili è stato misurato usando un contatore di particelle liquide schermanti la luce (modello: HIAC 9703).

- Ossidazione

L'ossidazione (%) della catena pesante Met 255 è stata misurata mediante mappatura peptidica usando cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS).

- Varianti di carica

I picchi acidi e basici (%) sono stati misurati mediante cromatografia a scambio ionico-cromatografia liquida ad alta prestazione (IEC-HPLC).

- Affinità di legame di TNF- α

L'affinità di legame di TNF- α (%) è stata misurata mediante il saggio immuno-assorbente legato a un enzima (ELISA).

- Viscosità

Usando un sistema a flusso micro-capillare (velocità di taglio apparente: da 10^3 a 10^5 s⁻¹) dotato di una cella di flusso (tipo di sensore B05; profondità della cella 50 μ m), la viscosità è stata misurata in una siringa da 500 μ L a 25 °C \pm 0,1 °C.

Esempio sperimentale 1: Confronto di alditolo con NaCl; confronto di tampone acetato/istidina con tampone citrato/fosfato; confronto di pH 4-5,5 con pH 6-7

Per la preparazione di formulazioni farmaceutiche liquide da usare nell'Esempio sperimentale 1, ciascun tampone è stato preparato per avere un pH desiderato, ed è stato aggiunto a esso sorbitolo o NaCl. Poi, è stato aggiunto un anticorpo a esso ed è stato aggiunto un tensioattivo, preparando quindi i campioni mostrati in Tabella 1 di seguito. Il contenuto specifico di ciascun componente è mostrato in Tabella 1 di seguito. La concentrazione del tampone indica la concentrazione molecolare/dell'anione del composto corrispondente. Il volume totale era 1 ml.

Tabella 1

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Alditolo o NaCl	Tampone	pH
Esempio 1	100	Polisorbato 80 0,05% (p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0
Esempio 2	100	Polisorbato 80 0,05% (p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Istidina 10 mM	5,5
Esempio 3	100	Polisorbato 20 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Istidina 10 mM	5,5
Esempio comparativo 1	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	NaCl 140 mM	Acetato di sodio 10 mM	4,0
Esempio comparativo 2	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	NaCl 140 mM	Citrato di sodio 10 mM	5,0
Esempio comparativo 3	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Citrato di sodio 10 mM	5,0

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Alditolo o NaCl	Tampone	pH
Esempio comparativo 4	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	NaCl 140 mM	Istidina 10 mM	5,5
Esempio comparativo 5	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	NaCl 140 mM	Fosfato di sodio 10 mM	6,0
Esempio comparativo 6	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Fosfato di sodio 10 mM	6,0
Esempio comparativo 7	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	NaCl 140 mM	Fosfato di sodio 10 mM	7,0
Esempio comparativo 8	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Fosfato di sodio 10 mM	7,0

Formulazioni farmaceutiche liquide preparate secondo gli Esempi 1 - 3 e gli Esempi comparativi da 1 a 8 sono state conservate per 2 settimane a una temperatura di 40 ± 2 °C e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$. Come risultato, tutte le formulazioni contenenti NaCl (Esempi

comparativi 1, 2, 4, 5 e 7) mostravano precipitazione e una forma simile a gelatina. In aggiunta, anche l'Esempio comparativo 3, contenente sorbitolo, ma contenente citrato di sodio, e l'Esempio comparativo 8 contenente sorbitolo, ma contenente fosfato di sodio, mostrava una forma simile a gelatina.

Tra le formulazioni contenenti sorbitolo, solamente le formulazioni degli Esempi 1, 2 e 3 e dell'Esempio comparativo 6 non hanno mostrato una forma simile a gelatina. Le formulazioni sono state misurate per la loro stabilità dopo 0, 2 e 4 settimane di conservazione a una temperatura di 5 ± 3 °C e per la loro stabilità dopo 2 e 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 ± 2 °C e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$. I risultati della misurazione sono mostrati nelle Tabelle da 2 a 9 di seguito.

