

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 959 451**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 9/00</b>	(2006.01) <b>A61P 43/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/18</b>	(2007.01) <b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 39/00</b>	(2006.01) <b>A61P 29/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/19</b>	(2006.01) <b>A61P 31/00</b>	(2006.01)
<b>C07K 1/14</b>	(2006.01) <b>C07K 16/32</b>	(2006.01)
<b>A61K 38/00</b>	(2006.01) <b>C07K 16/22</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/20</b>	(2006.01) <b>C07K 16/24</b>	(2006.01)
<b>A61P 7/00</b>	(2006.01) <b>C07K 16/28</b>	(2006.01)
<b>A61P 25/00</b>	(2006.01) <b>A61K 47/22</b>	(2006.01)
<b>A61P 37/06</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.09.2014 PCT/US2014/055210**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2015 WO15038782**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2014 E 14781338 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2023 EP 3043772**

54 Título: **Formulaciones proteicas líquidas que contienen organofosfatos**

30 Prioridad:

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

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.02.2024**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 959 451 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Formulaciones proteicas líquidas que contienen organofosfatos

5 Esta solicitud reivindica la prioridad y el beneficio de la Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 62/030.521, presentada el 29 de julio de 2014, titulada "*Low-Viscosity Protein Formulations Containing Hydrophobic Salts*", la Solicitud provisional de Estados Unidos Nº 62/026.497, presentada el 18 de julio de 2014, titulada "*Low-Viscosity Protein Formulations Containing GRAS Viscosity-Reducing Agents*"; la Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 62/008.050, presentada el 5 de junio de 2014, titulada "*Low-Viscosity Protein Formulations Containing Ionic Liquids*";  
 10 la Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 61/988,005, presentada el 2 de mayo de 2014, titulada "*Low-Viscosity Protein Formulations Containing Organophosphates*"; Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 61/946,436, presentada el 28 de febrero de 2014, titulada "*Concentrated, Low-Viscosity Infliximab Formulations*"; Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 61/943,197, presentada el 21 de febrero de 2014, titulada "*Concentrated, Low-Viscosity, High-Molecular-Weight-Protein-Privulations*"; Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 61/940,227, presentada el 14 de febrero de 2014, titulada "*Concentrated, Low-Viscosity High-Molecular-Weight Protein Formulations*"; y la Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº 61,876,621, presentada el 11 de septiembre de 2013, titulada "*Concentrated, Low-Viscosity, High-Molecular-Weight Protein Formulations*".

**CAMPO DE LA INVENCIÓN**

20 La invención se refiere de manera general al campo de las formulaciones farmacéuticas inyectables de proteínas, como los anticuerpos monoclonales, y a métodos de elaboración y uso de las mismas.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

25 Los anticuerpos monoclonales (mAbs) son agentes terapéuticos importantes basados en proteínas para el tratamiento de varias enfermedades humanas como el cáncer, las enfermedades infecciosas, la inflamación y las enfermedades autoinmunes. La U.S. Food and Drug Administration (FDA) ha aprobado más de 20 productos de mAb, y aproximadamente el 20% de todos los biofármacos que se están evaluando actualmente en ensayos clínicos son mAb (Daugherty et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 58:686-706, 2006; y Buss et al., Curr. Opinion in Pharmacol. 12:615-622, 2012).

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

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

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

65 Las formulaciones líquidas muy viscosas son difíciles de fabricar, introducir en una jeringuilla e inyectar por

vía subcutánea o intramuscular. El uso de la fuerza para manipular las formulaciones viscosas puede provocar una formación excesiva de espuma, lo que puede desnaturalizar e inactivar aún más la proteína terapéuticamente activa. Las soluciones de alta viscosidad también requieren agujas de mayor diámetro para la inyección y producen más dolor en el punto de inyección.

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

15 La Patente de Estados Unidos N° 7.758.860 describe la reducción de la viscosidad en formulaciones de proteínas de bajo peso molecular usando un tampón y una sal inorgánica reductora de la viscosidad, como el cloruro de calcio o el cloruro de magnesio. Estas mismas sales, sin embargo, mostraron poco efecto sobre la viscosidad de una formulación de anticuerpo de alto peso molecular (IMA-638). Como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 7.666.413, la viscosidad de las formulaciones acuosas de proteínas de alto peso molecular se ha reducido mediante la adición de sales como clorhidrato de arginina, tiocianato de sodio, tiocianato de amonio, sulfato de amonio, cloruro de amonio, cloruro de calcio, cloruro de zinc o acetato de sodio en una concentración de más de aproximadamente 20 100 mM o, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 7.740.842, mediante la adición de ácidos orgánicos o inorgánicos. Sin embargo, estas sales no reducen la viscosidad al nivel deseado y, en algunos casos, hacen que la formulación sea tan ácida que es probable que provoque dolor en el lugar de la inyección. La Patente de Estados Unidos N° 7.666.413 describe formulaciones de viscosidad reducida que contienen sales específicas y un mAb anti-IgE reconstituido, pero con una concentración máxima de anticuerpo de sólo hasta aproximadamente 140 mg/ml. La Patente de Estados Unidos N° 7.740.842 describe formulaciones de mAb anti-IgE E25 que contienen tampón de acetato/ácido acético con concentraciones de anticuerpo de hasta 257 mg/ml. Se demostró que la adición de sales como NaCl, CaCl<sub>2</sub>, o MgCl<sub>2</sub> disminuía la viscosidad dinámica en condiciones de alto cizallamiento; sin embargo, a bajo cizallamiento las sales producían un aumento indeseable y drástico de la viscosidad dinámica. Además, las sales inorgánicas como el NaCl pueden reducir la viscosidad de la solución y/o disminuir la agregación (EP 1981824).

También se han descrito formulaciones no acuosas de anticuerpos o proteínas. La WO2006/071693 describe una suspensión no acuosa de hasta 100 mg/ml de mAb en una formulación que tiene un potenciador de la viscosidad (polivinilpirrolidona, PVP) y un solvente (benzoato de bencilo o PEG 400). La WO2004/089335 describe formulaciones de suspensión no acuosa de lisozima de 100 mg/ml que contienen PVP, glicofurol, benzoato de bencilo, alcohol bencílico o PEG 400. La US2008/0226689A1 describe formulaciones monofásicas, no acuosas y viscosas de 100 mg/ml de hormona de crecimiento humano (hGH) con tres componentes vehiculares (polímero, surfactante y un solvente). La Patente de Estados Unidos N° 6.730.328 describe vehículos no acuosos, hidrófobos y apolares de baja reactividad, como la perfluorodecalina, para formulaciones proteicas. Estas formulaciones no son óptimas y tienen 40 altas viscosidades que dificultan el procesamiento, la fabricación y la inyección; llevan a la presencia de múltiples componentes del vehículo en las formulaciones; y presentan desafíos regulatorios potenciales asociados con el uso de polímeros todavía no aprobados por la FDA. La US 2013/028920 A1 divulga "formulaciones de anticuerpos intactos estabilizados, métodos relacionados y usos de los mismos. En particular, la invención se refiere a un método de estabilización de un anticuerpo intacto en un portador líquido".

45 Se han descrito formulaciones alternativas no acuosas de proteínas o anticuerpos usando solventes orgánicos, como benzoato de bencilo (Miller et al., Langmuir 26:1067-1074, 2010), acetato de bencilo, etanol o metiletilcetona (Srinivasan et al., Pharm. Res. 30:1749-1757, 2013). En ambos casos, se lograron viscosidades de menos de 50 centipoise (cP) tras la formulación a concentraciones de proteína de por lo menos aproximadamente 200 mg/ml. La Patente de Estados Unidos N° 6.252.055 describe formulaciones de mAb con concentraciones que varían de 100 mg/ml hasta 257 mg/ml. Las formulaciones con concentraciones mayores de aproximadamente 189 mg/ml demostraron viscosidades dramáticamente aumentadas, bajas tasas de recuperación y dificultad en el procesamiento. La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2012/0230982 describe formulaciones de anticuerpos con concentraciones de 100 mg/ml a 200 mg/ml. Ninguna de estas formulaciones tiene una viscosidad lo 55 suficientemente baja para facilitar la inyección.

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

65 No es una cuestión trivial controlar la agregación y la viscosidad en soluciones de mAb de alta concentración

(EP 2538973). Prueba de ello son los pocos productos de mAb que se comercializan actualmente como formulaciones de alta concentración (>100 mg/ml) (EP 2538973).

5 Las referencias citadas anteriormente demuestran que, aunque muchos grupos han intentado preparar formulaciones de baja viscosidad de mAbs y otras proteínas terapéuticamente importantes, todavía no se ha logrado una formulación verdaderamente útil para muchas proteínas. En particular, muchos de los informes anteriores emplean agentes cuyos perfiles de seguridad y toxicidad no han sido plenamente establecidos. Por lo tanto, estas formulaciones se enfrentarían a una mayor carga reguladora antes de su aprobación que las formulaciones que contienen compuestos de los que se sabe que son seguros. De hecho, incluso si se demostrara que un compuesto reduce sustancialmente la viscosidad, el compuesto podría ser en última instancia inadecuado para su uso en una formulación destinada a ser inyectada en un humano.

15 Muchas proteínas de alto peso molecular de importancia farmacéutica, como los mAbs, se administran actualmente mediante infusiones IV para administrar cantidades terapéuticamente eficaces de proteínas, debido a los problemas con la alta viscosidad y otras propiedades de las soluciones concentradas de proteínas grandes. Por ejemplo, para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de muchas proteínas de alto peso molecular, como los mAbs, en volúmenes menores de aproximadamente 2 ml, a menudo se requieren concentraciones de proteínas mayores de 150 mg/ml.

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

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

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

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

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

## SUMARIO DE LA INVENCIÓN

45 Se han desarrollado formulaciones farmacéuticas líquidas, concentradas, de baja viscosidad y bajo volumen de proteínas de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas. Tales formulaciones pueden administrarse rápida y convenientemente mediante inyección subcutánea (SC) o intramuscular (IM), en lugar de mediante una infusión intravenosa prolongada. Estas formulaciones incluyen proteínas de bajo peso molecular y/o alto peso molecular, como mAbs, y organofosfatos. Las formulaciones de la invención comprenden una proteína que es un anticuerpo y un organofosfato que es tiamina pirofosfato 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (TPP-APMI). Organofosfatos adicionales incluyen el pirofosfato de tiamina (TPP), el trifosfato de adenosina (ATP), el trifosfato de desoxiadenosina (dATP), el trifosfato de desoxiguanosina (dGTP), el trifosfato de desoxitimidina (dTTP), trifosfato de deoxicidina (dCTP), monofosfato de adenosina cíclico (AMPC), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP<sup>+</sup>) y fosfato de piridoxal, así como sales de los mismos, en concentraciones preferiblemente entre aproximadamente 0,01 M y aproximadamente 0,50 M, más preferiblemente entre aproximadamente 0,05 M y aproximadamente 0,25 M.

55 Las formulaciones de la invención comprenden una proteína que es un anticuerpo. La concentración de proteínas está entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 5.000 mg/ml, más preferiblemente desde aproximadamente 100 mg/ml, hasta aproximadamente 2.000 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración de proteínas está entre aproximadamente 100 mg/ml y aproximadamente 500 mg/ml, más preferiblemente desde aproximadamente 300 mg/ml hasta aproximadamente 500 mg/ml. Las formulaciones que contienen proteínas y organofosfatos son estables cuando se almacenan a una temperatura de 4° C, durante un período de por lo menos un mes, preferiblemente por lo menos dos meses, y más preferiblemente por lo menos tres meses. La viscosidad de la formulación es inferior a aproximadamente 75 cP, preferiblemente inferior a 50 cP, y más preferiblemente inferior a 20 cP a aproximadamente 25° C. En algunas realizaciones, la viscosidad es inferior a aproximadamente 15 cP o incluso inferior o aproximadamente 10 cP a aproximadamente 25° C. En ciertas realizaciones, la viscosidad de la formulación

es de aproximadamente 10 cP. Las formulaciones que contienen proteínas y organofosfatos se miden típicamente a velocidades de cizallamiento de aproximadamente  $0,6 \text{ s}^{-1}$  a aproximadamente  $450 \text{ s}^{-1}$ , y preferiblemente de aproximadamente  $2 \text{ s}^{-1}$  a aproximadamente  $400 \text{ s}^{-1}$ , cuando se miden usando un viscosímetro de cono y placa. Las formulaciones que contienen proteínas y organofosfatos se miden típicamente a velocidades de cizallamiento de aproximadamente  $3 \text{ s}^{-1}$  a aproximadamente  $55.000 \text{ s}^{-1}$ , y preferiblemente de aproximadamente  $20 \text{ s}^{-1}$  a aproximadamente  $2.000 \text{ s}^{-1}$  cuando se miden usando un viscosímetro microfluídico.

La viscosidad de la formulación proteica se reduce por la presencia de uno o más organofosfatos reductores de la viscosidad. Las formulaciones de la invención comprenden el organofosfato reductor de la viscosidad TPP-APMI. A menos que se indique específicamente lo contrario, el término "organofosfato reductor de la viscosidad" incluye tanto compuestos individuales como mezclas de dos o más compuestos. Se prefiere que el organofosfato u organofosfatos reductores de la viscosidad estén presentes en la formulación en una concentración de menos de aproximadamente 1,0 M, preferiblemente de menos de aproximadamente 0,50 M, más preferiblemente de menos de aproximadamente 0,30 M, y lo más preferible de menos de aproximadamente 0,15 M. Las formulaciones pueden tener una viscosidad que es por lo menos aproximadamente un 30% menor, preferiblemente por lo menos aproximadamente un 50% menor, más preferiblemente por lo menos aproximadamente un 75% menor, que la viscosidad de la formulación correspondiente en las mismas condiciones excepto por la sustitución del organofosfato reductor de la viscosidad por un tampón o sal apropiados de aproximadamente la misma concentración. En algunas realizaciones, se proporciona una formulación de baja viscosidad en la que la viscosidad de la formulación correspondiente sin el organofosfato reductor de la viscosidad es de más de aproximadamente 200 cP, de más de aproximadamente 500 cP, o incluso de más de aproximadamente 1.000 cP. En una realización preferida, la velocidad de cizallamiento de la formulación es de por lo menos  $0,5 \text{ s}^{-1}$ , cuando se mide con un viscosímetro de cono y placa, o de por lo menos  $1,0 \text{ s}^{-1}$ , cuando se mide con un viscosímetro microfluídico.

Las formulaciones de la invención comprenden una proteína que es un anticuerpo. Para las realizaciones en las que la proteína es una "proteína de alto peso molecular", la proteína de alto peso molecular puede tener un peso molecular entre aproximadamente 100 kDa y aproximadamente 500 kDa, preferiblemente entre aproximadamente 120 kDa y aproximadamente 1.000 kDa, y lo más preferible entre aproximadamente 120 kDa y aproximadamente 250 kDa. La proteína de alto peso molecular puede ser un anticuerpo, como un mAb, o una forma PEGilada o derivatizada del mismo. Los mAb preferidos incluyen natalizumab (TYSABRI®), cetuximab (ERBITUX®), bevacizumab (AVASTIN®), trastuzumab (HERCEPTIN®), infliximab (REMICADE®), rituximab (RITUXAN®), panitumumab (VECTIBIX®), ofatumumab (ARZERRA®), y biosimilares de los mismos. La proteína de alto peso molecular, opcionalmente PEGilada, puede ser una enzima. También pueden formularse otras proteínas y mezclas de proteínas para reducir su viscosidad.

En algunas realizaciones, la proteína y el organofosfato reductor de la viscosidad se suministran en una unidad de dosificación liofilizada, dimensionada para la reconstitución con un vehículo acuoso estéril farmacéuticamente aceptable, para producir las formulaciones líquidas concentradas de baja viscosidad. Las formulaciones de la invención comprenden el organofosforado TPP-APMI. La presencia del o de los organofosfatos reductores de la viscosidad facilita y/o acelera la reconstitución de la unidad de dosificación liofilizada en comparación con una unidad de dosificación liofilizada que no contiene un organofosfato reductor de la viscosidad.

En la presente se proporcionan métodos para preparar formulaciones líquidas concentradas de baja viscosidad de anticuerpos de alto peso molecular, como los mAbs, así como métodos para almacenar las formulaciones de anticuerpos de baja viscosidad y alta concentración, y para administrarlos a los pacientes. En otra realización, el organofosfato reductor de la viscosidad se añade para facilitar el procesamiento (por ejemplo, bombeo, concentración y/o filtración) reduciendo la viscosidad de las soluciones de anticuerpos. La concentración del anticuerpo en la presente varía entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 5.000 mg/ml, más preferiblemente entre aproximadamente 100 mg/ml y aproximadamente 2.000 mg/ml. La viscosidad de la formulación es de menos de aproximadamente 75 cP, preferiblemente inferior a 50 cP, y más preferiblemente inferior a 20 cP. En algunas realizaciones, la viscosidad es menor de aproximadamente 15 cP o incluso menor de aproximadamente 10 cP.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

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

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

### I. Definiciones

El término "proteína", como se usa generalmente en la presente, se refiere a un polímero de aminoácidos enlazados entre sí por enlaces peptídicos para formar un polipéptido cuya longitud de cadena es suficiente para producir por lo menos una estructura terciaria detectable. Las proteínas que tienen un peso molecular (expresado en

kDa, donde "Da" significa "Daltons" y 1 kDa = 1.000 Da) de más de aproximadamente 100 kDa pueden denominarse "proteínas de alto peso molecular", mientras que las proteínas con un peso molecular de menos de aproximadamente 100 kDa pueden denominarse "proteínas de bajo peso molecular". El término "proteína de bajo peso molecular" excluye los péptidos pequeños que carecen del requisito de por lo menos estructura terciaria necesario para ser considerados una proteína. El peso molecular de las proteínas puede determinarse mediante métodos estándar conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, entre otros, espectrometría de masas (por ejemplo, ESI, MALDI) o el cálculo a partir de secuencias de aminoácidos y glicosilación conocidas. Las proteínas pueden ser de origen natural o no natural, sintéticas o semisintéticas.

Los términos "proteínas esencialmente puras" y "proteínas sustancialmente puras" se usan indistintamente en la presente y se refieren a una composición que comprende por lo menos aproximadamente un 90% en peso de proteína pura, preferiblemente por lo menos aproximadamente un 95% en peso de proteína pura. "Esencialmente homogénea" y "sustancialmente homogénea" se usan indistintamente en la presente y se refieren a una composición en la que por lo menos aproximadamente el 90% en peso de la proteína presente es una combinación del monómero y asociados di- y oligo-meros reversibles (no agregados irreversibles), preferiblemente por lo menos aproximadamente el 95%.

El término "anticuerpo", como se usa de manera general en la presente, abarca ampliamente los mAbs (incluyendo los anticuerpos de longitud completa que tienen una región Fc de inmunoglobulina), las composiciones de anticuerpos con especificidad poliepitópica, los anticuerpos biespecíficos, los diacuerpos y las moléculas de anticuerpo de cadena sencilla, así como los fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv), los anticuerpos de dominio único, los anticuerpos multivalentes de dominio único, las proteínas de fusión Fab y sus fusiones.

El término "anticuerpo monoclonal" o "mAb", como se usa de manera general en la presente, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que componen la población son idénticos, excepto por posibles mutaciones naturales que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, ya que se dirigen contra un único epítipo. Típicamente se sintetizan cultivando células de hibridoma, como se describe por Kohler et al. (Nature 256: 495, 1975), o pueden elaborarse por métodos de ADN recombinante (consultar, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 4.816.567), o aislarse a partir de bibliotecas de anticuerpos fago usando las técnicas descritas en Clackson et al. (Nature 352: 624-628, 1991) y Marks et al. (J. Mol. Biol. 222: 581-597, 1991), por ejemplo. Como se usan en la presente, los "mAbs" incluyen específicamente anticuerpos derivatizados, conjugados anticuerpo-fármaco y anticuerpos "quiméricos" en los que una parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a una clase o subclase particular de anticuerpos, mientras que el resto de la cadena o cadenas son idénticas u homólogas a secuencias correspondientes de anticuerpos derivados de otra especie o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (Patente de Estados Unidos N° 4,816,567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855, 1984).