Torbidità

Tabella 2

	Dopo 0 settiman e a 5 ± 3 °C	Dopo 2 settiman e a 5 ± 3 °C	Dopo 4 settiman e a 5 ± 3 °C	Dopo 2 settiman e a 40 ± 2 °C	Dopo 4 settiman e a 40 ± 2 °C
Esempio 1	0,0082	0,0060	0,0087	0,0364	0,0263
Esempio 2	0,0099	0,1550	0,0082	0,0291	0,0562
Esempio 3	0,0112	0,0059	0,0082	0,0358	0,0643

	Dopo 0 settiman e a 5±3 °C	Dopo 2 settiman e a 5±3 °C	Dopo 4 settiman e a 5±3 °C	Dopo 2 settiman e a 40±2 °C	Dopo 4 settiman e a 40±2 °C
Esempio comparativ o 6	0,0120	0,0228	0,0138	0,1127	0,3113

Come si può vedere in Tabella 2 sopra, la formulazione dell'Esempio 1, avente un pH di 4 e contenente acetato come tampone, era la migliore in termini di torbidità, e in particolare, ha mostrato un'assorbanza di 0,0300 o inferiore dopo 4 settimane di conservazione a 40 °C. Inoltre, si può constatare che anche le formulazioni degli Esempi 2 e 3, aventi un pH di 5,5 e contenenti istidina come tampone, hanno mostrato un'assorbanza di 0,0700 o inferiore dopo 4 settimane di conservazione a 40 °C.

Tuttavia, si può vedere che la formulazione dell'Esempio comparativo 6, avente un pH di 6 e contenente fosfato come tampone, ha mostrato una torbidità significativamente aumentata dopo 2 e 4 settimane di conservazione a 40 °C.

Contenuto dei componenti ad alto peso molecolare

Tabella 3

	Dopo 0 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 5±3 °C	Dopo 4 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 40±2 °C	Dopo 4 settimane a 40±2 °C
Esempio 1	0,4	0,8	0,6	0,8	0,7
Esempio 2	0,6	1,1	0,9	1,6	1,4
Esempio 3	0,6	1,1	0,8	1,4	1,3
Esempio comparativo 6	0,8	1,5	1,2	2,4	2,3

Come si può vedere in Tabella 3 sopra, la formulazione dell'Esempio 1 ha mostrato il contenuto dei componenti ad alto peso molecolare più basso in tutte le condizioni. In particolare, la formulazione dell'Esempio 1 ha mostrato un contenuto dei componenti ad alto peso molecolare dell'1,0% o meno dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 °C. Inoltre, si può vedere che le formulazioni degli Esempi 2 e 3 hanno mostrato un contenuto dei componenti ad alto peso molecolare dell'1,5% o meno dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 °C.

Contenuto di immunoglobulina G intatta (% di IgG intatta)

Tabella 4

	Dopo 0 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 5±3 °C	Dopo 4 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 40±2 °C	Dopo 4 settimane a 40±2 °C
Esempio 1	97,7	98,8	98,0	96,9	94,5
Esempio 2	97,4	98,7	98,2	97,4	94,6
Esempio 3	97,2	98,9	97,8	97,4	94,4
Esempio comparativo 6	97,2	98,6	98,3	97,1	93,6

Come si può vedere in Tabella 4 sopra, il contenuto di immunoglobulina intatta nelle formulazioni degli Esempi da 1 a 3 dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 °C era del 94,0% o più, che era superiore a quello dell'Esempio comparativo 6.

Contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (% di HC+LC intatte)

Tabella 5

	Dopo 0 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 5±3 °C	Dopo 4 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 40±2 °C	Dopo 4 settimane a 40±2 °C
Esempio 1	99,5	99,6	99,5	99,2	98,3
Esempio 2	99,5	99,6	99,4	99,3	98,0
Esempio 3	99,6	99,6	99,4	99,3	98,3
Esempio comparativo 6	99,6	99,6	99,4	99,3	97,6

Come si può vedere in Tabella 5 sopra, il contenuto di catena pesante e leggera intatte nelle formulazioni degli Esempi da 1 a 3 dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 °C era del 98,0% o più, che era superiore a quello dell'Esempio comparativo 6.

Tasso di ossidazione (Met 255 di catena pesante)

Tabella 6

	Dopo 0 settimane a 40±2 °C	Dopo 4 settimane a 40±2 °C
Esempio 1	2,2	2,4
Esempio 2	2,0	2,5
Esempio 3	2,1	2,5

	Dopo 0 settimane a 40±2 °C	Dopo 4 settimane a 40±2 °C
Esempio comparativo 6	2,2	4,1

Come si può vedere in Tabella 6 sopra, i tassi di ossidazione di Met 255 di catena pesante nelle formulazioni degli Esempi da 1 a 3 dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 °C erano del 2,5% o meno, che era inferiore a quello dell'Esempio comparativo 6.

Varianti di carica (picchi acidi)

Tabella 7

	Dopo 0 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 5±3 °C	Dopo 4 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 40±2 °C	Dopo 4 settimane a 40±2 °C
Esempio 1	20,5	20,5	20,5	27,0	33,5
Esempio 2	20,6	20,8	20,6	27,9	34,5
Esempio 3	20,3	20,9	20,8	27,5	34,4
Esempio comparativo 6	20,4	20,9	20,9	30,3	38,6

Come si può vedere in Tabella 7, i picchi acidi delle formulazioni degli Esempi da 1 a 3 dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 °C erano del 35% o meno, che era inferiore a quello dell'Esempio comparativo 6. Ciò indica che le formulazioni degli Esempi da 1 a 3 sono formulazioni stabili in cui si verifica meno deammidazione che è la causa principale di aumento dei picchi acidi.

Varianti di carica (picchi basici)

Tabella 8

	Dopo 0 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 5±3 °C	Dopo 4 settimane a 5±3 °C	Dopo 2 settimane a 40±2 °C	Dopo 4 settimane a 40±2 °C
Esempio 1	40,6	40,1	40,2	37,4	34,4
Esempio 2	40,5	39,8	39,8	36,3	33,1
Esempio 3	40,4	39,6	39,8	36,5	33,3
Esempio comparativo o 6	40,4	39,8	40,0	35,1	30,9

Come si può vedere in Tabella 8 sopra, i picchi basici delle formulazioni degli Esempi da 1 a 3 dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 °C era del 33% o più, che era superiore a quello dell'Esempio comparativo 6.

Numero di particelle subvisibili ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabella 9

	Dopo 0 settimane a 5 ± 3 $^{\circ}\text{C}$	Dopo 4 settimane a 5 ± 3 $^{\circ}\text{C}$	Dopo 4 settimane a $40\pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$
Esempio 1	1527	7645	7005
Esempio 2	4405	14257	29500
Esempio 3	4525	1493	26923
Esempio comparativo 6	13282	6688	2319386

Come si può vedere in Tabella 9, il numero di particelle subvisibili ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$) nelle formulazioni degli Esempi da 1 a 3 dopo 4 settimane di conservazione a una temperatura di $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ era 30.000 o meno, che era inferiore a quello dell'Esempio comparativo 6.

Esempio sperimentale 2: Effetto dell'amminoacido

Per la preparazione delle formulazioni farmaceutiche liquide da usare nell'Esempio sperimentale 2, è stato preparato un tampone comprendente acetato di sodio per avere un pH desiderato, ed è stato aggiunto a esso sorbitolo. Poi, è stato aggiunto un anticorpo a esso e sono stati aggiunti un tensioattivo e amminoacido/taurina, preparando quindi i campioni mostrati in Tabella 10 di seguito. La concentrazione di ciascun componente è mostrata in Tabella 10 di seguito. La

concentrazione del tampone indica la concentrazione dell'anione acetato. Il volume totale era 1 ml.

Tabella 10

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Alditolo o NaCl	Tampone	pH	Amminoacido/tammina¹⁾
Esempio 1	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	-
Esempio di riferimento 1	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-alanina
Esempio di riferimento 2	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-asparagina
Esempio di	100	Polisorbato 80	Sorbitolo	Acetato di sodio	4,0	L-glutammina

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Alditolos NaCl	Tampone	pH	Amminoacido/tamminoacido¹⁾
riferimento 3		0,05%(p/v)	4%(p/v)	sodio		
Esempio di riferimento 4	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	Acido glutammico L-
Esempio di riferimento 5	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-glicina
Esempio di riferimento 6	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-isoleucina
Esempio di riferimento 7	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-leucina

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Alditolos NaCl	Tampone	pH	Amminoacido/tamminoacido/taurina¹⁾
Esempio di riferimento 8	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-metionina
Esempio di riferimento 9	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-fenilalanina
Esempio di riferimento 10	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-prolina
Esempio di riferimento 11	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-serina
Esempio di riferimento 12	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-treonina