Un "fragmento de anticuerpo" comprende una porción de un anticuerpo intacto, incluyendo la región de unión a antígeno y/o la variable del anticuerpo intacto. Entre los ejemplos de fragmentos de anticuerpo se incluyen los fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv; los diacuerpos; los anticuerpos lineales (consultar la Patente de Estados Unidos N° 5.641.870; Zapata et al., Protein Eng. 8:1057-1062, 1995); moléculas de anticuerpo de cadena sencilla; anticuerpos multivalentes de dominio único; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

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

La "reología" se refiere al estudio de la deformación y el flujo de la materia.

"Viscosidad" se refiere a la resistencia de una sustancia (típicamente un líquido) a fluir. La viscosidad está relacionada con el concepto de fuerza de cizallamiento; puede entenderse como el efecto de las distintas capas del fluido que ejercen una fuerza de cizallamiento entre sí, o sobre otras superficies, al moverse unas contra otras. Hay varias medidas de viscosidad. Las unidades de viscosidad son Ns/m<sup>2</sup>, conocidas como Pascal-segundo (Pa-s). La viscosidad puede ser "cinemática" o "absoluta". La viscosidad cinemática es una medida de la velocidad a la que se transfiere el impulso a través de un fluido. Se mide en Stokes (St). La viscosidad cinemática es una medida del flujo resistivo de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos de igual volumen y diferente viscosidad se colocan en viscosímetros capilares idénticos y se dejan fluir por gravedad, el fluido más viscoso tarda más que el menos viscoso en fluir a través del capilar. Si, por ejemplo, un fluido tarda 200 segundos (s) en completar su flujo y otro tarda 400 s, el segundo fluido se denomina el doble de viscoso que el primero en una escala de viscosidad cinemática. La dimensión de la viscosidad cinemática es la longitud<sup>2</sup> /tiempo. Normalmente, la viscosidad cinemática se expresa en centiStokes (cSt). La unidad SI de viscosidad cinemática es mm<sup>2</sup> /s, que equivale a 1 cSt. La "viscosidad

absoluta", a veces denominada "viscosidad dinámica" o "viscosidad simple", es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad SI de viscosidad absoluta es el milipascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s. La viscosidad puede medirse usando, por ejemplo, un viscosímetro a una velocidad de cizallamiento determinada o a múltiples velocidades de cizallamiento. Puede determinarse una viscosidad "extrapolada a cizallamiento cero" creando una línea de mejor ajuste de los cuatro puntos de mayor cizallamiento en un gráfico de viscosidad absoluta frente a velocidad de cizallamiento, y extrapolando linealmente la viscosidad a cizallamiento cero. Alternativamente, para un fluido newtoniano, la viscosidad puede determinarse promediando los valores de viscosidad a múltiples velocidades de cizallamiento. La viscosidad también puede medirse usando un viscosímetro microfluídico a una o varias velocidades de cizallamiento (también llamadas velocidades de flujo), en donde la viscosidad absoluta se deriva de un cambio en la presión a medida que un líquido fluye a través de un canal. La viscosidad es igual a la tensión de cizallamiento sobre la velocidad de cizallamiento. Las viscosidades medidas con viscosímetros microfluídicos pueden, en algunas realizaciones, compararse directamente con viscosidades extrapoladas de cizallamiento cero, por ejemplo las extrapoladas a partir de viscosidades medidas a múltiples velocidades de cizallamiento usando un viscosímetro de cono y placa.

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

Para los fluidos "newtonianos" clásicos, como se usan de manera general en la presente, la viscosidad es esencialmente independiente de la velocidad de cizallamiento. Sin embargo, en los "fluidos no newtonianos", la viscosidad disminuye o aumenta al aumentar la velocidad de cizallamiento, es decir, los fluidos se "adelgazan por cizallamiento" o se "espesan por cizallamiento", respectivamente. En el caso de soluciones de proteínas concentradas (es decir, de alta concentración), esto puede manifestarse como un comportamiento pseudoplástico de adelgazamiento por cizallamiento, es decir, una disminución de la viscosidad con la velocidad de cizallamiento.

El término "estabilidad química", como se usa de manera general en la presente, se refiere a la capacidad de los componentes proteicos de una formulación para resistir la degradación a través de vías químicas, como la oxidación, la desamidación o la hidrólisis. Se considera que una formulación proteica es químicamente estable si menos de aproximadamente el 5% de los componentes se degradan después de 24 meses a  $4^\circ \text{ C}$ .

El término "estabilidad física", como se usa de manera general en la presente, se refiere a la capacidad de una formulación proteica para resistir el deterioro físico, como la agregación. Una formulación físicamente estable sólo forma un porcentaje aceptable de agregados irreversibles (por ejemplo, dímeros, trímeros u otros agregados) del agente proteico bioactivo. La presencia de agregados puede evaluarse de varias maneras, incluyendo la medición del tamaño medio de las partículas de las proteínas de la formulación mediante dispersión dinámica de la luz. Se considera que una formulación es físicamente estable si se forma menos de aproximadamente un 5% de agregados irreversibles después de 24 meses a  $4^\circ \text{ C}$ . Idealmente, los niveles aceptables de contaminantes agregados serían inferiores a aproximadamente el 2%. Pueden alcanzarse niveles tan bajos como aproximadamente el 0,2%, aunque es más típico aproximadamente el 1%.

El término "formulación estable", como se usa de manera general en la presente, significa que una formulación es tanto química como físicamente estable. Una formulación estable puede ser aquella en la que más de aproximadamente el 95% de las moléculas de proteína bioactiva retienen la bioactividad en una formulación después de 24 meses de almacenamiento a  $4^\circ \text{ C}$  o condiciones de solución equivalentes a una temperatura elevada, como un mes de almacenamiento a  $40^\circ \text{ C}$ . Hay disponibles varias técnicas analíticas para medir la estabilidad de las proteínas y se revisan, por ejemplo, en Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee, Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, N.Y. (1991) y Jones, A., Adv. Drug Delivery Revs. 10:29-90, 1993. La estabilidad puede medirse a una temperatura seleccionada durante un periodo de tiempo determinado. Para una selección rápida, por ejemplo, la formulación puede mantenerse a  $40^\circ \text{ C}$ , durante 2 semanas a un mes, momento en el que se mide la actividad biológica residual y se compara con la condición inicial para evaluar la estabilidad. Cuando la formulación se va a almacenar a  $2^\circ \text{ C}$ - $8^\circ \text{ C}$ , generalmente la formulación debe ser estable a  $30^\circ \text{ C}$  o  $40^\circ \text{ C}$  durante por lo menos un mes y/o estable a  $2^\circ \text{ C}$ - $8^\circ \text{ C}$  durante por lo menos 2 años. Cuando la formulación se almacena a temperatura ambiente, aproximadamente  $25^\circ \text{ C}$ , generalmente la formulación debe ser estable durante por lo menos 2 años a aproximadamente  $25^\circ \text{ C}$  y/o estable a  $40^\circ \text{ C}$  durante por lo menos 6 meses. El grado de agregación tras la liofilización y el almacenamiento puede usarse como indicador de la estabilidad de la proteína. En algunas realizaciones, la estabilidad se evalúa midiendo el

tamaño de partícula de las proteínas en la formulación. En algunas realizaciones, la estabilidad puede evaluarse midiendo la actividad de una formulación usando ensayos estándar de actividad biológica o de unión que estén dentro de las capacidades de un experto en la técnica.

5 El término "tamaño de partícula" de proteína, como se usa de manera general en la presente, significa el diámetro medio de la población predominante de particulados de moléculas bioactivas, o distribuciones de tamaño de partícula de las mismas, en una formulación como se determina usando instrumentos bien conocidos de dimensionamiento de partícula, por ejemplo, dispersión de luz dinámica, SEC (cromatografía de exclusión por tamaño), u otros métodos conocidos por un experto en la técnica.

10 El término "concentrado" o "de alta concentración", como se usa de manera general en la presente, describe formulaciones líquidas que tienen una concentración final de proteína de más de aproximadamente 10 mg/ml, preferiblemente de más de aproximadamente 50 mg/ml, más preferiblemente de más de aproximadamente 100 mg/ml, aún más preferiblemente de más de aproximadamente 200 mg/ml, o más preferiblemente de más de aproximadamente 250 mg/ml.

15 Una "formulación reconstituida", como se usa de manera general en la presente, se refiere a una formulación que se ha preparado disolviendo una proteína en polvo seco, liofilizada, secada por pulverización o precipitada con solvente en un diluyente, de tal manera que la proteína se disuelve o dispersa en una solución acuosa para su administración.

20 Un "lioprotector" es una sustancia que, cuando se combina con una proteína, reduce significativamente la inestabilidad química y/o física de la proteína tras la liofilización y/o el almacenamiento posterior. Algunos licoprotectores ejemplares son azúcares y sus correspondientes alcoholes de azúcar como sacarosa, lactosa, trehalosa, dextrano, eritritol, arabitol, xilitol, sorbitol y manitol; aminoácidos, como arginina o histidina; sales lipotrópicas, como sulfato de magnesio; polioles, como propilenglicol, glicerol, poli(etilenglicol) o poli(propilenglicol); y combinaciones de los mismos. Los lioprotectores ejemplares adicionales incluyen la gelatina, las dextrinas, el almidón modificado y la carboximetilcelulosa. Los alcoholes de azúcar preferidos son los compuestos obtenidos por reducción de monosacáridos y disacáridos como la lactosa, la trehalosa, la maltosa, la lactulosa y la maltulosa. Ejemplos adicionales de alcoholes de azúcar son el glucitol, el maltitol, el lactitol y la isomaltulosa. El lioprotector se añade generalmente a la formulación preliofilizada en una "cantidad lioprotectora". Esto significa que, tras la liofilización de la proteína en presencia de la cantidad lioprotectora del lioprotector, la proteína conserva esencialmente su estabilidad e integridad física y química.

35 Un "diluyente" o "portador", como se usa de manera general en la presente, es un ingrediente farmacéuticamente aceptable (es decir, seguro y no tóxico para la administración a un humano u otro mamífero) y útil para la preparación de una formulación líquida, como una formulación acuosa reconstituida después de la liofilización. Los diluyentes ejemplares incluyen agua estéril, agua bacteriostática para inyección (BWF1), una solución de pH tamponada (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa, y combinaciones de las mismas.

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

45 Un "agente de carga", como se usa de manera general en la presente, es un compuesto que añade masa a una mezcla liofilizada y contribuye a la estructura física de la torta liofilizada (por ejemplo, facilita la producción de una torta liofilizada esencialmente uniforme que mantiene una estructura de poros abierta). Algunos ejemplos de agentes de carga incluyen el manitol, la glicina, la lactosa, el almidón modificado, el poli(etilenglicol) y el sorbitol.

50 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" es la concentración mínima requerida para lograr una mejora o prevención medible de cualquier síntoma o de una afección o trastorno particular, para efectuar un aumento medible de la esperanza de vida o para mejorar en general la calidad de vida del paciente. La cantidad terapéuticamente eficaz depende de la molécula biológicamente activa específica y de la afección o trastorno específico que se vaya a tratar. Las cantidades terapéuticamente eficaces de muchas proteínas, como los mAbs descritos en la presente, son bien conocidas en la técnica. Las cantidades terapéuticamente eficaces de proteínas aún no establecidas o para tratar trastornos específicos con proteínas conocidas, como mAbs, que se aplicarán clínicamente para tratar trastornos adicionales pueden determinarse mediante técnicas estándar que están bien dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, como un médico.

65 El término "capacidad de inyección" o "capacidad de administración por jeringuilla", como se usa de manera

general en la presente, se refiere al rendimiento de inyección de una formulación farmacéutica a través de una jeringuilla equipada con una aguja de calibre 18-32. La capacidad de inyección depende de factores como la presión o la fuerza necesaria para la inyección, la uniformidad del flujo, la calidad de la aspiración y la ausencia de obstrucciones. La capacidad de inyección de las formulaciones farmacéuticas líquidas puede evaluarse comparando la fuerza de inyección de una formulación de viscosidad reducida con una formulación estándar sin organofosfatos reductores de la viscosidad añadidos. La reducción de la fuerza de inyección de la formulación que contiene un organofosfato reductor de la viscosidad refleja una mejor capacidad de inyección de dicha formulación. Las formulaciones de viscosidad reducida tienen una capacidad de inyección mejorada cuando la fuerza de inyección se reduce en por lo menos aproximadamente un 10%, preferiblemente en por lo menos aproximadamente un 30%, más preferiblemente en por lo menos aproximadamente un 50%, y lo más preferible en por lo menos aproximadamente un 75% en comparación con una formulación estándar que tenga la misma concentración de proteína en las mismas condiciones, excepto por la sustitución del organofosfato reductor de la viscosidad por un tampón apropiado de aproximadamente la misma concentración. Alternativamente, la capacidad de inyección de las formulaciones farmacéuticas líquidas puede evaluarse comparando el tiempo necesario para inyectar el mismo volumen, como 0,5 ml, o más preferiblemente aproximadamente 1 ml, de diferentes formulaciones proteicas líquidas cuando se presiona la jeringuilla con la misma fuerza.

El término "fuerza de inyección", como se usa de manera general en la presente, se refiere a la fuerza requerida para empujar una formulación líquida determinada a través de una jeringuilla dada equipada con un calibre de aguja dado a una velocidad de inyección dada. La fuerza de inyección se informa típicamente en newtons. Por ejemplo, la fuerza de inyección puede medirse como la fuerza necesaria para empujar una formulación líquida a través de una jeringuilla de plástico de 1 ml que tiene un diámetro interior de 0,25 pulgadas, equipada con una aguja de calibre 27 de 0,50 pulgadas a una velocidad de inyección de 250 mm/min. Para medir la fuerza de inyección puede usarse un equipo de prueba. Cuando se mide en las mismas condiciones, una formulación con menor viscosidad requerirá en general una fuerza de inyección general menor.

En una realización, la inyección se administra con una aguja de calibre 27 y la fuerza de inyección es menor de 30 N. Las formulaciones pueden administrarse en la mayoría de los casos usando una aguja de calibre muy pequeño, por ejemplo, calibre de entre 27 y 31, típicamente de calibre 27, 29 o 31, opcionalmente de paredes delgadas.

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

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

El término "osmolaridad", como se usa de manera general en la presente, se refiere al número total de componentes disueltos por litro. La osmolaridad es similar a la molaridad, pero incluye el número total de moles de especies disueltas en la solución. Una osmolaridad de 1 Osm/l significa que hay 1 mol de componentes disueltos por l de solución. Algunos solutos, como los solutos iónicos que se disocian en solución, aportarán más de 1 mol de componentes disueltos por mol de soluto en la solución. Por ejemplo, el NaCl se disocia en Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en solución y, por tanto, proporciona 2 moles de componentes disueltos por cada mol de NaCl disuelto en solución. La osmolaridad fisiológica típicamente está en el intervalo de aproximadamente 280 mOsm/l a aproximadamente 310 mOsm/l.

El término "tonicidad", como se usa de manera general en la presente, se refiere al gradiente de presión osmótica resultante de la separación de dos soluciones por una membrana semipermeable. En particular, la tonicidad se usa para describir la presión osmótica creada a través de una membrana celular cuando una célula se expone a una solución externa. Los solutos que pueden atravesar la membrana celular no contribuyen al gradiente de presión osmótica final. Sólo las especies disueltas que no atraviesan la membrana celular contribuirán a las diferencias de

presión osmótica y, por tanto, a la tonicidad.

El término "hipertónica", como se usa de manera general en la presente, se refiere a una solución con una concentración de solutos más alta a la presente en el interior de la célula. Cuando una célula se sumerge en una solución hipertónica, el agua tiende a salir de la célula para equilibrar la concentración de solutos.

El término "hipotónica", como se usa de manera general en la presente, se refiere a una solución con una concentración de solutos más baja a la presente en el interior de la célula. Cuando una célula se sumerge en una solución hipotónica, el agua fluye hacia el interior de la célula para equilibrar la concentración de solutos.

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

El término "formulación líquida", como se usa en la presente, es una proteína que se suministra en un diluyente farmacéutico aceptable o una que se reconstituye en un diluyente farmacéutico aceptable antes de su administración al paciente.

Los términos "de marca" y "de referencia", cuando se emplean para referirse a una proteína o producto biológico, se usan indistintamente en la presente para referirse al producto biológico único autorizado bajo la sección 351(a) de la U.S. Public Health Service Act (42 U.S.C. § 262).

El término "biosimilar", como se usa en la presente, se usa generalmente de manera intercambiable con "un equivalente genérico" o "de continuación". Por ejemplo, un "mAb biosimilar" se refiere a una versión posterior de un mAb innovador fabricado típicamente por una empresa diferente. "Biosimilar", cuando se usa en referencia a una proteína de marca o un producto biológico de marca, puede referirse a un producto biológico evaluado frente a la proteína de marca o el producto biológico de marca y autorizado en virtud de la sección 351(k) de la U.S. Public Health Service Act (42 U.S.C. § 262). Un mAb biosimilar puede ser uno que satisfaga una o más directrices adoptadas el 30 de mayo de 2012 por el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) de la Agencia Europea de Medicamentos y publicadas por la Unión Europea como "Directriz sobre medicamentos biológicos similares que contienen anticuerpos monoclonales - cuestiones no clínicas y clínicas" (Referencia de Documento EMA/CHMP/BMW/403543/2010).

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

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

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

Como se usa en la presente, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas

a partir de ácidos y bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos y bases inorgánicos, y ácidos y bases orgánicos. Los ácidos no tóxicos adecuados incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos como ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, canforesulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico clorhídrico, isetionico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico y p-toluenosulfónico. Entre los contraiones con carga positiva adecuados se incluyen el sodio, el potasio, el litio, el calcio y el magnesio.

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

Como se usa en la presente, un "colorante orgánico soluble en agua" es una molécula orgánica que tiene una solubilidad molar de por lo menos 0,001 M a 25° C y pH 7, y que absorbe ciertas longitudes de onda de la luz, preferiblemente en la parte visible a infrarroja del espectro electromagnético, mientras que posiblemente transmite o refleja otras longitudes de onda de la luz.

Como se usa en la presente, el término "calcógeno" se refiere a los elementos del Grupo 16, que incluyen el oxígeno, el azufre y el selenio, en cualquier estado de oxidación. Por ejemplo, a menos que se especifique lo contrario, el término "calcógeno" también incluye SO<sub>2</sub>.

El término "grupo alquilo", como se usa en la presente, se refiere a grupos de hidrocarburos de cadena lineal, ramificada y cíclica. A menos que se especifique lo contrario, el término grupo alquilo abarca grupos hidrocarbonados que contienen uno o más enlaces dobles o triples. Un grupo alquilo que contenga por lo menos un sistema de anillos es un grupo "cicloalquilo". Un grupo alquilo que contenga por lo menos un enlace doble es un "grupo alqueno", y un grupo alquilo que contenga por lo menos un enlace triple es un "grupo alquino".

"Ariolo", como se usa en la presente, se refiere a sistemas de anillos de carbono aromáticos, incluyendo sistemas de anillos fusionados. En un grupo "ariolo", cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono.

"Heteroariolo", como se usa en la presente, se refiere a sistemas de anillos aromáticos, incluyendo sistemas de anillos fusionados, en los que por lo menos uno de los átomos que forman el anillo es un heteroátomo.

"Heterociclo", como se usa en la presente, se refiere a sistemas de anillos que, incluyendo los sistemas de anillos fusionados, no son aromáticos, en donde por lo menos uno de los átomos que forman el anillo es un heteroátomo.

Como se usa en la presente, un "heteroátomo" es cualquier átomo distinto del carbono o del hidrógeno. Los heteroátomos preferidos incluyen oxígeno, azufre y nitrógeno. Los anillos de heteroariolo y heterociclo ejemplares incluyen: bencimidazolilo, benzofuranoilo, benzotiofuranoilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzoxazolinilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, benzisoxazolilo, benzisotiazolilo, benzimidazolilo, carbazolilo, 4aH carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinolinilo, decahidroquinolinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, dihidrofuro[2,3 b]tetrahidrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizininilo, indolilo, 3H-indolilo, isatinoyilo, isobenzofuranoilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, metilendioxfenilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxindolilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidonilo, 4-piperidonilo, piperonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2H-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4H-quinolizininilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrazolilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, titrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tienofenilo y xantenilo.