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Alditolos NaCl	Tampone	pH	Amminoacido/taurina¹⁾
riferimento 12		0,05%(p/v)	4%(p/v)	sodio	10 mM	
Esempio di riferimento 13	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-triptofano
Esempio di riferimento 14	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	L-Tirosina
Esempio di riferimento 15	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	Valina
Esempio di riferimento 16	100	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 4%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	4,0	Taurina

	Conten uto di anticor po (mg/ml)	Tensioatt ivo	Aldito lo o NaCl	Tampo ne p H	Amminoacido/ta urina¹⁾
Esempio comparat ivo 9	100	Polisorba to 80 0,05%(p/ v)	Sorbit olo 4%(p/ v)	Acetat o di 0 sodio 10 mM	4, 0 Acido L-aspartico
Esempio comparat ivo 10	100	Polisorba to 80 0,05%(p/ v)	Sorbit olo 4%(p/ v)	Acetat o di 0 sodio 10 mM	4, 0 L-istidina
Esempio comparat ivo 11	100	Polisorba to 80 0,05%(p/ v)	Sorbit olo 4%(p/ v)	Acetat o di 0 sodio 10 mM	4, 0 L-lisina
Esempio comparat ivo 12	100	Polisorba to 80 0,05%(p/ v)	Sorbit olo 4%(p/ v)	Acetat o di 0 sodio 10 mM	4, 0 L-arginina

¹⁾ l'amminoacido o la taurina è stato/o aggiunto/a in una quantità del 5% (p/v) o meno.

Le formulazioni degli Esempi comparativi 9, 10, 11 e 12, contenenti acido aspartico, istidina, lisina e arginina, rispettivamente, sono diventate solide dopo 24 ore di conservazione a 50 ± 2 °C.

Per le formulazioni contenenti altri amminoacidi o taurina, sono state misurate le stabilità dopo 24 ore di conservazione a 5 ± 3 °C e 50 ± 2 °C ma non vi era alcuna differenza significativa tra queste formulazioni e la formulazione dell'Esempio 1.

Esempio sperimentale 3: Concentrazione delle proteine; concentrazione del tensioattivo; e il tipo di zucchero

Per la preparazione di formulazioni farmaceutiche liquide da usare nell'Esempio sperimentale 3, è stato preparato un tampone comprendente acetato di sodio per avere un pH desiderato, e sorbitolo, mannitolo, trealosio o saccarosio è stato aggiunto a esso sorbitolo. Poi, è stato aggiunto un anticorpo a esso ed è stato aggiunto un tensioattivo, preparando quindi i campioni mostrati in Tabella 11 di seguito. Il contenuto di ciascun componente è mostrato in Tabella 11 di seguito. La concentrazione del tampone indica la concentrazione dell'anione acetato. Il volume totale era 1 ml.

Tabella 11

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Zucchero	Tampone	pH
Esempio 4	125	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0
Esempio 5	110	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0
Esempio 6	90	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0
Esempio 7	145	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0
Esempio 8	110	Polisorbato 80 0,02%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0
Esempio 9	110	Polisorbato 80 0,1%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Zucchero	Tampone	pH
Esempio 10	110	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Mannitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0
Esempio 11	110	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Trealosio 10%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0
Esempio 12	110	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Saccarosio 10%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0

Le formulazioni sono state misurate per le loro stabilità dopo 0, 2 e 4 settimane di conservazione a una temperatura di 5 ± 3 °C e per le loro stabilità dopo 2 e 4 settimane di conservazione a una temperatura di 40 ± 2 °C e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$. I risultati della misurazione sono mostrati nelle Tabelle da 12 a 17 di seguito.

Concentrazione proteica

Contenuto dei componenti ad alto peso molecolare

Tabella 12

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Dopo 0 settimana	Dopo 2 settimana a 5 °C	Dopo 4 settimana a 5 °C	Dopo 2 settimana a 40 °C	Dopo 4 settimana a 40 °C
Esempio 6	90	1,0	1,1	1,1	0,8	0,8
Esempio 5	110	1,1	1,1	1,2	1,0	1,0
Esempio 4	125	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2
Esempio 7	145	1,2	1,2	1,3	1,3	1,3

Come si può vedere in Tabella 12 sopra, il contenuto dei componenti ad alto peso molecolare aumentava con l'aumentare della concentrazione dell'anticorpo. Tuttavia, a una concentrazione dell'anticorpo che varia da 90 a 145 mg/ml, il contenuto dei componenti ad alto peso molecolare dopo 4 settimane di conservazione a 5 °C e 40 °C era generalmente basso.

Concentrazione di tensioattivo

Numero di particelle subvisibili ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabella 13

	Tensioattivo	Dopo 0 settimane	Dopo 2 settimane a 40 °C	Dopo 4 settimane a 40 °C
Esempio 8	Polisorbato 80	590	9235	5581
	0,02%(p/v)			
Esempio 5	Polisorbato 80	6076	3957	6458
	0,05%(p/v)			
Esempio 9	Polisorbato 80	997	2678	1672
	0,1%(p/v)			

Come si può vedere in Tabella 13 sopra, a una concentrazione di tensioattivo che varia dallo 0,02 allo 0,1% (p/v), il numero di particelle subvisibili (>_1,00 µm, <100,00 µm) dopo 4 settimane di conservazione a 40 °C era 10.000 o meno.

Tipo di zucchero

Contenuto di un componente principale (picco principale)

Tabella 14

	Zucchero	Dopo 0 settimane	Dopo 2 settimane a 40 °C	Dopo 4 settimane a 40 °C
Esempio 5	Sorbitolo	98,9	98,5	98,1
	5%(p/v)			
Esempio 10	Mannitolo	98,9	98,6	98,2
	5%(p/v)			
Esempio 11	Trealosio	98,9	98,6	98,2
	10%(p/v)			
Esempio 12	Saccarosio	98,9	98,6	98,1
	10%(p/v)			

Come si può vedere in Tabella 14 sopra, le formulazioni contenenti sorbitolo, mannitolo, trealosio o saccarosio come zucchero mostravano un contenuto del componente principale del 98% o più dopo 4 settimane di conservazione a 40 °C.

Varianti di carica (picchi acidi)

Tabella 15

	Zucchero	Dopo 0 settimane	Dopo 2 settimane a 40 °C	Dopo 4 settimane a 40 °C
Esempio 5	Sorbitolo	19,6	27,2	33,9
	5%(p/v)			
Esempio 10	Mannitolo	19,7	27,2	33,7
	5%(p/v)			
Esempio 11	Trealosio	19,6	27,3	34,0
	10%(p/v)			
Esempio 12	Saccarosio	19,7	27,3	33,8
	10%(p/v)			

Come si può vedere in Tabella 15 sopra, le formulazioni contenenti sorbitolo, mannitolo, trealosio o saccarosio come zucchero mostravano un picco acido di 35% o meno dopo 4 settimane di conservazione a 40 °C.

Numero di particelle subvisibili ($\geq 1,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabella 16

	Zucchero	Dopo 0 settimane	Dopo 2 settimane a 40 °C	Dopo 4 settimane a 40 °C
Esempio 5	Sorbitolo	6076	3957	6458
	5%(p/v)			
Esempio 10	Mannitolo	1055	865	4595
	5%(p/v)			
Esempio 11	Trealosio	2803	1572	3554
	10%(p/v)			
Esempio 12	Saccarosio	1246	2416	11230
	10%(p/v)			

Numero di particelle subvisibili ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabella 17

	Zucchero	Dopo 0 settimane	Dopo 2 settimane a 40 °C	Dopo 4 settimane a 40 °C
Esempio 5	Sorbitolo	128	11	115
	5%(p/v)			
Esempio 10	Mannitolo	36	37	84
	5%(p/v)			
Esempio 11	Trealosio	42	13	56
	10%(p/v)			
Esempio 12	Saccarosio	40	42	118
	10%(p/v)			

Come si può vedere nelle Tabelle 16 e 17 sopra, nelle formulazioni contenenti sorbitolo, mannitolo, trealosio o saccarosio come zucchero, il numero di particelle subvisibili (>_1,00 µm, <100,00 µm) dopo 4 settimane di conservazione a 40 °C era 15.000 o meno, e il numero di particelle subvisibili (>_10,00 µm, <100,00 µm) dopo 4 settimane di conservazione a 40 °C era 200 o meno.