El término "organofosfato" se refiere en la presente a un compuesto que contiene uno o más grupos fosforilo, por lo menos uno de los cuales está conectado covalentemente a un grupo orgánico mediante un enlace fosfodiéster. Los organofosfatos pueden ser de origen natural o no naturales, sintéticos o semisintéticos.

El término "nucleobase", como se usa en la presente, se refiere en sentido amplio a anillos heteroaromáticos

que contienen nitrógeno sustituidos y no sustituidos, preferiblemente que tienen tanto un grupo donante de enlaces de hidrógeno como un grupo receptor de enlaces de hidrógeno, capaces de formar enlaces de hidrógeno Watson-Crick con una nucleobase complementaria. Las nucleobases incluyen nucleobases de origen natural y nucleobases no naturales. Las nucleobases de origen no natural incluyen nucleobases que se encuentran con poca frecuencia o transitoriamente en los ácidos nucleicos naturales, por ejemplo, hipoxantina, 6-metiladenina, 5-metilpirimidinas como la 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina (HMC), HMC glucosil y HMC gentobiosil, así como nucleobases sintéticas, por ejemplo, 2-aminoadenina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina, 5-bromouracilo, 5-hidroximetiluracilo, 8-azaguanina, 7-deazaguanina, *N*<sup>6</sup>-(6-aminohexil)adenina y 2,6-diaminopurina. Las nucleobases incluyen purina y bases de purina como adenina, guanina, hipoxantina, xantina y 7-metilguanina. Las nucleobases incluyen pirimidina y bases de pirimidina como timina, citosina, uracilo, 5,6-dihidrouracilo, 5-metilcitosina y 5-hidroximetilcitosina.

Ciertos organofosforados contienen grupos funcionales ácidos o básicos. El hecho de que estos grupos funcionales estén total o parcialmente ionizados depende del pH de la formulación en la que se encuentren. A menos que se especifique lo contrario, la referencia a una formulación que contenga un organofosfato que tiene un grupo funcional ionizable incluye tanto el compuesto original como cualquier posible estado ionizado.

El término "nucleósido" se usa en la presente para referirse a cualquier compuesto en el que una nucleobase se acopla covalentemente a un azúcar de cinco carbonos, preferiblemente en su forma cíclica. Los azúcares de cinco carbonos incluyen la ribosa, la desoxirribosa, la arabinosa, la xilosa, la lixosa y sus derivados.

El término "nucleótido" se usa en la presente para referirse a cualquier compuesto en el que un nucleósido está acoplado covalentemente en una o más posiciones del azúcar a un grupo fosfato o polifosfato, por ejemplo, un grupo difosfato o trifosfato.

## II. Formulaciones

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

Las formulaciones pueden tener concentraciones de anticuerpos entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 5.000 mg/ml. Las formulaciones, incluyendo las formulaciones de mAb, pueden tener una concentración de proteína de más de 100 mg/ml, preferiblemente de más de 150 mg/ml, más preferiblemente de más de aproximadamente 175 mg/ml, incluso más preferiblemente de más de aproximadamente 200 mg/ml, incluso más preferiblemente de más de aproximadamente 225 mg/ml, incluso más preferiblemente de más de aproximadamente 250 mg/ml, y lo más preferible de más de o de aproximadamente 300 mg/ml. En ausencia de un organofosfato, la viscosidad de una formulación proteica aumenta exponencialmente a medida que se incrementa la concentración. Tales formulaciones proteicas, en ausencia de un organofosfato, pueden tener viscosidades mayores de 100 cP, mayores de 150 cP, mayores de 200 cP, mayores de 300 cP, mayores de 500 cP, o incluso mayores de 1.000 cP, cuando se miden a 25° C. Tales formulaciones a menudo son inadecuadas para la inyección SC o IM. El uso de uno o más organofosfatos reductores de la viscosidad permite la preparación de formulaciones que tienen una viscosidad menor de o de aproximadamente 100 cP, preferiblemente menor de o de aproximadamente 75 cP, más preferiblemente menor de o de aproximadamente 50 cP, menor de o de aproximadamente menor de o de aproximadamente 30 cP, menor de o de aproximadamente 20 cP, o incluso más preferiblemente menor de o de aproximadamente 10 cP, cuando se mide a 25° C. Las formulaciones de la invención comprenden un organofosfato que es TPP-APMI.

Aunque los organofosfatos reductores de la viscosidad pueden usarse para disminuir la viscosidad de formulaciones proteicas concentradas, también pueden usarse en formulaciones menos concentradas. En algunas realizaciones, las formulaciones pueden tener concentraciones de proteínas entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml. Las formulaciones pueden tener una concentración de proteínas de más de aproximadamente 20 mg/ml, de más de aproximadamente 40 mg/ml o de más de aproximadamente 80 mg/ml.

Para ciertas proteínas, las formulaciones que no tienen un organofosfato reductor de la viscosidad pueden tener viscosidades mayores de aproximadamente 20 cP, mayores de aproximadamente 50 cP o mayores de aproximadamente 80 cP. El uso de uno o más organofosfatos reductores de la viscosidad permite la preparación de formulaciones con una viscosidad menor o de aproximadamente 80 cP, preferiblemente menor o de aproximadamente 50 cP, incluso más preferiblemente menor o de aproximadamente 20 cP, o lo más preferible menor o de aproximadamente 10 cP, cuando se mide a 25° C.

En algunas realizaciones, las formulaciones proteicas acuosas tienen una viscosidad que es por lo menos

aproximadamente un 30% menor que la formulación análoga sin el organofosfato u organofosfatos reductores de la viscosidad, cuando se mide en las mismas condiciones. En otras realizaciones, las formulaciones tienen una viscosidad que es 40% menor, 50% menor, 60% menor, 70% menor, 80% menor, 90% menor, o incluso más un 90% menor que la formulación análoga sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad. En una realización preferida, la formulación contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de la una o más proteínas de alto peso molecular, como mAbs, en un volumen de menos de aproximadamente 2 ml, preferiblemente menos de aproximadamente 1 ml, o más preferiblemente menos de aproximadamente 0,75 ml.

Las formulaciones de viscosidad reducida han mejorado la capacidad de inyección y requieren menos fuerza de inyección en comparación con la formulación análoga sin el organofosfato reductor de la viscosidad (por ejemplo, en un tampón de fosfato sódico) en por lo demás las mismas condiciones. En algunas realizaciones, la fuerza de inyección disminuye en más de aproximadamente un 20%, más de aproximadamente un 30%, más de aproximadamente un 40%, más de aproximadamente un 50%, o más de aproximadamente 2 veces, en comparación con las formulaciones estándar sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad en por lo demás las mismas condiciones de inyección. En algunas realizaciones, las formulaciones poseen "características de flujo newtoniano", definidas como viscosidad sustancialmente independiente de la velocidad de cizallamiento. Las formulaciones proteicas pueden inyectarse fácilmente a través de agujas de calibre 18-32 aproximadamente. Los calibres de aguja preferidos para la administración de las formulaciones de baja viscosidad incluyen los calibres 27, 29 y 31, opcionalmente de paredes delgadas.

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

Las formulaciones proteicas de baja viscosidad pueden permitir una mayor flexibilidad en el desarrollo de la formulación. Las formulaciones de baja viscosidad pueden mostrar cambios en la viscosidad que dependen menos de la concentración de proteína en comparación con la misma formulación sin el organofosfato reductor de la viscosidad. Las formulaciones proteicas de baja viscosidad pueden permitir concentraciones mayores y frecuencias de dosificación menores de la proteína. En algunas realizaciones, las formulaciones proteicas de baja viscosidad contienen 2 o más, 3 o más, o 4 o más proteínas diferentes. Por ejemplo, pueden proporcionarse combinaciones de 2 o más mAbs en una única formulación proteica de baja viscosidad.

Como las formulaciones proteicas (como los mAb) pueden administrarse a los pacientes a concentraciones proteicas más altas que otras formulaciones proteicas por lo demás similares que no contengan un organofosfato reductor de la viscosidad, puede reducirse la frecuencia de dosificación de la proteína. Por ejemplo, las proteínas que antes requerían una administración diaria pueden administrarse una vez cada dos días, cada tres días o incluso con menos frecuencia cuando las proteínas se formulan con organofosfatos reductores de la viscosidad. Las proteínas que actualmente requieren múltiples administraciones en el mismo día (ya sea al mismo tiempo o en diferentes momentos del día) pueden administrarse en menos inyecciones al día. En algunos casos, la frecuencia puede reducirse a una única inyección una vez al día. Aumentando la dosificación administrada múltiples veces por inyección puede reducir la frecuencia de dosificación, por ejemplo de una vez cada 2 semanas a una vez cada 6 semanas.

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

Los aditivos, incluyendo los organofosfatos reductores de la viscosidad, pueden incluirse en cualquier cantidad para lograr los niveles de viscosidad deseados de la formulación líquida, siempre que las cantidades no sean tóxicas o nocivas de otro modo, y no interfieran sustancialmente con la estabilidad química y/o física de la formulación. El o los organofosfatos reductores de la viscosidad en algunas realizaciones pueden estar presentes independientemente en una concentración de menos de aproximadamente 1,0 M, preferiblemente menos de aproximadamente 0,50 M, menos de o igual a aproximadamente 0,30 M o menor o igual a 0,15 M. Las concentraciones especialmente preferidas incluyen aproximadamente 0,10 M y aproximadamente 0,30 M. Para algunas realizaciones que tienen dos o más organofosfatos reductores de la viscosidad, los compuestos están preferiblemente, pero no necesariamente, presentes en la misma concentración.

Los organofosfatos reductores de la viscosidad permiten una reconstitución más rápida de una unidad de dosificación liofilizada. La unidad de dosificación es una torta liofilizada de proteína, organofosfato reductor de la

viscosidad y otros excipientes, a la que se añade agua, solución salina u otro fluido farmacéuticamente aceptable. En ausencia de organofosfatos reductores de la viscosidad, a menudo se requieren periodos de 10 minutos o más para disolver completamente la torta liofilizada con una concentración elevada de proteínas. Cuando la torta liofilizada contiene uno o más organofosfatos reductores de la viscosidad, el período necesario para disolver completamente la torta se reduce a menudo en un factor de dos, cinco o incluso diez. En ciertas realizaciones, se requiere menos de un minuto para disolver completamente una torta liofilizada que contenga más de 150, 200 o incluso 300 mg/ml de proteína.

Las formulaciones proteicas de baja viscosidad permiten una mayor flexibilidad en el desarrollo de la formulación. Las formulaciones de baja viscosidad presentan una viscosidad que cambia menos con concentraciones de proteína crecientes en comparación con por lo demás la misma formulación sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad. Las formulaciones proteicas de baja viscosidad presentan un gradiente de viscosidad disminuido en comparación con por lo demás la misma formulación sin el fosfato orgánico reductor de la viscosidad.

El gradiente de viscosidad de la formulación proteica puede ser 2 veces menor, 3 veces menor o incluso más de 3 veces menor que el gradiente de viscosidad de la misma formulación proteica sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad. El gradiente de viscosidad de la formulación proteica puede ser menor de 2,0 cP ml/mg, menor de 1,5 cP ml/mg, menor de 1,0 cP ml/mg, menor de 0,8 cP ml/mg, menor de 0,6 cP ml/mg, o menor de 0,2 cP ml/mg para una formulación proteica que tenga una concentración proteica entre 10 mg/ml y 2.000 mg/ml. Al reducir el gradiente de viscosidad de la formulación, la concentración de proteína puede aumentarse en mayor grado antes de que se observe un aumento exponencial de la viscosidad.

#### A. Proteínas

Las formulaciones de la invención comprenden proteína que es un anticuerpo. Puede formularse cualquier proteína adicional, incluyendo proteínas, glicoproteínas o lipoproteínas recombinantes, aisladas o sintéticas. Puede tratarse de anticuerpos (incluyendo fragmentos de anticuerpos y anticuerpos recombinantes), enzimas, factores de crecimiento u hormonas, inmunomodificadores, antiinfecciosos, antiproliferativos, vacunas u otras proteínas terapéuticas, profilácticas o de diagnóstico. En ciertas realizaciones, la proteína tiene un peso molecular de más de aproximadamente 150 kDa, de más de 160 kDa, de más de 170 kDa, de más de 180 kDa, de más de 190 kDa o incluso de más de 200 kDa.

En ciertas realizaciones, la proteína adicional puede ser una proteína PEGilada. El término "proteína PEGilada", como se usa en la presente, se refiere a una proteína que tiene uno o más grupos de poli(etilenglicol) u otros grupos de polímeros sigilosos unidos covalentemente a la misma, opcionalmente a través de un conector químico que puede ser diferente de los uno o más grupos poliméricos. Las proteínas PEGiladas se caracterizan por su filtración renal típicamente reducida, su captación reducida por el sistema reticuloendotelial y su degradación enzimática disminuida, lo que lleva, por ejemplo, a vidas medias prolongadas y a una biodisponibilidad mejorada. Los polímeros sigilosos incluyen poli(etilenglicol); poli(propilenglicol); polímeros de poli(aminoácidos) como poli(ácido glutámico), poli(hidroxietyl-L-asparagina) y poli(hidroxietyl-L-glutamina); poli(glicerol); polímeros de poli(2-oxazolina) como poli(2-metil-2-oxazolina) y poli(2-etil-2-oxazolina); poli(acrilamida); poli(vinilpirrolidona); poli(N-(2-hidroxipropil)metacrilamida); y copolímeros y mezclas de los mismos. En realizaciones preferidas, el polímero sigiloso en una proteína PEGilada es poli(etilenglicol) o un copolímero del mismo. Las proteínas PEGiladas pueden PEGilarse aleatoriamente, es decir, tener uno o más polímeros sigilosos unidos covalentemente en sitio o sitios no específicos de la proteína, o pueden PEGilarse de una manera específica del sitio uniendo covalentemente el polímero sigiloso a sitio o sitios específicos de la proteína. La PEGilación en sitios específicos puede realizarse, por ejemplo, usando polímeros sigilosos activados que tengan uno o más grupos funcionales reactivos. Los ejemplos se describen, por ejemplo, en Hoffman et al., *Progress in Polymer Science*, 32:922-932, 2007.

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

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

Las objetivos moleculares ejemplares para los anticuerpos descritos en la presente incluyen proteínas CD,

como CD3, CD4, CD8, CD19, CD20 y CD34; miembros de la familia de receptores HER, como el receptor de EGF, receptor de HER2, HER3 o HER4; moléculas de adhesión celular, como LFA-1, Mo1, p150,95, VLA-4, ICAM-1, VCAM, e integrina  $\alpha v/\beta 3$ , incluyendo las subunidades  $\alpha$  o  $\beta$  de las mismas (por ejemplo, anticuerpos anti-CD11a, anti-CD18 o anti-CD11b); factores de crecimiento, como VEGF; IgE; antígenos del grupo sanguíneo; receptor flk2/flt3; receptor de la obesidad (OB); proteína C; PCSK9; etc.

Agentes terapéuticos de anticuerpos actualmente en el mercado

Muchos de los agentes terapéuticos de proteínas actualmente en el mercado, especialmente los anticuerpos definidos en la presente, se administran mediante infusiones IV debido a los elevados requisitos de dosificación. Las formulaciones pueden incluir uno de los agentes terapéuticos de anticuerpos actualmente en el mercado o un biosimilar de los mismos. Algunos agentes terapéuticos de proteínas actualmente en el mercado no son de alto peso molecular, pero aun así se administran mediante infusión intravenosa porque se necesitan dosis altas para la eficacia terapéutica. En algunas realizaciones, se proporcionan formulaciones líquidas de estas proteínas de bajo peso molecular como se definen en la presente con concentraciones para administrar cantidades terapéuticamente eficaces para inyecciones SC o IM.

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

El natalizumab, un mAb humanizado contra la molécula de adhesión celular  $\alpha 4$ -integrina, se usa en el tratamiento de la esclerosis múltiple y la enfermedad de Crohn. Comercializado anteriormente con el nombre comercial de ANTEGREN®, el natalizumab se comercializa actualmente como TYSABRI® por Biogen Idec ("Biogen") y Elan Corp. ("Elan"). El TYSABRI® se produce en células de mieloma murino. Cada dosis de 15 ml contiene 300 mg de natalizumab; 123 mg de cloruro sódico, USP; 17,0 mg de fosfato sódico, monobásico, monohidrato, USP; 7,24 mg de fosfato sódico, dibásico, heptahidrato, USP; 3,0 mg de polisorbato 80, USP/NF, en agua para inyección IV, USP a pH 6,1. El natalizumab se administra típicamente mediante infusiones intravenosas (IV) mensuales y ha demostrado su eficacia en el tratamiento de los síntomas tanto de la esclerosis múltiple como de la enfermedad de Crohn, así como para prevenir las recaídas, la pérdida de visión, el deterioro cognitivo y mejorar significativamente la calidad de vida del paciente.

Como se usa en la presente, el término "natalizumab" incluye el mAb contra la molécula de adhesión celular  $\alpha 4$ -integrina conocida bajo la Denominación Común Internacional "NATALIZUMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. El Natalizumab incluye los anticuerpos descritos en la Patente de Estados Unidos N° 5.840.299, Patente de Estados Unidos N° 6.033.665, Patente de Estados Unidos N° 6.602.503, Patente de Estados Unidos N° 168.062, Patente de Estados Unidos N° 5.385.839 y Patente de Estados Unidos N° 5.730.978. El natalizumab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial TYSABRI® por Biogen Idec y Elan Corporation o un producto biosimilar del mismo.

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

El cetuximab está indicado para el tratamiento de pacientes con cáncer colorrectal metastásico (mCRC) con expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y KRAS salvaje, en combinación con quimioterapia y como agente único en pacientes en los que haya fallado el tratamiento con oxaliplatino e irinotecán o que no toleren el irinotecán. El cetuximab está indicado para el tratamiento de pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello en combinación con quimioterapia basada en platino para el tratamiento de primera línea de la enfermedad recurrente y/o metastásica y en combinación con radioterapia para la enfermedad localmente avanzada. Aproximadamente el 75% de los pacientes con cáncer colorrectal metastásico tienen un tumor que expresa EGFR y, por tanto, se consideran elegibles para el tratamiento con cetuximab o panitumumab, de acuerdo con las directrices de la FDA.

Como se usa en la presente, el término "cetuximab" incluye el mAb conocido con la Denominación Común Internacional "CETUXIMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. El cetuximab incluye los anticuerpos descritos en la Patente de Estados Unidos N° 6.217.866. El cetuximab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial ERBITUX® y productos biosimilares del mismo. Los biosimilares de ERBITUX® pueden incluir los que están siendo desarrollados actualmente por Amgen, AlphaMab Co., Ltd. ("AlphaMab"), y Actavis plc ("Actavis").

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

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

Como se usa en la presente, el término "bevacizumab" incluye el mAb que inhibe el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A) conocido bajo el nombre/denominación común internacional "BEVACIZUMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. El bevacizumab se describe en la Patente de Estados Unidos N° 6.054.297. El bevacizumab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial AVASTIN® y los productos biosimilares del mismo. Los biosimilares de AVASTIN® pueden incluir los que están siendo desarrollados actualmente por Amgen, Actavis, AlphaMab y Pfizer, Inc ("Pfizer"). Los biosimilares de AVASTIN® pueden incluir el biosimilar conocido como BCD-021 producido por Biocad y actualmente en ensayos clínicos en los Estados Unidos.

El trastuzumab es un mAb que interfiere con el receptor de HER2/neu. El trastuzumab es comercializado con el nombre comercial HERCEPTIN® por Genentech, Inc. El HERCEPTIN® es producido por una línea celular de mamífero (ovario de hámster chino [CHO]). EL HERCEPTIN® es un polvo liofilizado estéril, de color blanco a amarillo pálido, libre de conservantes, para administración intravenosa. Cada vial de HERCEPTIN® contiene 440 mg de trastuzumab, 9,9 mg de L-histidina HCl, 6,4 mg de L-histidina, 400 mg de  $\alpha,\alpha$ -trehalosa dihidrato y 1,8 mg de polisorbato 20, USP. La reconstitución con 20 ml de agua produce una solución multidosis que contiene 21 mg/ml de trastuzumab. El HERCEPTIN® se administra actualmente mediante infusión IV con una frecuencia semanal y a una dosificación que varía de aproximadamente 2 mg/kg a aproximadamente 8 mg/kg.

El trastuzumab se usa principalmente para tratar ciertos cánceres de mama. El gen HER2 está amplificado en el 20-30% de los cánceres de mama en fase inicial, lo que hace que sobreexpresa receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGF) en la membrana celular. El trastuzumab se administra generalmente como terapia de mantenimiento para pacientes con cáncer de mama positivos para HER2, típicamente durante un año tras la quimioterapia. Actualmente, el trastuzumab se administra mediante infusión IV con una frecuencia semanal y a una dosificación que varía de aproximadamente 2 mg/kg a aproximadamente 8 mg/kg.

Como se usa en la presente, el término "trastuzumab" incluye el mAb que interfiere con el receptor HER2/neu conocido bajo el nombre/denominación común Internacional "TRASTUZUMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. El Trastuzumab se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.821.337. El trastuzumab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial HERCEPTIN® y biosimilares de los mismos. El término "trastuzumab" incluye el agente activo de los productos biosimilares HERCEPTIN® comercializados con los nombres comerciales HERTRAZ® por Mylan, Inc. ("Mylan") y CANMAB® por Biocon, Ltd. ("Biocon"). ("Biocon"). El trastuzumab puede incluir el agente activo en los productos biosimilares HERCEPTIN® que están siendo desarrollados por Amgen y por PlantForm Corporation, Canadá.

El Infliximab es un mAb contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) usado para tratar enfermedades autoinmunes. Se comercializa con el nombre comercial de REMICADE® por Janssen Global Services, LLC ("Janssen") en los Estados Unidos, Mitsubishi Tanabe Pharma en Japón, Xian Janssen en China y Merck & Co ("Merck") en otros países. El Infliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico de ratón/humano con un peso molecular

5 elevado de aproximadamente 144 kDa. En algunas realizaciones, las formulaciones contienen un biosimilar de REMICADE®, como REMSIMA™ o INFLECTRA™. Tanto REMSIMA™, desarrollado por Celltrion, Inc. ("Celltrion"), como INFLECTRA™, desarrollado por Hospira Inc, Reino Unido, han sido recomendados para su aprobación reglamentaria en Europa. El Celltrion ha presentado una solicitud de REMSIMA™ a la FDA. El Infliximab se administra actualmente mediante infusión IV a dosis que varían de aproximadamente 3 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg.

10 El Infliximab contiene aproximadamente un 30% de secuencia de aminoácidos de región variable murina, que confiere especificidad de unión a antígeno al TNF $\alpha$  humano. El 70% restante corresponde a una región constante de cadena pesada de IgG1 humana y a una región constante de cadena ligera kappa humana. El Infliximab tiene alta afinidad por el TNF $\alpha$  humano, que es una citoquina con múltiples acciones biológicas incluyendo la mediación de respuestas inflamatorias y la modulación del sistema inmunitario.

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

25 Como se usa en la presente, el término "infliximab" incluye el anticuerpo monoclonal quimérico de ratón/humano conocido con la denominación común internacional "INFLIXIMAB" o una porción de unión a antígeno del mismo. El infliximab neutraliza la actividad biológica del TNF $\alpha$  al unirse con alta afinidad a las formas soluble y transmembrana del TNF $\alpha$  e inhibe la unión del TNF $\alpha$  con sus receptores. El infliximab se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.698.195. El término "Infliximab" incluye el agente activo de los productos comercializados o propuestos para su comercialización con los nombres comerciales REMICADE® por múltiples entidades; REMSIMA™ de Celltrion e INFLECTRA™ de Hospira, Inc ("Hospira"). El infliximab se suministra como una torta liofilizada estéril para su reconstitución y dilución. Cada vial de infliximab contiene 100 mg de infliximab y excipientes como fosfato sódico monobásico monohidratado, fosfato sódico dibásico dihidratado, sacarosa y polisorbato 80.

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

40 El panitumumab es un mAb totalmente humano aprobado por la FDA para el tratamiento del cáncer metastásico que expresa EGFR con progresión de la enfermedad. El panitumumab es comercializado con el nombre comercial VECTIBIX® por Amgen. El VECTIBIX® es envasado como un concentrado de panitumumab de 20 mg/ml en viales de 5 ml, 10 ml y 15 ml para perfusión intravenosa. Cuando se prepara de acuerdo con las instrucciones de envasado, la concentración final de panitumumab no supera los 10 mg/ml. El VECTIBIX® se administra a una dosificación de 6 mg/kg cada 14 días en perfusión intravenosa. Como se usa en la presente, el término "panitumumab" incluye el receptor del factor de crecimiento epidérmico antihumano conocido por la Denominación Común Internacional "PANITUMUMAB". El término "panitumumab" incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial VECTIBIX® por Amgen y biosimilares de los mismos. El término "panitumumab" incluye los anticuerpos monoclonales descritos en la Patente de Estados Unidos N° 6.235.883. El término "panitumumab" incluye el agente activo de los productos biosimilares VECTIBIX®, incluyendo el biosimilar VECTIBIX® que está siendo desarrollado por BioXpress, SA ("BioXpress").

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

60 El abciximab (REOPRO®) es fabricado por Janssen Biologics BV y distribuido por Eli Lilly & Company ("Eli Lilly"). El abciximab es un fragmento Fab del anticuerpo monoclonal quimérico humano-murino 7E3. El abciximab se une al receptor de la glicoproteína (GP) IIb/IIIa de las plaquetas humanas e inhibe la agregación plaquetaria impidiendo la unión del fibrinógeno, el factor von Willebrand y otras moléculas adhesivas. También se une al receptor de vitronectina ( $\alpha$ v $\beta$ 3) que se encuentra en las plaquetas y en las células endoteliales y musculares lisas de la pared vascular. El abciximab es un inhibidor de la agregación plaquetaria que se usa principalmente durante y después de procedimientos coronarios. El abciximab se administra mediante perfusión intravenosa, primero en bolo de 0,25 mg/kg y después en perfusión intravenosa continua de 0,125 mcg/kg/minuto durante 12 horas.

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

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

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

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

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

El pertuzumab (PERJETA®) es un mAb que inhibe la dimerización de HER2. El pertuzumab recibió la aprobación de la FDA para el tratamiento del cáncer de mama metastásico HER2-positivo en 2012. La dosificación actualmente recomendada de pertuzumab es de 420 mg a 840 mg por infusión IV. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir pertuzumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 420 mg/ml a aproximadamente 840 mg/ml.

El daclizumab es un mAb humanizado anti-CD25 y se usa para prevenir el rechazo en los trasplantes de órganos, especialmente en los de riñón. El fármaco también se está investigando para el tratamiento de la esclerosis múltiple. El daclizumab tiene un peso molecular de aproximadamente 143 kDa. El daclizumab fue comercializado en los Estados Unidos por Hoffmann-La Roche, Ltd. ("Roche") como Zaclizumab. ("Roche") como ZENAPAX® y se administraba mediante infusión IV de 1 mg/kg. El proceso de alto rendimiento de daclizumab (DAC HYP; B1B019; Biogen Idea ("Biogen") y AbbVie, Inc. ("AbbVie")) se encuentra en ensayos clínicos de fase III como inyección subcutánea de 150 mg una vez al mes para tratar la esclerosis múltiple remitente recidivante. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir daclizumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 40 mg/ml a aproximadamente 300 mg/ml.

El eculizumab (SOLIRIS®) es un mAb humanizado aprobado para el tratamiento de enfermedades hematológicas raras, como la hemoglobinuria paroxística nocturna y el síndrome urémico hemolítico atípico. El eculizumab, con un peso molecular de aproximadamente 148 kDa, está siendo desarrollado por Alexion Pharmaceuticals, Inc ("Alexion"). Se administra por infusión IV en cantidades de aproximadamente 600 mg a

aproximadamente 1.200 mg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir eculizumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 500 mg/ml a aproximadamente 1.200 mg/ml.

5 El tocilizumab (ACTEMRA®) es un mAb humanizado contra el receptor de la interleucina 6. Es un fármaco inmunosupresor, principalmente para el tratamiento de la artritis reumatoide (RA) y la artritis idiopática juvenil sistémica, una forma grave de RA en niños. El tocilizumab se administra comúnmente por infusión IV en dosis de aproximadamente 6 mg/kg a aproximadamente 8 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir tocilizumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 240 mg/ml a aproximadamente 800 mg/ml.

10 El rituximab (RITUXAN®) es un mAb quimérico anti-CD20 usado para tratar una variedad de enfermedades caracterizadas por un número excesivo de células B, células B hiperactivas o células B disfuncionales. El rituximab se usa para tratar cánceres del sistema sanguíneo blanco, como leucemias y linfomas, incluyendo el linfoma de Hodgkin y su subtipo con predominio linfocítico. Ha demostrado ser un tratamiento eficaz para la artritis reumatoide. El rituximab se usa ampliamente para tratar casos difíciles de esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico y anemias autoinmunes.

15 El rituximab se comercializa conjuntamente en los Estados Unidos con el nombre comercial RITUXAN® por Biogen y Genentech y fuera de Estados Unidos con el nombre comercial MABTHERA® por Roche. El RITUXAN® se distribuye en viales de un solo uso que contienen 100 mg/10 ml y 500 mg/50 ml. El RITUXAN® se administra típicamente mediante infusión IV de aproximadamente 375 mg/m<sup>2</sup>. El término "rituximab", como se usa en la presente, incluye el mAb anti-CD20 conocido con la Denominación Común Internacional "RITUXIMAB". El rituximab incluye los mAb descritos en la Patente de Estados Unidos N° 5.736.137. El rituximab incluye el agente activo de los productos comercializados con el nombre comercial RITUXAN® y MABTHERA® y biosimilares de los mismos.

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

25 El ipilimumab es un mAb humano desarrollado por Bristol-Myers Squibb Company ("Bristol-Myers Squibb"). Comercializado como YERVOY®, se usa para el tratamiento del melanoma y también está siendo sometido a ensayos clínicos para el tratamiento del carcinoma pulmonar de células no pequeñas (CNSCLC), el cáncer pulmonar de células pequeñas (SCLC) y el cáncer de próstata metastásico refractario a las hormonas. Actualmente, el ipilimumab se administra mediante infusión IV de 3 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir ipilimumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 120 mg/ml a aproximadamente 300 mg/ml.

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

35 El nimotuzumab (THERACIM®, BIOMAB EGFR®, THERALOC®, CIMAhcr®) es un mAb humanizado con un peso molecular de aproximadamente 151 kDa usado para tratar carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, gliomas malignos de alto grado recurrentes o refractarios, astrocitomas anaplásicos, glioblastomas y gliomas pontinos intrínsecos difusos. El nimotuzumab se administra típicamente mediante infusión intravenosa de aproximadamente 200 mg semanales. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir nimotuzumab, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 200 mg/ml.

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

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

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

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

5 Otros anticuerpos terapéuticos que pueden formularse con organofosfatos reductores de la viscosidad incluyen CT-P6 de Celltrion, Inc. (Celltrion).

Agentes terapéuticos de anticuerpos en las últimas fases de ensayo y desarrollo

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

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

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

40 El ramucirumab es un mAb humano que está siendo desarrollado para el tratamiento de tumores sólidos. Se están realizando ensayos clínicos de fase III para el tratamiento del cáncer de mama, el adenocarcinoma gástrico metastásico, el cáncer de pulmón de células no pequeñas y otros tipos de cáncer. En algunos ensayos de fase III, el ramucirumab se administra a aproximadamente 8 mg/kg por infusión IV.

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

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

55 El alirocumab (REGN727) es un mAb humano de Regeneron Pharmaceuticals, Inc. ("Regeneron") y Sanofi-Aventis U.S. LLC ("Sanofi"), indicado para la hipercolesterolemia y el síndrome coronario agudo.

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

60 El racotumomab de CIMAB, SA ("CIMAB"); Laboratorio Elea S.A.C.I.F. y A. es un mAb indicado para el cáncer de pulmón de células no pequeñas.

65 Otros anticuerpos que pueden formularse con organofosfatos reductores de la viscosidad incluyen bococizumab (PF-04950615) y tanezumab; ganitumab, blinatumomab, trebananib de Amgen; inmunoglobulina de ántrax de Cangene Corporation; teplizumab de MacroGenics, Inc. MK-3222, MK-6072 de Merck & Co ("Merck"); girentuximab de Wilex AG; RIGScan de Navidea Biopharmaceuticals ("Navidea"); PF-05280014 de Pfizer; SA237 de

Chugai Pharmaceutical Co. Ltd. ("Chugai") ("Chugai"); guselkumab de Janssen Johnson and Johnson Services, Inc. ("J&J"); Antitrombina Gamma (KW-3357) de Kyowa; y CT-P10 de Celltrion.

Anticuerpos en ensayos clínicos en fase inicial

5  
 10  
 15  
 20  
 25

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

30

Muchos mAbs se encuentran actualmente en ensayos clínicos para el tratamiento de trastornos autoinmunes. Estos mAbs pueden incluirse en formulaciones líquidas de baja viscosidad y alto peso molecular. El RG7624 es un mAb totalmente humano diseñado para unirse específica y selectivamente a la familia de citoquinas interleucina-17 humana. Se está llevando a cabo un ensayo clínico de fase I para evaluar el RG7624 en enfermedades autoinmunes. El BII033 es un mAb anti-LINGO-1 de Biogen actualmente en ensayos de fase II para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

35  
 40

Las proteínas de alto peso molecular también pueden incluir el AGS-009, un mAb dirigido al IFN-alfa desarrollado por Argos Therapeutics, Inc. que recientemente ha finalizado los ensayos de fase I para el tratamiento del lupus. A los pacientes se les administran hasta 30 mg/kg de AGS-009 mediante infusión IV. El BT-061, desarrollado por AbbVie, está en ensayos de fase II para pacientes con artritis reumatoide. El certolizumab pegol (CIMZIA®) es un mAb en ensayos de fase II para la espondilitis anquilosante y la artritis reumatoide juvenil. El clazakizumab, un mAb anti-IL6, está en ensayos de fase II por Bristol-Myers Squibb.

45  
 50

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

55  
 60

El MEDI-546 y el MEDI-570 son mAbs actualmente en ensayos de fase I y II de AstraZeneca para el tratamiento del lupus. El MEDI-546 se administra en el estudio de fase II mediante infusiones IV regulares de 300-1.000 mg. El MEDI-551, otro mAb que AstraZeneca está desarrollando para numerosas indicaciones, también se administra actualmente por infusión IV. El NN8209, un mAb que bloquea el receptor C5aR y está siendo desarrollado por Novo Nordisk A/S ("Novo Nordisk"), ha completado un estudio de dosificación de fase II para el tratamiento de la artritis reumatoide. El NN8210 es otro mAb antiC5aR que está siendo desarrollado por Novo Nordisk y actualmente se encuentra en ensayos de fase I. El IPH2201 (NN8765) es un mAb humanizado dirigido contra NKG2A que está siendo desarrollado por Novo Nordisk para tratar a pacientes con afecciones inflamatorias y enfermedades autoinmunes. El NN8765 ha finalizado recientemente los ensayos de fase I.

65

El olokizumab es un mAb humanizado que actúa de forma potente contra la citoquina IL-6. La IL-6 está implicada en varias vías autoinmunes e inflamatorias. El olokizumab ha finalizado los ensayos de fase II para el tratamiento de la artritis reumatoide. El otelixizumab, también conocido como TRX4, es un mAb que está siendo desarrollado para el tratamiento de la diabetes de tipo 1, la artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunes. El

ozoralizumab es un mAb humanizado que ha completado los ensayos de fase II.

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

El rontalizumab es un mAb humanizado desarrollado por Genentech. Recientemente ha finalizado los ensayos de fase II para el tratamiento del lupus. El SAR1 13244 (anti-CXCR5) es un mAb de Sanofi en ensayos de fase I. El sifalitinumab (mAb anti-IFN-alfa) es un mAb en ensayos de fase II para el tratamiento del lupus.

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

En una formulación líquida de baja viscosidad y alto peso molecular pueden incluirse uno o varios mAbs en fase inicial de desarrollo para el tratamiento de varios tipos de cáncer y afecciones relacionadas. United Therapeutics, Corporation tiene dos mAbs en ensayos de fase I, el mAb 8H9 y el mAb ch14.18. Los mAbs ABT-806, enavatumumab y volociximab de AbbVie están en fase inicial de desarrollo. Actinium Pharmaceuticals, Inc ha realizado ensayos en fase inicial de los mAbs Actimab-A (M195 mAb), anti-CD45 mAb e lomab-B. Seattle Genetics, Inc. ("Seattle Genetics") tiene varios mAbs en ensayos de fase inicial para el cáncer y afecciones relacionadas, incluyendo el ADC anti-CD22 (RG7593; pinatumumab vedotin), el ADC anti-CD79b (RG7596), el ADC anti-STEAP1 (RG7450), ASG-5ME y ASG-22ME de Agensys, Inc. ("Agensys"), el conjugado anticuerpo-fármaco RG7458, y vorsetuzumab mafodotin. Los agentes terapéuticos contra el cáncer en fase inicial de Genentech pueden incluirse en formulaciones de baja viscosidad, como ALT-836, los conjugados anticuerpo-fármaco RG7600 y DEDN6526A, ADC anti-CD22 (RG7593), mAb anti-EGFL7 (RG7414), mAb anti-HER3/EGFR DAF (RG7597), mAb anti-PD-L1 (RG7446), DFRF4539A, y MINT1526A. Bristol-Myers Squibb está desarrollando mAbs en fase inicial para agentes terapéuticos contra el cáncer, incluyendo los identificados como anti-CXCR4, anti-PD-L1, IL-21 (BMS-982470), lirilumab y urelumab (anti-CD137). Otros mAbs en ensayos de fase como agentes terapéuticos contra el cáncer incluyen APN301(hu14.18-IL2) de Apeiron Biologics AG, AV-203 de AVEO Pharmaceuticals, Inc. ("AVEO"), AVX701 y AVX901 de AlphaVax, BAX-69 de Baxter International, Inc. ("Baxter"), BAY 79-4620 y BAY 20-10112 de Bayer HealthCare AG, BHQ880 de Novartis AG, 212-Pb-TCMTrastuzumab de AREVA Med, AbGn-7 de AbGenomics International Inc, y ABIO-0501 (TALL-104) de Abiogen Pharma S.p.A.

Otros agentes terapéuticos de anticuerpos que pueden formularse con organofosfatos reductores de la viscosidad incluyen alzumab, GA101, daratumumab, siltuximab, ALX-0061, ALX-0962, ALX-0761, bimagumab (BYM338), CT-011 (pidilizumab), actoxumab/bezlotoxumab (MK-3515A), MK-3475 (pembrolizumab), dalotuzumab (MK-0646), icrucumab (IMC-18F1, LY3012212), AMG 139 (MEDI2070), SAR339658, dupilumab (REGN668), SAR156597, SAR256212, SAR279356, SAR3419, SAR153192 (REGN421, enoticumab), SAR307746 (nesvacumab), SAR650984, SAR566658, SAR391786, SAR228810, SAR252067, SGN-CD19A, SGN-CD33A, SGN-LIV1A, ASG 15ME, Anti-LINGO, BIIB037, ALXN1007, teprotumumab, concizumab, anrukinzumab (IMA-638), ponezumab (PF-04360365), PF-03446962, PF-06252616, etrolizumab (RG7413), quilizumab, ranibizumab, lampalizumab, onclacumab, gentenerumab, crenezumab (RG7412), IMCRON8 (narnatumab), tremelimumab, vanticumab, eemcizumab, ozanezumab, mapatumumab, tralokinumab, XmAb5871, XmAb7195, cixutumumab (LY3012217), LY2541546 (blosozumab), olaratumab (LY3012207), MEDI4893, MEDI573, MEDI0639, MEDI13617, MEDI4736, MEDI6469, MEDI0680, MEDI5872, PF-05236812 (AAB-003), PF-05082566, BI 1034020, RG7116, RG7356, RG7155, RG7212, RG7599, RG7636, RG7221, RG7652 (MPSK3169A), RG7686, HuMaxTFADC, MOR103, BT061, MOR208, OMP59R5 (anti-notch 213), VAY736, MOR202, BAY94-9343, LJM716, OMP52M51, GSK933776, GSK249320, GSK1070806, NN8828, CEP-37250/KHK2804 AGS-16M8F, AGS-16C3F, LY3016859, LY2495655, LY2875358, y LY2812176.