Esempio sperimentale 4: Tipo di tensioattivo ed effetto dell'agente chelante

Per la preparazione delle formulazioni farmaceutiche liquide da usare nell'Esempio sperimentale 4, è stato preparato un tampone comprendente acetato di sodio per avere un pH desiderato, ed è stato aggiunto a esso sorbitolo. Poi, è stato aggiunto un anticorpo a esso ed è stato aggiunto un tensioattivo o una miscela di un tensioattivo e un agente chelante, preparando così i campioni mostrati in Tabella 18 di seguito. Il contenuto di ciascun componente è mostrato in Tabella 18 di seguito. La concentrazione del tampone indica la concentrazione dell'anione acetato. Il volume totale era 1 ml.

Tabella 18

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Zucchero	Tampone	pH	Agente chelante (EDTA)
Esempio 13	120	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0	-
Esempio 14	120	Polisorbato 20 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0	-

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Zucchero	Tampone	pH	Agente chelante (EDTA)
Esempio 15	120	Polossamer 188 0,8%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0	-
Esempio comparativo 13	120	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0	0,05 mg/ml
Esempio comparativo 14	120	Polisorbato 20 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0	0,05 mg/ml
Esempio comparativo 15	120	Polossamer 188 0,8%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 10 mM	5,0	0,05 mg/ml

Le formulazioni mostrate in Tabella 18 sopra sono state misurate per la loro stabilità dopo 0, 3 e 6 settimane di conservazione a una temperatura di 5 ± 3 °C, una temperatura di 25 ± 2 °C e una temperatura relativa di $60 \pm 5\%$ e una temperatura di 40 ± 2 °C e un'umidità relativa del $75 \pm 5\%$ in una condizione chiusa. I risultati della misurazione sono mostrati nelle Tabelle 19 e 20 di seguito.

Tipo di tensioattivo

Numero di particelle subvisibili ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 100,00 \mu\text{m}$)

Tabella 19

	Tensioattivo	Dopo 0 settimane a 5 °C	Dopo 3 settimane a 5 °C	Dopo 6 settimane a 5 °C	Dopo 3 settimane a 25 °C	Dopo 6 settimane a 25 °C	Dopo 3 settimane a 40 °C	Dopo 6 settimane a 40 °C
Esempio 13	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	50	149	46	34	182	249	55
Esempio 14	Polisorbato 20 0,05%(p/v)	581	309	103	54	90	185	279
Esempio 15	Polossamer 188 0,8%(p/v)	208	67	86	172	56	344	2050

Come si può vedere in Tabella 19 sopra, nella formulazione dell'Esempio 13, contenente polisorbato 80 come tensioattivo, il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00} \mu\text{m}$, $<_{100,00} \mu\text{m}$) dopo 6 settimane di conservazione a 40 °C era 100 o meno (il più piccolo), e nella formulazione dell'Esempio 15, contenente polossamero 188 come tensioattivo, il numero di particelle subvisibili ($>_{10,00} \mu\text{m}$, $<_{100,00} \mu\text{m}$) dopo 6 settimane di conservazione a 40 °C era 2.000 o più (il più grande).

Effetto dell'agente chelante (EDTA)

Tasso di ossidazione (Met 255 di catena pesante)

Tabella 20

	Agente chelante (EDTA)	Dopo 0 settimane a 5 °C	Dopo 3 settimane a 5 °C	Dopo 6 settimane a 5 °C	Dopo 3 settimane a 40 °C	Dopo 6 settimane a 40 °C
Esempio 13	-	1,9	1,9	1,9	2,3	2,5
Esempio 14	-	2,0	1,9	1,9	2,2	2,4
Esempio 15	-	1,9	1,9	1,9	2,3	2,5
Esempio comparativo 13	0,05 mg/ml	1,9	1,8	1,8	2,9	3,3

	Agente chelante (EDTA)	Dopo 0 settimane a 5 °C	Dopo 3 settimane a 5 °C	Dopo 6 settimane a 5 °C	Dopo 3 settimane a 40 °C	Dopo 6 settimane a 40 °C
Esempio comparativo 14	0,05 mg/ml	2,3	1,8	2,0	2,8	3,3
Esempio comparativo 15	0,05 mg/ml	1,8	1,9	1,9	2,8	3,4

Come si può vedere in Tabella 20 sopra, nelle formulazioni degli Esempi comparativi 13 - 15, contenenti un agente chelante (EDTA), il tasso di ossidazione di Met 255 di catena pesante dopo 6 settimane di conservazione a 40 °C aumentava rispetto a quello nelle formulazioni degli Esempi 13 - 15, non contenenti agente chelante (EDTA).