Otros mAbs en fase inicial que pueden formularse con organofosfatos reductores de la viscosidad incluyen benralizumab, MEDI-8968, anifrolumab, MEDI7183, sifalimumab, MEDI-575, tralokinumab de AstraZeneca y MedImmune; BAN2401 de Biogen Idec/Eisai Co. LTD ("Eisai")/ BioArctic Neuroscience AB; CDP7657 un fragmento de anticuerpo Fab pegilado monovalente anti-CD40L, STX-100 un mAb anti-avB6, BIIB059, Anti-TWEAK (BIIB023), y BIIB022 de Biogen; fulranumab de Janssen y Amgen; BI-204/RG7418 de BioInvent International/Genentech; BT-062 (indatumumab ravtansine) de Biotest Pharmaceuticals Corporation; XmAb de Boehringer Ingelheim/Xencor; anti-IP10 de Bristol-Myers Squibb; J 591 Lu-177 de BZL Biologies LLC; CDX-011 (glembatumumab vedotin), CDX-0401 de Celldex Therapeutics; foravirumab de Crucell; tigatuzumab de Daiichi Sankyo Company Limited; MORAb-004, MORAb-009 (amatuximab) de Eisai; LY2382770 de Eli Lilly; D117E6 de EMD Serono Inc.; zanolimumab de Emergent BioSolutions, Inc.; FG-3019 de FibroGen, Inc.; catumaxomab de Fresenius SE & Co. KGaA; pateclizumab, rontalizumab de Genentech; fresolimumab de Genzyme & Sanofi; GS-6624 (simtuzumab) de Gilead; CNTO-328, bapineuzumab (AAB-001), carlumab, CNTO-136 de Janssen; KB003 de KaloBios Pharmaceuticals, Inc.; ASKP1240 de Kyowa; RN-307 de Labrys Biologics Inc.; ecomeximab de Life Science Pharmaceuticals; LY2495655, LY2928057,

LY3015014, LY2951742 de Eli Lilly; MBL-HCV1 de MassBiologics; AME-133v de MENTRIK Biotech, LLC; abituzumab de Merck KGaA; MM-121 de Merrimack Pharmaceuticals, Inc.; MCS110, QAX576, QBX258, QGE031 de Novartis AG; HCD122 de Novartis AG y XOMA Corporation ("XOMA"); NN8555 de Novo Nordisk; bavituximab, cotara de Peregrine Pharmaceuticals, Inc.; PSMA-ADC de Progenics Pharmaceuticals, Inc.; oregovomab de Quest Pharmatech, Inc.;  
 5 fasinumab (REGN475), REGN1033, SAR231893, REGN846 de Regeneron; RG7160, CTM331, RG7745 de Roche; ibalizumab (TMB-355) de TaiMed Biologies Inc.; TCN-032 de Theraclone Sciences; TRC105 de TRACON Pharmaceuticals, Inc.; UB-421 de United Biomedical Inc.; VB4-845 de Viventia Bio, Inc.; ABT-110 de AbbVie; Caplacizumab, Ozoralizumab de Ablynx; PRO 140 de CytoDyn, Inc.; GS-CDA1, MDX-1388 de Medarex, Inc.; AMG 827, AMG 888 de Amgen; ublituximab de TG Therapeutics Inc.; TOL101 de Tolera Therapeutics, Inc.; huN901-DM1  
 10 (lorvotuzumab mertansina) de ImmunoGen Inc.; combinación de epratuzumab Y-90/veltuzumab (IMMU-102) de Immunomedics, Inc.; mAb anti-fibrina/3B6/22 Tc-99m de Agenix, Limited; ALD403 de Alder Biopharmaceuticals, Inc.; RN6G/ PF-04382923 de Pfizer; CG201 de CG Therapeutics, Inc.; KB001-A de KaloBios Pharmaceuticals/Sanofi; KRN-23 de Kyowa; Y-90 hPAM 4 de Immunomedics, Inc.; Tarextumab de Morphosys AG & OncoMed Pharmaceuticals, Inc.; LFG316 de Morphosys AG & Novartis AG; CNTO3157, CNTO6785 de Morphosys AG & Janssen; RG6013 de Roche & Chugai; MM-1 11 de Merrimack Pharmaceuticals, Inc. ("Merrimack" ); GSK2862277 de GlaxoSmithKline; AMG 282, AMG 172, AMG 595, AMG 745, AMG 761 de Amgen; BVX-20 de Biocon; CT-P19, CT-P24, CT-P25, CT-P26, CT-P27, CT-P4 de Celltrion; GSK284933, GSK2398852, GSK2618960, GSK1223249, GSK933776A de GlaxoSmithKline; anetumab ravtansine de Morphosys AG & Bayer AG; BI-836845 de Morphosys AG & Boehringer  
 20 Ingelheim; NOV-7, NOV-8 de Morphosys AG & Novartis AG; MM-302, MM-310, MM-141, MM-131, MM-151 de Merrimack, RG7882 de Roche & Seattle Genetics; RG7841 de Roche! Genentech; PF-06410293, PF-06438179, PF-06439535, PF-04605412, PF-05280586 de Pfizer; RG7716, RG7936, gentenerumab, RG7444 de Roche; MEDI-547, MEDI-565, MEDI1814, MEDI4920, MEDI8897, MEDI-4212, MEDI-5117, MEDI-7814 de Astrazeneca; ulocuplumab, PCSK9 adnectin de Bristol-Myers Squibb; FPA009, FPA145 de FivePrime Therapeutics, Inc.; GS-5745 de Gilead; BIW-8962, KHK4083, KHK6640 de Kyowa Hakko Kirin; MM-141 de Merck KGaA; REGN1 154, REGN1193, REGN1400, REGN1500, REGN1908-1909, REGN2009, REGN2176-3, REGN728 de Regeneron; SAR307746 de Sanofi; SGN-CD70A de Seattle Genetics; ALX-0141, ALX-0171 de Ablynx; milatuzumab-DOX, milatuzumab, TF2, de Immunomedics, Inc.; MLN0264 de Millennium; ABT-981 de AbbVie; AbGn-168H de AbGenomics International Inc.; ficlatuzumab de AVEO; BI-505 de BioInvent International; CDX-1127, CDX-301 de Celldex Therapeutics; CLT-008 de Cellarent Therapeutics Inc.; VGX-100 de Circadian; U3-1565 de Daiichi Sankyo Company Limited; DKN-01 de Dekkun Corp.; flanvotumab (TYRP1 protein), anticuerpo de IL-1  $\beta$ , IMC-CS4 de Eli Lilly; VEGFR3 mAb, IMC-TR1 (LY3022859) de Eli Lilly y ImClone, LLC; Anthim de Elusys Therapeutics Inc.; HuL2G7 de Galaxy Biotech LLC; IMGB853, IMG529 de ImmunoGen Inc.; CNTO-5, CNTO-5825 de Janssen; KD-247 de Kaketsuken; KB004 de KaloBios Pharmaceuticals; MGA271, MGAH22 de MacroGenics, Inc.; XmAb5574 de MorphoSys AG/Xencor; ensituximab (NPC-1C) de Neogenix Oncology, Inc.; LFA102 de Novartis AG y XOMA; ATI355 de Novartis AG; SAN-300 de Santarus Inc.; SelG1 de Selexys; HuM195/rGel de Targa Therapeutics, Corp.; VX15 de Teva Pharmaceuticals, Industries Ltd. ("Teva") y Vaccinex Inc.; TCN-202 de Theraclone Sciences; XmAb2513, XmAb5872 de Xencor; XOMA 3AB de XOMA y National Institute for Allergy and Infectious Diseases; vacuna de anticuerpos para neuroblastoma de MabVax Therapeutics; Cytolin de CytoDyn, Inc.; Thravixa de Emergent BioSolutions Inc.; y FB 301 de Cytovance Biologies; mAb de rabia de Janssen y Sanofi; mAb de gripe de Janssen y fundada parcialmente por National Institutes of Health; MB-003 y ZMapp de Mapp Biopharmaceutical, Inc.; y ZMAb de Defyrus Inc.

Otros agentes terapéuticos de proteínas

45 Las formulaciones de la invención comprenden una proteína que es un anticuerpo. También pueden comprender una proteína que puede ser una enzima, una proteína de fusión, una proteína sigilosa o pegilada, una vacuna u otra proteína biológicamente activa (o mezcla de proteínas). El término "enzima", como se usa en la presente, se refiere a la proteína o fragmento funcional de la misma que cataliza una transformación bioquímica de una molécula objetivo en un producto deseado.

50 Las enzimas como fármacos tienen por lo menos dos características importantes, concretamente: i) a menudo se unen y actúan sobre sus objetivos con gran afinidad y especificidad, y ii) son catalíticas y convierten múltiples moléculas objetivo en los productos deseados. En ciertas realizaciones, la proteína puede estar PEGilada, como se define en la presente.

55 El término "proteína de fusión", como se usa en la presente, se refiere a una proteína creada a partir de dos genes diferentes que codifican para dos proteínas distintas. Las proteínas de fusión se producen generalmente mediante técnicas de ADN recombinante conocidas por los expertos en la técnica. Dos proteínas (o fragmentos de proteínas) se fusionan entre sí covalentemente y presentan propiedades de ambas proteínas parentales.

60 En el mercado hay varias proteínas de fusión.

El ENBREL® (Etanercept), es una proteína de fusión comercializada por Amgen que inhibe competitivamente el TNF.

65 El ELOCTATE®, factor antihemofílico (recombinante), proteína de fusión Fc, es un derivado de ADN

recombinante, factor antihemofílico indicado en adultos y niños con Hemofilia A (deficiencia congénita de Factor VIII) para el control y prevención de episodios hemorrágicos, gestión perioperatoria, profilaxis rutinaria para prevenir o reducir la frecuencia de episodios hemorrágicos.

5 El EYLEA® (afibercept) es una proteína de fusión recombinante formada por porciones de los dominios extracelulares 1 y 2 de los receptores VEGF humanos fusionados con la porción Fc de IgG1 humana formulada como solución iso-osmótica para administración intravítrea. El EYLEA (afibercept) es una proteína de fusión recombinante formada por porciones de los dominios extracelulares 1 y 2 de los receptores VEGF humanos fusionados con la porción Fc de IgG1 humana formulada como solución iso-osmótica para administración intravítrea. El afibercept es una glicoproteína dimérica con un peso molecular proteico de 97 kilodaltons (kDa) y contiene glicosilación, que constituye un 15% adicional de la masa molecular total, lo que da como resultado un peso molecular total de 115 kDa. El afibercept se produce en células recombinantes de ovario de hámster chino (CHO), comercializadas por Regeneron.

15 El ALPROLIX™, Factor IX de coagulación (recombinante), proteína de fusión Fc, es un concentrado de Factor IX de coagulación derivado de ADN recombinante, está indicado en adultos y niños con hemofilia B para el control y prevención de episodios hemorrágicos, gestión perioperatoria, profilaxis rutinaria para prevenir o reducir la frecuencia de episodios hemorrágicos.

20 La pegloticasa (KRYSTEXXA®) es un fármaco para el tratamiento de la gota crónica grave refractaria al tratamiento, desarrollado por Savient Pharmaceuticals, Inc. y es el primer fármaco aprobado para esta indicación. La pegloticasa es una uricasa recombinante pegilada similar a la porcina con un peso molecular de aproximadamente 497 kDa. Actualmente, la pegloticasa se administra actualmente mediante infusiones intravenosas de aproximadamente 8 mg/kg. Las formulaciones líquidas de alto peso molecular y baja viscosidad pueden incluir pegloticasa, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 300 mg/ml a aproximadamente 800 mg/ml.

25 La alteplasa (ACTIVASE®) es un activador tisular del plasminógeno producido mediante tecnología de ADN recombinante. Es una glicoproteína purificada que comprende 527 aminoácidos y se sintetiza usando el ADN complementario (ADNc) del activador tisular del plasminógeno humano natural obtenido de una línea celular de melanoma humano. La alteplasa se administra mediante infusión IV de aproximadamente 100 mg inmediatamente después de los síntomas de un ataque cerebral. En algunas realizaciones, se proporcionan formulaciones de baja viscosidad que contienen alteplasa, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 100 mg/ml.

35 La glucarpidasa (VORAXAZE®) es un fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de niveles elevados de metotrexato (definidos como por lo menos 1 micromol/l) durante el tratamiento de pacientes con cáncer que tienen alterada la función renal. La glucarpidasa se administra por vía IV en una dosis única de aproximadamente 50 UI/kg. En algunas realizaciones, se proporcionan formulaciones de baja viscosidad que contienen glucarpidasa.

40 La alglucosidasa alfa (LUMIZYME®) es un fármaco huérfano de terapia de sustitución enzimática para el tratamiento de la enfermedad de Pompe (enfermedad por almacenamiento de glucógeno de tipo II), un trastorno raro de almacenamiento lisosómico. Tiene un peso molecular de aproximadamente 106 kDa y actualmente se administra mediante infusiones intravenosas de aproximadamente 20 mg/kg. En algunas realizaciones, se proporciona una formulación farmacéutica de baja viscosidad de alglucosidasa alfa, preferiblemente con una concentración de aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 2.000 mg/ml.

45 La pegdamasa bovina (ADAGEN®) es una enzima modificada usada para la terapia de reemplazo enzimático para el tratamiento de la enfermedad de inmunodeficiencia combinada severa (SCID) asociada con una deficiencia de adenosina deaminasa. La pegdamasa bovina es un conjugado de numerosas cadenas de monometoxipoliétilenglicol (PEG), con un peso molecular de 5.000 Da, unido covalentemente a la enzima adenosina deaminasa derivada del intestino bovino.

50 La  $\alpha$ -galactosidasa es una enzima lisosomal que cataliza la hidrólisis del glicolípido globotriaosilceramida (GL-3) en galactosa y ceramida dihexósida. La enfermedad de Fabry es una enfermedad hereditaria rara de almacenamiento lisosómico caracterizada por una actividad enzimática subnormal de la  $\alpha$ -Galactosidasa y la consiguiente acumulación de GL-3. La agalsidasa alfa (REPLAGAL®) es una enzima  $\alpha$ -galactosidasa A humana producida por una línea celular humana. La agalsidasa beta (FABRAZYME®) es una  $\alpha$ -galactosidasa humana recombinante expresada en una línea celular CHO. El Replagal se administra a una dosis de 0,2 mg/kg cada dos semanas mediante infusión IV para el tratamiento de la enfermedad de Fabry y, fuera de indicación, para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher. El FABRAZYME® se administra a una dosis de 1,0 mg/kg de peso corporal cada dos semanas mediante perfusión IV. También pueden usarse otras enzimas lisosomales. Por ejemplo, la proteína puede ser una enzima lisosomal como la descrita en la US 2012/0148556.

65 La Rasburicasa (ELITEK®) es una urato-oxidasa recombinante indicada para el control inicial de los niveles plasmáticos de ácido úrico en pacientes pediátricos y adultos con leucemia, linfoma y tumores sólidos malignos que reciben una terapia anticancerígena que se espera produzca la lisis del tumor y la consiguiente elevación del ácido úrico plasmático. El ELITEK® se administra mediante perfusión intravenosa diaria a una dosis de 0,2 mg/kg.

La imiglucerasa (CEREZYME®) es un análogo recombinante de la β-glucocerebrosidasa humana. Las dosificaciones iniciales varían de 2,5 U/kg de peso corporal 3 veces por semana y 60 U/kg una vez cada 2 semanas. El CEREZYME® se administra mediante perfusión intravenosa.

El abraxano, albúmina conjugada con paclitaxel, está aprobado para el cáncer de mama metastásico, el cáncer de pulmón de células no pequeñas y el cáncer de páncreas en fase avanzada.

La taliglucerasa alfa (ELEYSO®) es una enzima hidrolítica lisosomal específica del glucocerebrósido indicada para el tratamiento enzimático sustitutivo a largo plazo de la enfermedad de Gaucher de tipo 1. La dosis recomendada es de 60 U/kg de peso corporal administrada una vez cada 2 semanas mediante perfusión intravenosa.

La laronidasa (ALDURAZYME®) es una variante polimórfica de la enzima humana α-L-iduronidasa que se produce a través de la línea celular CHO. El régimen de dosificación recomendado de ALDURAZYME® es de 0,58 mg/kg administrados una vez a la semana como infusión IV.

La elosufasa alfa (VIMIZIM®) es una N-acetilgalactosamina-6-sulfatasa humana producida por la línea celular de CHO por BioMarin Pharmaceuticals Inc ("BioMarin"). Fue aprobada por la FDA el 14 de febrero de 2014 para el tratamiento de la mucopolisacaridosis tipo IVA. Se administra semanalmente mediante infusión intravenosa a una dosificación de 2 mg/kg.

Otros productos biológicos que pueden formularse con organofosforados reductores de la viscosidad son la asparaginasa de erwinia chrysanthemi (ERWINAZE®), la incobotulinumtoxina A (XEOMIN®), EPOGEN® (epoetina Alfa), PROCRI® (epoetina Alfa), ARANESP® (darbepoetina Alfa), ORENCIA® (abatacept), BATASERON® (interferón beta-1b), NAGLAZYME® (galsulfasa); ELAPRASE® (idursulfasa); MIOZIMA® (LUMIZYME®, alglucosidasa alfa); VPRIV® (velaglucerasa), abobotulinumtoxina A (DYSPORE®); BAX-326, Octocog alfa de Baxter; Syncria de GlaxoSmithKline; liprotamasa de Eli Lilly; Xiaflex (colagenasa clostridium histolyticum) de Auxilium and BioSpecifics Technologies Corp.; anakinra de Swedish Orphan Biovitrum AB; metreleptina de Bristol-Myers Squibb; Avonex, Pegridy (BUB017) de Biogen; NN1841, NN7008 de Novo Nordisk; KRN321 (darbepoetina alfa), AMG531 (romiplostim), KRN125 (pegfilgrastim), KW-0761 (mogamulizumab) de Kyowa; IB 1001 de Inspiration Biopharmaceuticals; lprivask de Canyon Pharmaceuticals Group.

Agentes terapéuticos proteicos en desarrollo

La VRS-317 de Versartis, Inc. es una proteína de fusión de la hormona de crecimiento humano (hGH) recombinante que utiliza la tecnología de prolongación de la vida media XTEN. Su objetivo es reducir la frecuencia de las inyecciones de hGH necesarias para los pacientes con deficiencia de hGH. La VRS-317 ha completado un estudio de fase II, comparando su eficacia con inyecciones diarias de hGH no derivatizada, con resultados positivos. Está planeado realizar estudios de fase III.

La vibrolisina es una enzima proteolítica secretada por el microorganismo marino Gram negativo *Vibrio proteolyticus*. Esta endoproteasa tiene afinidad específica por las regiones hidrófobas de las proteínas y es capaz de escindir las proteínas adyacentes a los aminoácidos hidrófobos. Biomarin está investigando actualmente la vibrolisina para la limpieza y/o el tratamiento de quemaduras. Las formulaciones de vibrolisina se describen en la patente WO 02/092014.

La PEG-PAL (fenilalanina amoniaco liasa recombinante PEGilada o "PAL") es una terapia de sustitución enzimática en investigación para el tratamiento de la fenilketonuria (PKU), una enfermedad metabólica hereditaria provocada por una deficiencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa (PAH). La PEG-PAL está siendo desarrollada como tratamiento potencial para pacientes cuyos niveles de fenilalanina (Phe) en sangre no se controlan adecuadamente con KUVAN®. La PEG-PAL se encuentra actualmente en fase 2 de desarrollo clínico para el tratamiento de pacientes que no responden adecuadamente a KUVAN®.

Otras proteínas terapéuticas que pueden formularse con organofosforados reductores de la viscosidad son Alprolix rFIXFc, Eloctate/ rFVIIIc, BMN-190; BMN-250; Lamazima; Galazima; ZA-011; Sebelipasa alfa; SBC-103; y HGT-1110. Además, las proteínas de fusión que contienen la tecnología de extensión de la vida media XTEN, incluyendo, pero no limitado a: VRS-317 GH-XTEN; Factor VIIa, Factor VIII, Factor IX; PF05280602, VRS-859; Exenatide-XTEN; AMX-256; GLP2-2G/XTEN; y AMX-179 Folate-XTEN-DM1 pueden formularse con organofosforados reductores de la viscosidad.

Otros productos proteicos terapéuticos en fase avanzada que pueden formularse con organofosforados reductores de la viscosidad son CM-AT de CureMark LLC; NN7999, NN7088, Liraglutida (NN8022), NN9211, Semaglutida (NN9535) de Novo Nordisk; AMG 386, Filgrastim de Amgen; CSL-654, Factor VIII de CSL Behring; LA-EP2006 (pegfilgrastim biosimilar) de Novartis AG; Multikine (interleucina leucocitaria) de CEL-SCI Corporation; LY2605541, teriparatida (PTH 1-34 recombinante) de Eli Lilly; NU-100 de Nuron Biotech, Inc.; calaspargasa pegol de

Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.; ADI-PEG-20 de Polaris Pharmaceuticals, Inc.; BMN-110, BMN-702 de BioMarin; NGR-TNF de Molmed S.p.A.; inhibidor de la Cl esterasa humana recombinante de Pharming Group/Santarus Inc.; Somatropina biosimilar de LG Life Sciences LTD; Natpara de NPS Pharmaceuticals, Inc; ART123 de Asahi Kasei Corporation; BAX-111 de Baxter; OBI-1 de Inspiration Biopharmaceuticals; Wilate de Octapharma AG; Talactoferrina alfa de Agennix AG; Desmoteplasa de Lundbeck; Cinryze de Shire; RG7421 y Roche y Exelixis, Inc. Midostaurin (PKC412) de Novartis AG; Damoctocog alfa pegol, BAY 86-6150, BAY 94-9027 de Bayer AG; Peginterferon lambda-1a, Nulojix (Belatacept) de Bristol-Myers Squibb; Pergoveris, Corifollitropin alfa (MK-8962) de Merck KGaA; proteína recombinante de fusión Fc del Factor IX de la coagulación (rFIXFc; BILB029) y proteína recombinante de fusión Fc del Factor VIII de la coagulación (rFVIIIc; BILB031) de Biogen; y Myalept de AstraZeneca.

Otros productos biológicos proteicos en fase inicial que pueden formularse con organofosfatos reductores de la viscosidad incluyen Alferon LDO de Hcmispherx BioPharma, Inc.; SL-401 de Stemline Therapeutics, Inc.; PRX-102 de Protalix Biotherapeutics, Inc. KTP-001 de Kaketsuken/Teijin Pharma Limited; Vericiguat de Bayer AG; BMN-111 de BioMarin; ACC-001 (PF-05236806) de Janssen; LY2510924, LY2944876 de Eli Lilly; NN9924 de Novo Nordisk; péptido INGAP de Exsulin; ABT-122 de Abbvie; AZD9412 de AstraZeneca; NEUBLASTIN (BG00010) de Biogen; Luspatercept (ACE-536), Sotatercept (ACE-011) de Celgene Corporation; PRAME inmunoterapéutico de GlaxoSmithKline; acetato de plovámero (PI-2301) de Merck KGaA; PREMIPLEX (607) de Shire; BMN-701 de BioMarin; Ontak de Eisai; rHuPH20/insulina de Halozyme, Inc. PB-1023 de PhaseBio Pharmaceuticals, Inc.; ALV-003 de Alvine Pharmaceuticals Inc. y Abbvie; NN8717 de Novo Nordisk; PRT-201 de Proteon Therapeutics Inc.; PEGPH20 de Halozyme, Inc.; Amevive® alefacept de Astellas Pharma Inc; F-627 de Regeneron; AGN-214868 (senrebotasa) de Allergan, Inc; BAX-817 de Baxter; PRT4445 de Portola Pharmaceuticals, Inc; VEN100 de Ventria Bioscience; Onconasa/ranpipasa de Tamir Biotechnology Inc.; interferón alfa-2b de Medtronic, Inc; sebelipasa alfa de Synageva BioPharma; IRX-2 de IRX Therapeutics, Inc; GSK2586881 de GlaxoSmithKline; SI-6603 de Seikagaku Corporation; ALXN1101, asfotasa alfa de Alexion; SHP611, SHP609 (Elaprasa, idursulfasa) de Shire; PF-04856884, PF-05280602 de Pfizer; ACE-031, Dalantercept de Acceleron Pharma; ALT-801 de Altor BioScience Corp. BA-210 de BioAxone Biosciences, Inc; inmunoterapéutico WT1 de GlaxoSmithKline; GZ402666 de Sanofi; MSB0010445, Atacicept de Merck KGaA; Leukine (sargramostim) de Bayer AG; KUR-211 de Baxter; factor de crecimiento de fibroblastos-1 de CardioVascular BioTherapeutics Inc; SPI-2012 de Hanmi Pharmaceuticals Co, LTD /Spectrum Pharmaceuticals; FGF-18 (sprifermin) de Merck KGaA; MK-1293 de Merck; interferón-alfa-2b de HanAll Biopharma; CYT107 de Cytheris SA; RT001 de Revance Therapeutics, Inc.; MEDI6012 de AstraZeneca; E2609 de Biogen; BMN-190, BMN-270 de BioMarin; ACE-661 de Acceleron Pharma; AMG 876 de Amgen; GSK3052230 de GlaxoSmithKline; RG7813 de Roche; SAR342434, Lantus de Sanofi; AZ01 de Allozyne Inc.; ARX424 de Ambrx, Inc; FP-1040, FP-1039 de FivePrime Therapeutics, Inc; ATX-MS-1467 de Merck KGaA; proteínas de fusión XTEN de Amunix Operating Inc; entolimod (CBLB502) de Cleveland BioLabs, Inc; HGT2310 de Shire; HM10760A de Hanmi Pharmaceuticals Co, LTD; ALXN11021 ALXN1103 de Alexion; CSL-689, CSL-627 de CSL Behring; factor de crecimiento glial 2 de Acorda Therapeutics, Inc.; NX001 de Nephrex Corporation; NN8640, NN1436, NN1953, NN9926, NN9927, NN9928 de Novo Nordisk; NHS-IL 12 de EMD Serono; 3K3A-APC de ZZ Biotech LLC; PB-1046 de PhaseBio Pharmaceuticals, Inc.; RU-101 de R-Tech Ueno, Ltd.; insulina lispro/BC106 de Adocia; hl-con1 de Iconic Therapeutics, Inc.; PRT-105 de Protalix BioTherapeutics, Inc.; PF-04856883, CVX-096 de Pfizer; ACP-501 de AlphaCore Pharma LLC; BAX-855 de Baxter; CDX-1135 de Celldex Therapeutics; PRM-151 de Promedior, Inc.; TS01 de Thrombolytic Science International; TT-173 de Thrombotargets Corp; QBI-139 de Quintessence Biosciences, Inc; Vatelizumab, GBR500, GBR600, GBR830 y GBR900 de Glenmark Pharmaceuticals; y CYT-6091 de Cytimmune Sciences, Inc.

Otros agentes biológicos

Otros fármacos biológicos que pueden formularse con organofosforados reductores de la viscosidad incluyen PF-05285401, PF-05231023, RN317 (PF-05335810), PF-06263507, PF-05230907, Dekavil, PF-06342674, PF06252616, RG7598, RG7842, RG7624d, OMP54F28, GSK1995057, BAY1179470, IMC-3G3, IMC-18F1, IMC-35C, IMC-20D7S, PF-06480605, PF-06647263, PF-06650808, PF-05335810 (RN317) PD-0360324, PF-00547659 de Pfizer; MK-8237 de Merck; BI033 de Biogen; GZ402665, SAR4385841 REGN2222 de Sanofi; IMC-18F1; e lcrucumab, IMC-3G3 de ImClone LLC; Ryzodeg, Tresiba, Xultophy de Novo Nordisk; Toujeo (U300), LixiLan, Lyxumia (lixisenatida) de Sanofi; inmunoterapéutico MAGE-A3 de GlaxoSmithKline; Tecemotida de Merck KGaA; Sereleaxina (RLX030) de Novartis AG; eritropoyetina; Pegfilgrastim; LY2963016, Dulaglutida (LY2182965) de Eli Lilly; e insulina Glargina de Boehringer Ingelheim.

**B. Organofosfatos**

La viscosidad de las formulaciones proteicas líquidas, incluyendo las proteínas de bajo y/o alto peso molecular, se reduce mediante la adición de uno o más organofosfatos. En algunos casos, las formulaciones farmacéuticas se convierten de fluidos no newtonianos a newtonianos mediante la adición de una cantidad eficaz de uno o más organofosfatos. Un "organofosfato" de la presente es un compuesto que contiene uno o más grupos fosforilo, por lo menos uno de los cuales está conectado covalentemente a un grupo orgánico mediante un enlace fosfoéster. Las formulaciones de la invención comprenden un organofosfato que es tiamina pirofosfato 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (TPP-APMI). Las formulaciones pueden comprender además un organofosfato que puede ser un monoéster de un ácido fosfórico o un ácido polifosfórico. El organofosfato adicional puede ser un diéster

de un ácido fosfórico o ácido polifosfórico. El organofosfato puede ser una sal o un zwitterión. El término "zwitterión" se usa en la presente para describir una molécula química con carga neutra global que lleva cargas formales positivas y negativas en diferentes grupos químicos de la molécula.

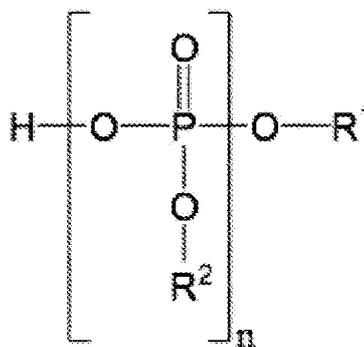
5 El organofosfato adicional puede ser una sal o un zwitterión. El término "zwitterión" se usa en la presente para describir una molécula química con carga neutra global que lleva cargas formales positivas y negativas en diferentes grupos químicos de la molécula. Cuando el organofosfato adicional está en forma de sal, el contraión puede ser un metal alcalino o alcalinotérreo como sodio, calcio, litio, potasio y similares. En otras realizaciones, el contraión puede ser un compuesto que contenga nitrógeno, incluyendo compuestos que contienen nitrógeno que tienen grupos metileno y/o metileno secuenciales, benceno, naftaleno, alcanfor, adamantano, tolueno, quinona, antraceno, fenantreno, piridina, pirazina, piperazina, pirrolidina, piperidina, imidazol, pirazol, oxazol, tiofeno, benzimidazol o análogos sustituidos de los mismos. Los compuestos que contienen nitrógeno ejemplares incluyen, entre otros, L-lisina, L-arginina, L-histidina, pentano-1,5- y hexano-1,6-diamina, adamantilamina, 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol, aminometilpirrolidina, dimetilaminopropilpiperazina, aminoetilpiperidina, aminoetilpiperazina y etanolamina.

Aunque en general cualquier organofosfato puede reducir la viscosidad de una formulación proteica, en algunas realizaciones el organofosfato reductor de la viscosidad adicional es un nucleótido o un derivado nucleotídico o contiene un nucleótido o un derivado nucleotídico. El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser un nucleótido monofosfato, un nucleótido difosfato, un nucleótido trifosfato o un derivado de los mismos. El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser un nucleósido monofosfato, un nucleósido difosfato, un nucleósido trifosfato o un derivado de los mismos. El organofosfato reductor de viscosidad adicional puede contener una nucleobase o un derivado de la misma. En algunas realizaciones, el organofosfato reductor de la viscosidad adicional es un conjugado de una nucleobase y un grupo fosforilo; un conjugado de un azúcar y un grupo fosforilo; o un conjugado de una nucleobase, un azúcar y un grupo fosforilo. El azúcar puede ser un azúcar de 5 carbonos, un azúcar de 6 carbonos o un azúcar de 7 carbonos, opcionalmente que tiene uno o más sustituyentes. La nucleobase puede ser purina, adenina, guanina, hipoxantina, xantina, 7-metilguanina, pirimidina, timina, citosina, uracilo, 5,6-dihidouracilo, 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina o un derivado de los mismos. El nucleósido puede ser adenosina, guanosina, 5-metiluridina, uridina, citidina, desoxiadenosina, desoxiguanosina, timidina, desoxiuridina, desoxicitidina o un derivado de los mismos. El nucleótido puede ser un monofosfato, difosfato o trifosfato de cualquiera de los nucleósidos descritos anteriormente.

El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede tener una estructura de acuerdo con la Fórmula I en la que X es un fosfato, preferiblemente un difosfato o un trifosfato; Y es ninguno o un azúcar, preferiblemente ribosa, desoxirribosa o un derivado de las mismas; y Z es una nucleobase, preferiblemente una de las descritas anteriormente o un derivado de las mismas.

X-Y-Z **Fórmula I**

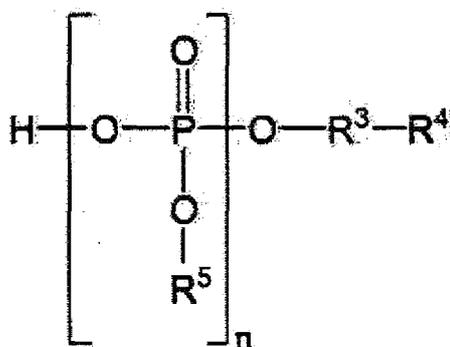
40 El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede tener una estructura de acuerdo con la Fórmula II, en donde n es un número entero de 1 a 20, de 1 a 10, de 2 a 10, o de 2 a 6; en donde R<sup>1</sup> es un grupo orgánico que tiene de 3 a 50 átomos de carbono, de 5 a 30 átomos de carbono, o de 7 a 20 átomos de carbono, preferiblemente R<sup>1</sup> es una nucleobase, un nucleósido, o un derivado de los mismos; y en donde cada aparición de R<sup>2</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en ninguno, hidrógeno, grupos catiónicos monovalentes, y grupos orgánicos que tienen de 1 a 50 átomos de carbono, de 1 a 30 átomos de carbono, de 3 a 30 átomos de carbono, o de 7 a 20 átomos de carbono. Los grupos catiónicos monovalentes incluyen los grupos potasio, sodio, litio, amonio y alquil amonio. R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, siempre que R<sup>2</sup> sea un grupo orgánico, puede ser un carbociclo o heterociclo sustituido o no sustituido que tenga de 3 a 50 átomos de carbono, de 5 a 30 átomos de carbono, o de 7 a 20 átomos de carbono. R<sup>1</sup> puede ser un nucleósido como uno de los descritos anteriormente o un derivado de los mismos.



**Formula II**

El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede tener una estructura de acuerdo con la Fórmula III en donde n es un número entero de 1 a 20, de 1 a 10, de 2 a 10, o de 2 a 6; en donde R<sup>3</sup> no es ninguno o es un azúcar, preferiblemente un monosacárido o disacárido, que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, de 1 a 20 átomos de carbono, o de 4 a 20 átomos de carbono; en donde R<sup>4</sup> es un grupo cíclico voluminoso que puede estar sustituido o no sustituido, preferiblemente un carbociclo o heterociclo sustituido o no sustituido que tiene de 3 a 50 átomos de carbono, de 5 a 30 átomos de carbono o de 7 a 20 átomos de carbono; y en donde cada aparición de R<sup>5</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en ninguno, hidrógeno, grupos catiónicos monovalentes y grupos orgánicos que tienen de 1 a 50 átomos de carbono, de 1 a 30 átomos de carbono, de 3 a 30 átomos de carbono o de 7 a 20 átomos de carbono. R<sup>3</sup> puede ser desoxirribosa, fructosa, galactosa, gentiobiulosa, gentiobiosa, glucosa, kestosa, isomaltosa, isomaltotriosa, kojibiosa, laminaribiosa, maltosa, maltulosa, maltotriosa, maltotriulosa, mannobiosa, manosa, melibiosa, melibiulosa, nigerosa, nigerotriosa, rafinosa, ribosa, rutinosa, rutinulosa, soforosa, trehalosa, β,β-trehalosa, α,β-trehalosa o turanosa, que opcionalmente contienen uno o más sustituyentes. En ciertas realizaciones, los sustituyentes R<sup>3</sup> y R<sup>5</sup> pueden formar juntos un anillo, por ejemplo, como los que se encuentran en el monofosfato de adenosina cíclico.

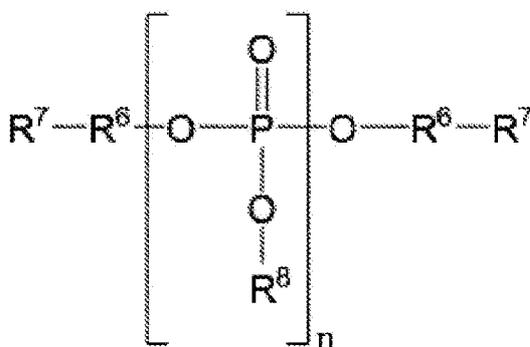
R<sup>4</sup> puede ser un heterociclo que contiene nitrógeno. Los heterociclos que contienen nitrógeno pueden ser saturados o insaturados. Los heterociclos que contienen nitrógeno pueden incluir pirrolidina, pirrol, imidazolidina, pirazolidina, imidazol, pirazol, oxazolidina, isoxazolidina, oxazol, isoxazol, piperidina, tetrahidropiridina, dihidropiridina, piridina, pirimidina, piperazina, estructuras de anillos policíclicos y fusionados, sustituidos y no sustituidos, y derivados de los mismos. R<sup>4</sup> puede ser un grupo cíclico voluminoso. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir carbociclos y heterociclos de 5 miembros como ciclopentano, ciclopenteno, ciclopentadieno, pirrolidina, pirrol, imidazolidina, pirazolidina, imidazol, pirazol, oxazolidina, isoxazolidina, oxazol, isoxazol, tetrahidrofurano, furano, dioxolano, tiolano, tiofeno, ditiolano, tiazol, isotiazol, fosfol, silol, triazol, oxadiazol y derivados de los mismos. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir carbociclos y heterociclos de 6 miembros como ciclohexano, ciclohexeno, ciclohexa-1,3-dieno, ciclohexa-1,4-dieno, benceno, piperidina, tetrahidropiridina, dihidropiridina, piridina, oxano, pirano, piperazina, pirazina, pirimidina, piridazina, morfolina, 1,3,5-triazina y derivados de los mismos. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir carbociclos y heterociclos de 7 miembros como cicloheptano, ciclohepteno, azepano, azepina, tiepina, diazepina, tiazepina y derivados de los mismos. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir compuestos policíclicos como estructuras de anillo policíclicas y fusionadas de cualquiera de los carbociclos y heterociclos anteriores como naftaleno, antraceno, tetraceno, acridina, dibenzotiofeno, carbazol, dibenzofurano, decalina, carbociclos puenteados y heterociclos como norbornano, adamantano, y compuestos espirocíclicos como espiro[2.2]pentano.