Esempio sperimentale 5: Stabilità a lungo termine

Per la preparazione di una formulazione farmaceutica liquida da usare nell'Esempio sperimentale 5, è stato preparato un tampone comprendente acetato di sodio per avere un pH di 5,0, ed è stato aggiunto a esso sorbitolo. Poi, è stato aggiunto un anticorpo a esso ed è stato aggiunto un tensioattivo, preparando quindi il campione mostrato in Tabella 21 di seguito. Il contenuto di ciascun componente è mostrato in

Tabella 21 di seguito. La concentrazione del tampone indica la concentrazione dell'anione acetato. Il volume totale era 1 ml.

Tabella 21

	Contenuto di anticorpo (mg/ml)	Tensioattivo	Zucchero	Tampone	pH
Esempio 16	120	Polisorbato 80 0,05%(p/v)	Sorbitolo 5%(p/v)	Acetato di sodio 25 mM	5,0

La formulazione mostrata in Tabella 21 è stata misurata per la sua stabilità dopo 0, 3 e 6 mesi di conservazione a una temperatura di 5 ± 3 °C in una condizione chiusa. I risultati della misurazione sono mostrati nelle Tabelle da 22 a 27 di seguito.

Numero di particelle subvisibili ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 400,00 \mu\text{m}$)

Tabella 22

	Dopo 0 mese a 5 °C	Dopo 3 mesi a 5 °C	Dopo 6 mesi a 5 °C	Dopo 9 mesi a 5 °C	Dopo 12 mesi a 5 °C
Esempio 16	35	26	48	32	43

Come si può vedere in Tabella 22 sopra, il numero di particelle subvisibili ($\geq 10,00 \mu\text{m}$, $< 400,00 \mu\text{m}$) nella formulazione dell'Esempio 16 dopo 12 mesi di conservazione a 5°C era pari o inferiore a 100.

Contenuto di immunoglobulina intatta (% di IgG intatta)

Tabella 23

	Dopo 0 mese a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 3 mesi a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 6 mesi a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 9 mesi a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 12 mesi a 5 $^\circ\text{C}$
Esempio 16	94,6	93,9	94,3	94,4	94,4

Come si può vedere in Tabella 23 sopra, il contenuto di immunoglobulina G intatta nella formulazione dell'Esempio 16 dopo 12 mesi di conservazione a 5°C era pari o superiore al 94%.

Contenuto di catena pesante e catena leggera intatte (% di HC+LC intatte)

Tabella 24

	Dopo 0 mese a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 3 mesi a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 6 mesi a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 9 mesi a 5 $^\circ\text{C}$	Dopo 12 mesi a 5 $^\circ\text{C}$
Esempio 16	99,7	99,5	99,6	99,4	99,4

Come si può vedere in Tabella 24 sopra, il contenuto di catena pesante e catena leggera intatte nella formulazione dell'Esempio 16 dopo 12 mesi di conservazione a 5 °C era pari al 99% o più.

Contenuto dei componenti ad alto peso molecolare

Tabella 25

	Dopo 0 mese a 5 °C	Dopo 3 mesi a 5 °C	Dopo 6 mesi a 5 °C	Dopo 9 mesi a 5 °C	Dopo 12 mesi a 5 °C
Esempio 16	0,5	0,9	0,9	0,8	0,7

Come si può vedere in Tabella 25 sopra, il contenuto dei componenti ad alto peso molecolare nella formulazione dell'Esempio 16 dopo 12 mesi di conservazione a 5 °C era pari all'1,0% o meno.

Contenuto dei componenti a basso peso molecolare

Tabella 26

	Dopo 0 mese a 5 °C	Dopo 3 mesi a 5 °C	Dopo 6 mesi a 5 °C	Dopo 9 mesi a 5 °C	Dopo 12 mesi a 5 °C
Esempio 16	0,0	0,1	0,1	0,1	0,3

Come si può vedere in Tabella 26 sopra, il contenuto dei componenti a basso peso molecolare nella formulazione dell'Esempio 16 dopo 12 mesi di conservazione a 5 °C era pari allo 0,4% o meno.