**Formula III**

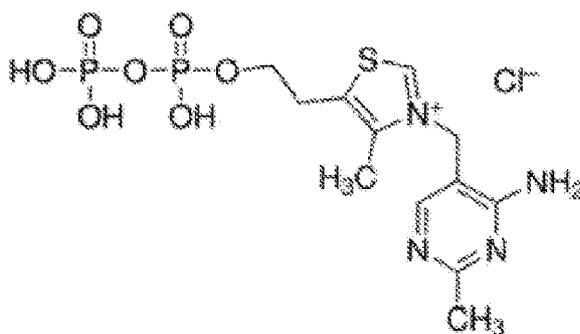
El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser un fosfato dinucleótido. El organofosfato reductor de la viscosidad puede tener una estructura de acuerdo con la Fórmula IV, en la que n es un número entero de 1 a 20, de 1 a 10, de 2 a 10, o de 2 a 6; en donde cada aparición de R<sup>6</sup> se selecciona independientemente de ninguna o un azúcar, preferiblemente un monosacárido o disacárido, que tiene de 1 a 30 átomos de carbono, de 1 a 20 átomos de carbono, o de 4 a 20 átomos de carbono; en donde cada aparición de R<sup>7</sup> es independientemente un grupo cíclico voluminoso que puede estar sustituido o no sustituido, preferiblemente un carbociclo o heterociclo sustituido o no sustituido que tiene de 3 a 50 átomos de carbono, de 5 a 30 átomos de carbono, o de 7 a 20 átomos de carbono; y en donde cada aparición de R<sup>8</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en ninguno, hidrógeno, grupos catiónicos monovalentes, y grupos orgánicos que tienen de 1 a 50 átomos de carbono, de 1 a 30 átomos de carbono, de 3 a 30 átomos de carbono, o de 7 a 20 átomos de carbono. Cada R<sup>6</sup> puede ser independientemente desoxirribosa, fructosa, galactosa, gentiobiulosa, gentiobiosa, glucosa, kestosa, isomaltosa, isomaltotriosa, kojibiosa, laminaribiosa, maltosa, maltulosa, maltotriosa, maltotriulosa, mannobiosa, manosa, melibiosa, melibiulosa, nigerosa, nigerotriosa, rafinosa, ribosa, rutinosa, rutinulosa, soforosa, trehalosa, β,β-trehalosa, α,β-trehalosa o turanosa, opcionalmente que contiene uno o más sustituyentes. Cada R<sup>7</sup> puede ser independientemente un heterociclo que contenga nitrógeno. Los heterociclos que contienen nitrógeno pueden ser

saturados o insaturados. Los heterociclos que contienen nitrógeno pueden incluir pirrolidina, pirrol, imidazolidina, pirazolidina, imidazol, pirazol, oxazolidina, isoxazolidina, oxazol, isoxazol, piperidina, tetrahidropiridina, dihidropiridina, piridina, pirimidina, piperazina, estructuras de anillo policíclicas y fusionadas de los mismos, sustituidos y no sustituidos, y derivados de los mismos. Cada R<sup>7</sup> puede ser independientemente un grupo cíclico voluminoso. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir carbociclos y heterociclos de 5 miembros como ciclopentano, ciclopenteno, ciclopentadieno, pirrolidina, pirrol, imidazolidina, pirazolidina, imidazol, pirazol, oxazolidina, isoxazolidina, oxazol, isoxazol, tetrahidrofurano, furano, dioxolano, tiolano, tiofeno, ditiolano, tiazol, isotiazol, fosfol, silol, triazol, oxadiazol y derivados de los mismos. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir carbociclos y heterociclos de 6 miembros como ciclohexano, ciclohexeno, ciclohexa-1,3-dieno, ciclohexa-1,4-dieno, benceno, piperidina, tetrahidropiridina, dihidropiridina, piridina, oxano, pirano, piperazina, pirazina, pirimidina, piridazina, morfolina, 1,3,5-triazina y derivados de los mismos. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir carbociclos miembros y heterociclos de 7 como cicloheptano, ciclohepteno, azepano, azepina, tiepina, diazepina, tiazepina y derivados de los mismos. Los grupos cíclicos voluminosos adecuados pueden incluir compuestos policíclicos, como estructuras de anillo policíclicas y fusionadas de cualquiera de los carbociclos y heterociclos anteriores, como naftaleno, antraceno, tetraceno, acridina, dibenzotiofeno, carbazol, dibenzofurano, decalina; carbociclos y heterociclos puenteados, como norbornano, adamantano, y compuestos espirocíclicos, como espiro[2.2]pentano.



Formula IV

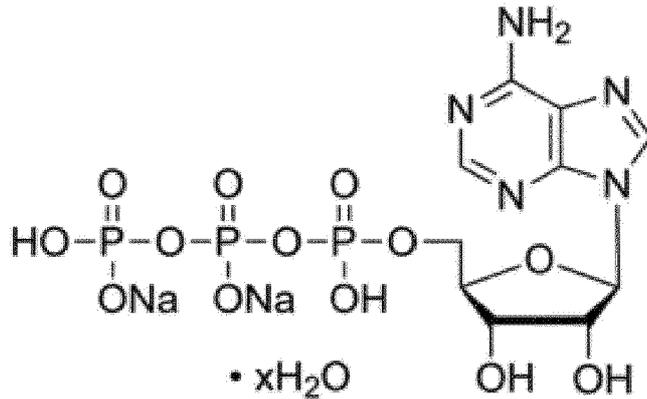
El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser pirofosfato de tiamina (TPP), cuya estructura se muestra a continuación como sal de cloruro, o un derivado del mismo. Los derivados del TPP pueden incluir la sustitución del difosfato por un fosfato diferente, como el monofosfato o el trifosfato; la sustitución del anión de cloruro por otros constituyentes aniónicos; la sustitución de uno o más sustituyentes metilo por sustituyentes alquilo o N-alquilo de orden superior; la sustitución de uno o más sustituyentes amino por grupos alquilo, aminoalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos. Los constituyentes aniónicos adecuados incluyen iones de haluro, sulfato, sulfonato, sulfito, sulfinato, fosfato, fosfonato, fosfonito, fosfonito, carbonato y aniones de carboxilato opcionalmente sustituidos con uno o más grupos alquilo, heteroalquilo, alqueno, alquino, carbocíclico o heterocíclico, preferiblemente de 1 a 20 o de 1 a 12 átomos de carbono. Los constituyentes aniónicos ejemplares incluyen cloruro, bromuro, metilfosfato, metiletilfosfato, metilsulfato, metilsulfonato, formiato, acetato, butirato, citrato y lactato y aniones hidrófobos voluminosos como ácido alcanfor sulfónico (CSA), ácido benceno sulfónico (BSA), ácido tolueno sulfónico (TSA), 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (APMI) o ácido metano sulfónico (MSA). Los derivados pueden incluir sales de adición de bases de TPP usando bases inorgánicas comunes como NaOH o bases hidrófobas ejemplares descritas anteriormente.



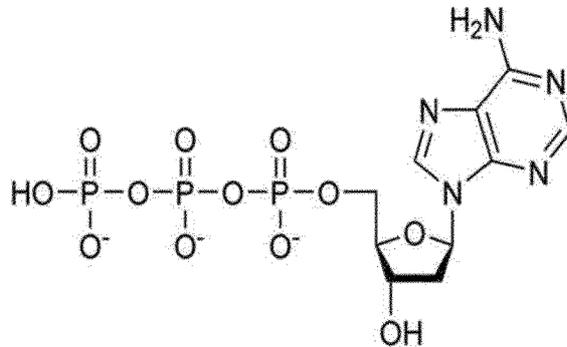
En otras realizaciones, el organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser benfotiamina o el correspondiente análogo de difosfato o trifosfato. El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser

monofosfato de fursultiamina, monofosfato de prosultiamina o monofosfato de alitiamina, así como el difosfato o trifosfato correspondiente de cualquiera de los anteriores.

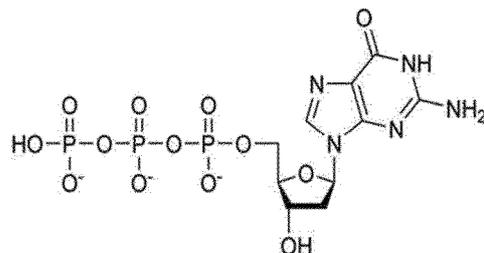
El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser trifosfato de adenosina (ATP), cuya estructura se muestra a continuación como sal sódica, o un derivado del mismo. Los derivados del ATP pueden incluir la sustitución del trifosfato por un fosfato diferente, como el monofosfato o el difosfato; la sustitución del sustituyente amino por grupos alquilo, aminoalquilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos.



El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser deoxiadenosina trifosfato (dATP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del dATP pueden incluir la sustitución del trifosfato por un fosfato diferente, como el monofosfato o el difosfato; la sustitución del sustituyente amino por grupos alquilo, aminoalquilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos.



El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser deoxiguanosina trifosfato (dGTP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del dGTP pueden incluir la sustitución del trifosfato por un fosfato diferente, como monofosfato o difosfato; la sustitución del sustituyente amino por grupos alquilo, aminoalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos.

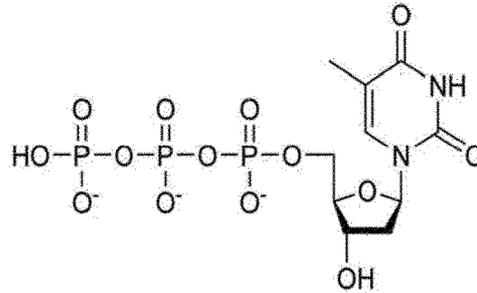


El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser desoximidina trifosfato (dTTP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del dTTP pueden incluir la sustitución del trifosfato por un fosfato diferente, como monofosfato o difosfato; la sustitución del sustituyente metilo por sustituyentes alquilo o N-alquilo de orden superior; la sustitución de uno o más sustituyentes amino por grupos alquilo, aminoalquilo,

heterociclilo, arilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acil u O-alquilo; o una combinación de los mismos.

5

10



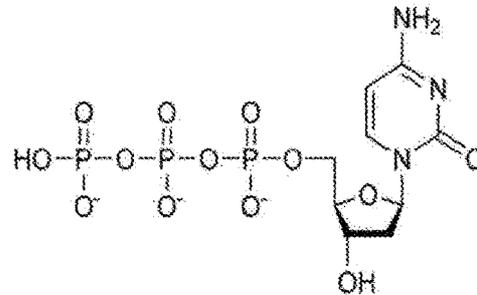
15

20

El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser deoxicitidina trifosfato (dCTP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del dCTP pueden incluir la sustitución del trifosfato por un fosfato diferente, como el monofosfato o el difosfato; la sustitución del sustituyente amino por grupos alquilo, aminoalquilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos.

25

30



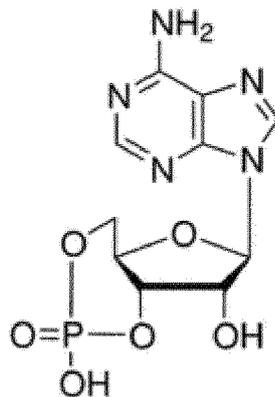
35

El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del AMPc pueden incluir la sustitución del monofosfato por un fosfato diferente, como el difosfato o el trifosfato; la sustitución del sustituyente amino por grupos alquilo, aminoalquilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución del grupo hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos.

40

45

50

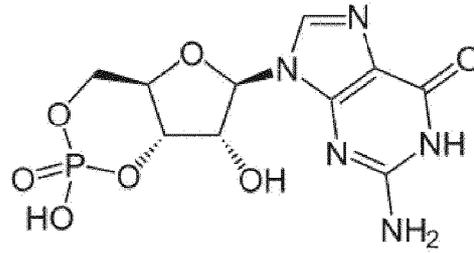


55

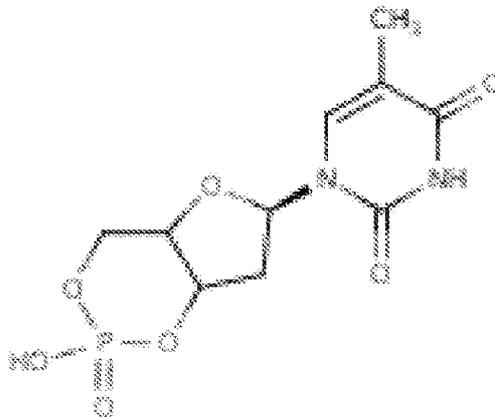
60

El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser el monofosfato de guanosina cíclico (cGMP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del cGMP pueden incluir la sustitución del monofosfonato por un fosfato diferente, como el difosfato o el trifosfato; la sustitución del sustituyente amino por grupos alquilo, aminoalquilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acil u O-alquilo; o una combinación de los mismos.

65

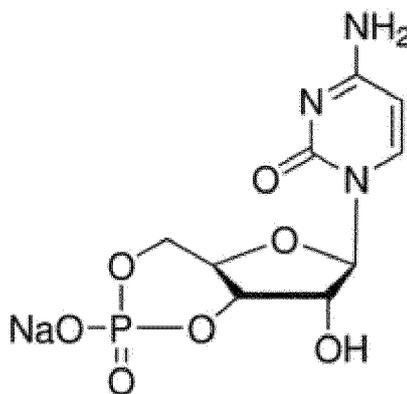


15 El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser el monofosfato de timidina cíclico (cTMP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del cTMP pueden incluir la sustitución del monofosfonato por un fosfato diferente, como el difosfato o el trifosfato; la sustitución del sustituyente metilo por sustituyentes alquilo o N-alquilo de orden superior; la sustitución de uno o más sustituyentes amino por grupos alquilo, aminoalquilo, arilo, heterociclo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acil u O-alquilo; o una combinación de los mismos.



35 El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser el monofosfato cíclico de citidina (cCMP), cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del cCMP pueden incluir la sustitución del monofosfonato por un fosfato diferente, como el difosfato o el trifosfato; la sustitución del sustituyente amino por grupos alquilo, aminoalquilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acil o O-alquilo; o una combinación de los mismos.

40



60 El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), cuya estructura se muestra a continuación como sal sódica, o un derivado del mismo. Los derivados del NADP pueden incluir la sustitución del difosfato por un fosfato diferente, como el monofosfato o el trifosfato; la sustitución del difosfonato por un fosfato diferente; la sustitución de uno o más sustituyentes amino por grupos alquilo, aminoalquilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo sustituidos o no sustituidos que tengan de 1 a 30 átomos de carbono; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos.

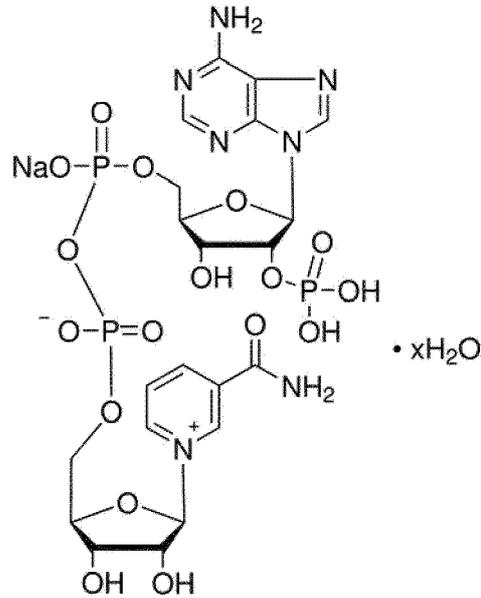
65

5

10

15

20

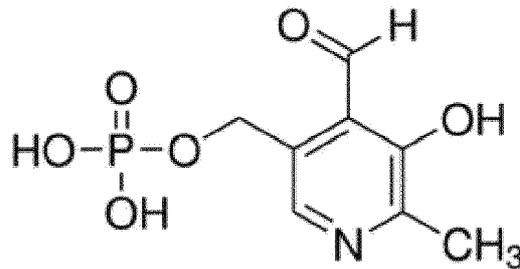


25

El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser el fosfato de piridoxal, cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del fosfato de piridoxal pueden incluir la sustitución del monofosfato por un fosfato diferente, como el difosfato o el trifosfato; la sustitución del sustituyente metilo por sustituyentes alquilo o N-alquilo de orden superior; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o una combinación de los mismos.

30

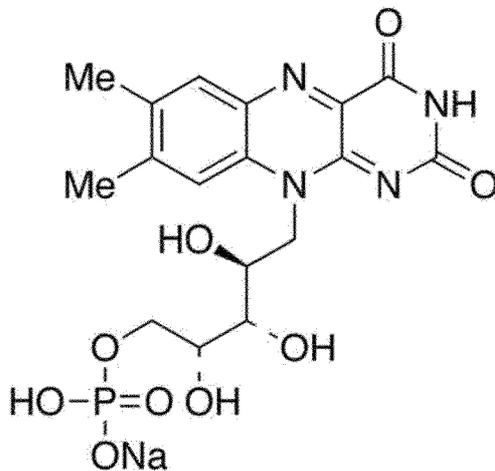
35



40

El organofosfato reductor de la viscosidad adicional puede ser riboflavina-5'-fosfato, cuya estructura se muestra a continuación, o un derivado del mismo. Los derivados del riboflavina-5'-fosfato pueden incluir la sustitución del fosfato por un fosfato diferente, como un difosfato o un trifosfato; la sustitución del contraión de sodio por otros constituyentes catiónicos; la sustitución de uno o más sustituyentes metilo por sustituyentes alquilo o N-alquilo de orden superior; la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por grupos O-acilo u O-alquilo; o combinaciones de los mismos.

45



### C. Excipientes

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

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

Las formulaciones, además de los organofosfatos reductores de la viscosidad descritos anteriormente, pueden contener uno o más excipientes reductores de la viscosidad adicionales. Los agentes de organofosfatos reductores de la viscosidad descritos en la presente pueden combinarse con uno o más de otros tipos de agentes reductores de la viscosidad, por ejemplo, los colorantes orgánicos solubles en agua descritos en la solicitud de PCT presentada conjuntamente y titulada LIQUID PROTEIN FORMULATIONS CONTAINING WATER SOLUBLE ORGANIC DYES de Arsia Therapeutics; los compuestos orgánicos polares típicamente voluminosos, como los compuestos hidrófobos, muchos de los GRAS (Lista de compuestos generalmente considerados seguros de la US Food and Drug Administration) y los ingredientes inyectables inactivos y los agentes terapéuticos aprobados por la FDA, LIQUID PROTEIN FORMULATIONS CONTAINING VISCOSITY-LOWERING AGENTS de Arsia Therapeutics; y los líquidos iónicos descritos en la solicitud de PCT presentada conjuntamente y titulada LIQUID PROTEIN FORMULATIONS CONTAINING IONIC LIQUIDS de Arsia Therapeutics.

### III. Métodos de elaboración

#### A. Preparación de proteínas

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

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

La inclusión de organofosfatos reductores de la viscosidad a concentraciones reductoras de la viscosidad como de 0,010 M a 1,0 M, preferiblemente de 0,050 M a 0,50 M, lo más preferible de 0,10 M a 0,30 M, permite purificar y/o concentrar una solución del mAb farmacéuticamente activo a concentraciones de mAb más elevadas usando métodos comunes conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo pero no limitados a filtración de flujo tangencial, concentración centrífuga y diálisis.

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

Las formulaciones descritas en la presente pueden almacenarse mediante cualquier método adecuado conocido por un experto en la técnica. Entre los ejemplos no limitativos de métodos para preparar las formulaciones proteicas para su almacenamiento se incluyen la congelación, la liofilización y el secado por pulverización de la formulación proteica líquida. En algunos casos, la formulación liofilizada se congela para su almacenamiento a temperaturas bajo cero, como a aproximadamente -80° C o en nitrógeno líquido. En algunos casos, una formulación

liofilizada o acuosa se almacena a 2-8° C.

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

#### IV. Administración a una persona con necesidad de ello

Las formulaciones proteicas de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas incluyendo, pero no limitadas a, las formulaciones reconstituidas, pueden administrarse a una persona con necesidad de ellas mediante inyección intramuscular, intraperitoneal (es decir, en una cavidad corporal), intracerebrospinal o subcutánea usando una aguja de calibre 18-32 (opcionalmente una aguja de pared delgada), en un volumen menor de aproximadamente 5 ml, menor de aproximadamente 3 ml, preferiblemente menor de aproximadamente 2 ml, los más preferible menor de aproximadamente 1 ml.

La dosificación apropiada ("cantidad terapéuticamente eficaz") de la proteína, como un mAb, dependerá de la afección que se vaya a tratar, de la gravedad y evolución de la enfermedad o afección, de si la proteína se administra con propósitos preventivos o terapéuticos, de la terapia previa, del historial clínico del paciente y de su respuesta a la proteína, del tipo de proteína usada y del criterio del médico tratante. La proteína se administra adecuadamente de una sola vez en inyecciones únicas o múltiples, o en una serie de tratamientos, como un único tratamiento o junto con otros fármacos o terapias.

Las formulaciones de dosificación están diseñadas para que las inyecciones no provoquen signos significativos de irritación en el sitio de la inyección, por ejemplo, cuando el índice de irritación primaria es menor de 3 al evaluarse mediante un sistema de puntuación de Draize. En una realización alternativa, las inyecciones provocan niveles de irritación macroscópicamente similares cuando se comparan con inyecciones de volúmenes equivalentes de solución salina. En otra realización, la biodisponibilidad de la proteína es más alta cuando se compara con la misma formulación sin el organofosfato administrada de la misma manera.