Affinità di legame di TNF- α

Tabella 27

	Dopo 0 mese a 5 °C	Dopo 3 mesi a 5 °C	Dopo 6 mesi a 5 °C	Dopo 9 mesi a 5 °C	Dopo 12 mesi a 5 °C
Esempio 16	95	98	116	101	97

Come si può vedere in Tabella 27 sopra, l'affinità di legame di TNF- α della formulazione dell'Esempio 16 dopo 12 mesi di conservazione a 5 °C era pari o superiore al 95%.

La formulazione dell'Esempio 16 è stata misurata per la sua viscosità dopo 0, 0,5, 1, 2 e 3 mesi di conservazione a una temperatura di 40 ± 2 °C in una condizione chiusa e per la sua viscosità dopo 6 mesi di conservazione a una temperatura di 5 ± 3 °C in una condizione chiusa. I risultati della misurazione sono mostrati nella Tabella 28 di seguito.

Viscosità (cP)

Tabella 28

	Dopo 0 mesi	Dopo 0,5 mesi a 40 °C	Dopo 1 mese a 40 °C	Dopo 6 mesi a 5 °C
Esempio 16	4,1	5,6	8,0	4,0

Come si può vedere in Tabella 28 sopra, la viscosità della formulazione dell'Esempio 16 è stata mantenuta a un livello basso (8,0 cp) dopo 1 mese di conservazione a una temperatura di 40 °C ± 2 °C e mantenuta a un livello basso (4,0 cp) dopo 6 mesi di conservazione a una temperatura di 5 °C ± 3 °C.

RIVENDICAZIONI

1. Formulazione farmaceutica liquida stabile, comprendente:
 - (A) infliximab;
 - (B) un tensioattivo;
 - (C) uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e
 - (D) un tampone comprendente acetato o istidina.
2. Formulazione farmaceutica liquida stabile della rivendicazione 1, in cui l'infliximab (A) è contenuto a una concentrazione da 10 a 200 mg/ml.
3. Formulazione farmaceutica liquida stabile della rivendicazione 1 o 2, in cui l'infliximab (A) è contenuto a una concentrazione da 80 a 150 mg/ml.
4. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3, in cui l'infliximab (A) è contenuto a una concentrazione da 90 a 145 mg/ml.
5. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 4, in cui il tensioattivo (B) comprende polisorbato, polossamero o una relativa miscela.
6. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5, in cui il tensioattivo (B) comprende polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80 o una miscela di due o più di essi.

7. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 6, in cui il tensioattivo (B) comprende polisorbato 80.

8. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 7, in cui il tensioattivo (B) è contenuto a una concentrazione dallo 0,02 allo 0,1% (p/v).

9. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 8, in cui l'uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio (C) è contenuto a una concentrazione dall' 1 al 10% (p/v).

10. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 9, in cui il tampone (D) comprende acetato.

11. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 10, in cui il tampone (D) ha una concentrazione da 1 a 50 mM.

12. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 11, in cui il tampone (D) ha una concentrazione da 5 a 30 mM.

13. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 12, che ha un pH da 4,0 a 5,5.

14. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 13, in cui la formulazione è priva di:

(A) acido aspartico, lisina, arginina o relative miscele;

(B) NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na₂SO₄, NaSCN, K₂SO₄, o relative miscele; o

(C) un agente chelante.

15. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 14, che ha una viscosità da 0,0005 Pas a 0,01 Pas dopo 1 mese di conservazione a 40 °C ± 2 °C, o una viscosità da 0,0005 Pas a 0,005 Pas dopo 6 mesi di conservazione a 5 °C ± 3 °C.

16. Formulazione farmaceutica liquida stabile secondo la rivendicazione 1, comprendente:

(A) da 90 a 145 mg/ml di infliximab;

(B) dallo 0,02 allo 0,1% (p/v) di un tensioattivo;

(C) dall'1 al 10% (p/v) di uno o più selezionati dal gruppo costituito da sorbitolo, mannitolo, saccarosio o trealosio; e

(D) da 1 a 50 mM di un tampone comprendente acetato o istidina.

17. Formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 16, che è per somministrazione sottocutanea.

18. Siringa preriempita riempita con la formulazione farmaceutica liquida stabile di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 17.

19. Auto-iniettore includente la siringa preriempita della rivendicazione 18 al suo interno.

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.