En una realización preferida, la formulación es para su uso en un método de administración de acuerdo con la reivindicación 12, en donde se inyecta para producir niveles aumentados de la proteína terapéutica. Por ejemplo, el valor de AUC puede ser por lo menos un 10%, preferiblemente por lo menos un 20%, mayor que el mismo valor calculado para la misma formulación sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad administrados de la misma manera.

El organofosfato reductor de la viscosidad también puede afectar a la biodisponibilidad. Por ejemplo, el porcentaje de biodisponibilidad de la proteína puede ser por lo menos 1,1 veces, preferiblemente por lo menos 1,2 veces el porcentaje de biodisponibilidad de la misma formulación sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad administrados de la misma manera.

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

En algunas realizaciones, las formulaciones de acuerdo con la invención son para su uso en un método en donde las proteínas se administran a una dosis más alta y una frecuencia más baja que las formulaciones de otro modo iguales sin el organofosfato u organofosfatos reductores de la viscosidad.

Las formulaciones de menor viscosidad requieren menos fuerza de inyección. Por ejemplo, la fuerza de inyección puede ser por lo menos un 10%, preferiblemente por lo menos un 20%, menor que la fuerza de inyección para por lo demás la misma formulación sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad administrada de la misma manera. En una realización, la inyección se administra con una aguja de calibre 27 y la fuerza de inyección es menor de 30 N. Las formulaciones pueden administrarse en la mayoría de los casos usando una aguja de calibre muy pequeño, por ejemplo, calibre entre 27 y 31, típicamente 27, 29 o 31.

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

La formulación de baja viscosidad puede proporcionarse como solución o en forma de unidad de dosificación donde la proteína se liofiliza en un vial, con o sin el organofosfato reductor de la viscosidad y los otros excipientes, y el solvente, con o sin el organofosfato reductor de la viscosidad y los otros excipientes, se proporciona en un segundo vial. En esta realización, el solvente se añade a la proteína poco antes o en el momento de la inyección para asegurar una mezcla y disolución uniformes.

El o los organofosfatos reductores de la viscosidad están presentes en las formulaciones en concentraciones que no provocan signos significativos de toxicidad y/o signos irreversibles de toxicidad cuando se administran por vía subcutánea, intramuscular u otros tipos de inyección. Como se usa en la presente, los "signos significativos de toxicidad" incluyen intoxicación, letargo, modificaciones del comportamiento como las que se producen con daños al sistema nervioso central, infertilidad, signos de cardiotoxicidad grave como arritmia cardíaca, cardiomiopatía, infartos de miocardio e insuficiencia cardíaca o cardíaca congestiva, insuficiencia renal, insuficiencia hepática, dificultad para respirar y muerte.

En realizaciones preferidas, las formulaciones no provocan irritación significativa cuando se administran no más de dos veces al día, una vez al día, dos veces a la semana, una vez a la semana o una vez al mes. Las formulaciones proteicas pueden administrarse sin provocar signos significativos de irritación en el lugar de la inyección, por ejemplo, un índice de irritación primaria menor de 3, menor de 2 o menor de 1 cuando se evalúa usando un sistema de puntuación de Draize. Como se usa en la presente, los "signos significativos de irritación" incluyen eritema, enrojecimiento y/o hinchazón en el lugar de la inyección con un diámetro mayor de 10 cm, mayor de 5 cm o mayor de 2,5 cm, necrosis en el sitio de la inyección, dermatitis exfoliativa en el sitio de la inyección y dolor intenso que impide la actividad diaria y/o requiere atención médica u hospitalización. En algunas realizaciones, las inyecciones de las formulaciones proteicas provocan niveles macroscópicamente similares de irritación en comparación con las inyecciones de volúmenes equivalentes de solución salina.

Las formulaciones proteicas pueden presentar una biodisponibilidad aumentada en comparación con por lo demás la misma formulación proteica sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad cuando se administran mediante inyección subcutánea o intramuscular. "Biodisponibilidad" se refiere al grado y a la velocidad a la que la especie bioactiva, por ejemplo un mAb, llega a la circulación o al lugar de acción. La biodisponibilidad global puede aumentarse en las inyecciones SC o IM en comparación con por lo demás las mismas formulaciones sin los organofosfatos reductores de la viscosidad. "Porcentaje de biodisponibilidad" se refiere a la fracción de la dosis administrada de la especie bioactiva que entra en circulación, determinada con respecto a una dosis administrada por vía intravenosa. Una forma de medir la biodisponibilidad es comparando el "área bajo la curva" (AUC) en un gráfico de la concentración plasmática en función del tiempo. La AUC puede calcularse, por ejemplo, usando la regla lineal trapezoidal. "AUC<sub>0-t</sub>", como se usa en la presente, se refiere al área bajo la curva de concentración plasmática desde el momento cero hasta un momento, t, posterior. El tiempo se medirá típicamente en días, aunque también pueden usarse horas, como resultará evidente por el contexto. "AUC<sub>∞</sub>", como se usa en la presente, se refiere al área bajo la curva de concentración plasmática desde el momento cero hasta un momento en donde la concentración plasmática vuelve a los niveles de referencia. Una forma de medir la biodisponibilidad es comparando el "área bajo la curva" (AUC) en un gráfico de la concentración plasmática en función del tiempo. La AUC puede calcularse, por ejemplo, usando la regla lineal trapezoidal. "AUC<sub>∞</sub>", como se usa en la presente, se refiere al área bajo la curva de concentración plasmática desde el momento cero hasta el momento en que la concentración plasmática vuelve a los niveles de referencia. "AUC<sub>0-t</sub>", como se usa en la presente, se refiere al área bajo la curva de concentración plasmática desde el momento cero hasta un momento, t, posterior, por ejemplo, hasta el momento de alcanzar los niveles de referencia. El tiempo se medirá típicamente en días, aunque también pueden usarse horas, como resultará evidente por el contexto. Por ejemplo, la AUC puede aumentar en más del 10%, 20%, 30%, 40% o 50% en comparación con por lo demás la misma formulación sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad y administrada de la misma manera.

Como se usa en la presente, " $t_{max}$ " se refiere al tiempo tras la administración en el que la concentración plasmática alcanza un máximo.

Como se usa en la presente, " $C_{max}$ " se refiere a la concentración plasmática máxima tras la administración de una dosis, y antes de la administración de una dosis posterior.

Como se usa en la presente, " $C_{min}$ " o " $C_{valle}$ " se refiere a la concentración plasmática mínima tras la administración de una dosis, y antes de la administración de una dosis posterior.

La  $C_{max}$  tras la inyección SC o IM puede ser menor, por ejemplo, por lo menos un 10%, más preferiblemente por lo menos un 20%, menor que la  $C_{max}$  de una dosis administrada por vía intravenosa. Esta reducción de la  $C_{max}$  también puede dar como resultado una toxicidad reducida.

Los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos pueden aproximarse entre especies usando enfoques conocidos por los expertos en la técnica.

La farmacocinética y la farmacodinámica de los agentes terapéuticos de anticuerpos pueden diferir notablemente en función del anticuerpo específico. Se ha demostrado que un mAb murino aprobado tiene una semivida en humanos de ~1 día, mientras que un mAb humano tendrá típicamente una vida media de ~25 días (Waldmann et al., *Int. Immunol.*, 2001, 13:1551-1559). La farmacocinética y la farmacodinámica de los agentes terapéuticos de anticuerpos pueden diferir notablemente en función de la vía de administración. El tiempo necesario para alcanzar la concentración plasmática máxima tras la inyección IM o SC de IgG varía típicamente de 2 a 8 días, aunque pueden encontrarse tiempos más cortos o más largos (Wang et al., *Clin. Pharm. Ther.*, 2008, 84(5):548-558). La farmacocinética y la farmacodinámica de los agentes terapéuticos de anticuerpos pueden diferir notablemente en función de la formulación. Las formulaciones proteicas que contienen organofosfatos pueden presentar una farmacocinética mejorada para inyecciones SC o IM en comparación con por lo demás las mismas formulaciones sin el o los organofosfatos. La  $C_{max}$  después de la administración SC o IM puede disminuir en comparación con por lo demás la misma formulación sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad y administrada por vía intravenosa. Por ejemplo, la  $C_{MAX}$  puede disminuir más de 1 día, 2 días, 3 días o 4 días, o puede disminuir más del 10%, 20%, 30%, 40% o 50% en comparación con la  $C_{MAX}$  de por lo demás la misma formulación sin los organofosfatos reductores de la viscosidad y administrada por vía intravenosa. La biodisponibilidad global puede aumentarse en inyecciones SC o IM en comparación con por lo demás las mismas formulaciones sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad. La biodisponibilidad global puede evaluarse comparando uno o más valores de AUC o comparando el porcentaje de biodisponibilidad calculado, por ejemplo, con respecto a la dosificación administrada por vía intravenosa. Por ejemplo, la AUC puede aumentar en más del 10%, 20%, 30%, 40% o 50% en comparación con por lo demás la misma formulación sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad y administrada por vía intravenosa.

Las formulaciones proteicas de baja viscosidad pueden permitir una mayor flexibilidad en la dosificación y frecuencias de dosificación disminuidas en comparación con las formulaciones proteicas sin el o los organofosfatos reductores de la viscosidad. Por ejemplo, aumentando varias veces la dosificación administrada por inyección, la frecuencia de dosificación puede reducirse en algunas realizaciones de una vez cada 2 semanas a una vez cada 6 semanas.

Las formulaciones proteicas incluyendo, entre otras, las formulaciones reconstituidas, pueden administrarse usando una jeringuilla o autoinyector calentado y/o de automezclado. Las formulaciones proteicas también pueden precalentarse en una unidad de calentamiento separada antes de llenar la jeringuilla.

#### i. Jeringuillas calentadas

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

La jeringuilla calentada puede ser una jeringuilla autocalentable, es decir, capaz de calentar y mantener la formulación líquida dentro de la jeringuilla a una temperatura específica. La jeringuilla autocalentable también puede ser una jeringuilla médica estándar que tenga acoplado un dispositivo de calentamiento. Los dispositivos de calentamiento adecuados que pueden acoplarse a una jeringuilla incluyen los calentadores de jeringuilla o la cinta de calentamiento de jeringuillas disponibles de Watlow Electric Manufacturing Co. de St. Louis, MO, y los bloques calentadores de jeringuillas, calentadores de etapas y calentadores de perfusión en línea disponibles de Warner Instruments de Hamden, CT, como el modelo de calentador de jeringuilla SW-61. El calentador puede controlarse a través de un controlador central, por ejemplo, los controladores de calentador modelo TC-324B o TC-344B disponibles de Warner Instruments.

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

#### ii. Jeringuillas de automezclado

La jeringuilla puede ser automezcladora o tener un mezclador acoplado. El mezclador puede ser un mezclador estático o un mezclador dinámico. Los ejemplos de mezcladores estáticos incluyen los divulgados en las

Patentes de Estados Unidos N° 5.819.988, 6.065.645, 6.394.314, 6.564.972, y 6.698.622. Los ejemplos de algunos mezcladores dinámicos pueden incluir los divulgados en las Patentes de Estados Unidos N° 6.443.612 y 6.457.609, así como la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US 2002/0190082. La jeringuilla puede incluir múltiples cilindros para mezclar los componentes de la formulación de proteína líquida. La Patente de Estados Unidos N° 5.819.998 describe jeringuillas con dos cilindros y una punta mezcladora para mezclar sustancias viscosas de dos componentes.

### iii. Autoinyectores y jeringuillas precargadas de formulaciones proteicas

La formulación proteica líquida puede administrarse usando un autoinyector de jeringuilla precargada o un dispositivo de inyección sin aguja. Los autoinyectores incluyen un portacartuchos manual, a menudo similar a una pluma, para sostener cartuchos precargados reemplazables y un mecanismo basado en un resorte o análogo para inyecciones subcutáneas o intramusculares de dosificaciones de fármacos líquidos a partir de un cartucho precargado. Los autoinyectores se diseñan típicamente para la autoadministración o la administración por personal no cualificado. Los autoinyectores están disponibles para dispensar dosificaciones individuales o múltiples dosificaciones de un cartucho precargado. Los autoinyectores permiten diferentes configuraciones de usuario incluyendo, entre otras, la profundidad de inyección, la velocidad de inyección y similares. Otros sistemas de inyección pueden incluir los descritos en la Patente de Estados Unidos N° 8.500.681.

La formulación proteica liofilizada puede proporcionarse en jeringuillas precargadas o de dosis unitaria. Las Patentes de Estados Unidos N° 3.682.174; 4.171.698; y 5.569.193 describen jeringuillas estériles que contienen dos cámaras que pueden precargarse con una formulación seca y un líquido que puede mezclarse inmediatamente antes de la inyección. La Patente de Estados Unidos N° 5.779.668 describe un sistema de jeringuilla para la liofilización, reconstitución y administración de una composición farmacéutica. En algunas realizaciones, la formulación proteica se proporciona en forma liofilizada en una jeringuilla precargada o de dosis unitaria, se reconstituye en la jeringuilla antes de la administración y se administra como una única inyección subcutánea o intramuscular. Los autoinyectores para la administración de fármacos liofilizados en dosis unitarias se describen en la WO 2012/010,832. Los autoinyectores como el Safe Click Lyo™ (comercializado por Future Injection Technologies, Ltd., Oxford, Reino Unido) pueden usarse para administrar una formulación proteica de dosis unitaria en donde la formulación se almacena en forma liofilizada y se reconstituye justo antes de la administración. En algunas realizaciones, la formulación proteica se suministra en cartuchos de dosis unitaria para fármacos liofilizados (a veces denominados cartuchos Vetter). Los ejemplos de cartuchos adecuados pueden ser los descritos en las Patentes de Estados Unidos N° 5.334.162 y 5.454.786.

## **V. Métodos de purificación y concentración**

Los organofosfatos reductores de la viscosidad también pueden usarse para ayudar en la purificación y concentración de proteínas. El o los organofosfatos reductores de la viscosidad y los excipientes se añaden a la proteína en una cantidad eficaz de organofosfato reductor de la viscosidad para reducir la viscosidad de la solución proteica. Por ejemplo, el organofosfato reductor de la viscosidad se añade a una concentración de entre aproximadamente 0,01 M y aproximadamente 1 M, preferiblemente entre aproximadamente 0,01 M y aproximadamente 0,5 M, y más preferiblemente entre aproximadamente 0,01 M y aproximadamente 0,25 M.

Luego, la solución de proteína-organofosfato se purifica o concentra usando un método seleccionado del grupo que consiste en ultrafiltración/diafiltración, filtración de flujo tangencial, concentración centrífuga y diálisis.

### **Ejemplos**

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

Todas las viscosidades de las soluciones acuosas de mAb bien mezcladas se midieron usando o un viscosímetro microfluídico mVROC (RheoSense) o un viscosímetro de cono y placa DV2T (Brookfield; "C & P") después de un equilibrado de 5 minutos a 25° C (a menos que se indique lo contrario). El viscosímetro mVROC estaba equipado con un chip "A" o "B", cada uno fabricado con un canal de 50 micras. Típicamente, se cargaron 0,10 ml de solución de proteína en una jeringuilla hermética a los gases para instrumentos de laboratorio (Hamilton; 100 µl), se fijaron al chip y se midieron a múltiples caudales, aproximadamente al 20%, 40% y 60% de la presión máxima para cada chip. Por ejemplo, una muestra de aproximadamente 50 cP se mediría a unos 10, 20 y 30 µl/min (aproximadamente 180, 350 y 530 s<sup>-1</sup>, respectivamente, en un chip "A") hasta que la viscosidad se estabilizase, típicamente después de por lo menos 30 segundos. A continuación, se calculó una viscosidad absoluta media y una desviación estándar a partir de por lo menos estas tres mediciones. El viscosímetro C & P estaba equipado con un husillo CPE40 o CPE52 (ángulo de cono de 0,8° y 3,0°, respectivamente) y se midieron muestras de 0,50 ml a múltiples velocidades de cizallamiento entre 2 y 400 s<sup>-1</sup>. Específicamente, las muestras se midieron durante 30 segundos cada una a 22,58, 24,38, 26,25, 28,13, 30, 31,88, 45, 67,5, 90, 112,5, 135, 157,5, 180, 202,5, 247, 270, 292,5, 315, 337,5, 360, 382, 400 s<sup>-1</sup>, comenzando a una velocidad de cizallamiento que daba por lo menos un 10% de par, y continuando hasta que el par del instrumento alcanzaba el 100%. Luego, se determinó una viscosidad de cizallamiento cero

extrapolada a partir de un gráfico de viscosidad dinámica frente a la velocidad de cizallamiento para las muestras medidas en un viscosímetro de cono y placa DV2T. Las viscosidades extrapoladas de cizallamiento cero indicadas son la media y la desviación estándar de por lo menos tres mediciones.

#### 5 Ejemplo de referencia 1: Los organofosfatos disminuyen la viscosidad de las soluciones acuosas concentradas del biosimilar AVASTIN®

Se purificó un biosimilar AVASTIN® (100-400 mg) obtenido comercialmente que contenía excipientes farmacéuticos (polisorbato 20, tampones de fosfato y citrato, manitol y NaCl). En primer lugar, se eliminó el Polisorbato 20 usando las columnas DETERGENT-OUT® TWEEN Medi (G-Biosciences). A continuación, las soluciones resultantes se intercambiaron ampliamente en tampón de fosfato sódico 20 mM (PB; pH 7,0) para las muestras de PB y en PB 2 mM (pH 7,0) para las muestras de organofosfatos reductores de la viscosidad y se concentraron hasta un volumen final de menos de 10 ml en concentradores centrífugos Jumbosep (Pall Corp.). Primero se alicuotaron las muestras intercambiadas con tampón en PB 2 mM. Luego, se añadió a cada alícuota una cantidad adecuada de solución de organofosfato reductor de la viscosidad (pH 7,0), de tal manera que, tras la reconstitución con agua, la concentración final del excipiente fuera de 0,10-0,25 M. Luego, las soluciones proteicas se liofilizaron. Las tortas de proteína secas, que contenían proteína y organofosfato reductor de la viscosidad (y una cantidad insignificante de sales tampón) se reconstituyeron hasta un volumen final de aproximadamente 0,1 ml y una concentración de organofosfato reductor de la viscosidad como se ha descrito anteriormente. Para las muestras intercambiadas con tampón en PB 20 mM (muestras de control PB), se liofilizó la solución de proteína recogida. Las tortas de proteína secas, que contenían proteína y sales de tampón, se reconstituyeron hasta un volumen final de aproximadamente 0,10-0,50 ml. Estas muestras se reconstituyeron usando PB adicional (pH 7,0) suficiente para llevar la concentración final de PB a 0,25 M. La concentración final de mAb en solución se determinó mediante un ensayo de cuantificación de proteínas Coomassie comparando las concentraciones desconocidas de las muestras con una curva estándar del biosimilar AVASTIN®. Las viscosidades indicadas se midieron en un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC. Usando el mismo protocolo, también se prepararon formulaciones que contenían los biosimilares ERBITUX®, TYSABRI®, HERCEPTIN®, y REMICADE®.

Los datos de la Tabla 1 demuestran que la viscosidad de las soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® puede reducirse por lo menos 2 veces en presencia de organofosfatos reductores de la viscosidad 0,10-0,25 M. Las viscosidades mayores de 200 cP en el tampón fosfato se redujeron a menos de 50 cP en algunos casos mediante la adición de organofosfatos reductores de viscosidad 0,10-0,25 M. El TPP demuestra la mayor capacidad de reducción de la viscosidad (viscosidades más bajas) de los organofosfatos reductores de la viscosidad examinados aquí.

35 **Tabla 1. Viscosidades de soluciones acuosas de biosimilar AVASTIN® en presencia de varios organofosfatos a 25° C y pH 7.**

Excipiente	[Excipiente] (M)	[mAb] (mg/ml)	Viscosidad (cP)
PB	0.25	235	397 ± 2
PB	0.25	220	213 ± 10
PB	0.25	200	96.8 ± 0.9
TPP	0.25	210	44.5 ± 0.9
TPP	0.10	216	47.6 ± 2.7
TPP	0.10	201	34.6 ± 2.1
ATP	0.10	217	80.7 ± 7.1
ATP	0.10	209	52.3 ± 2.3
ADP	0.10	215	76.6 ± 2.2
AMP	0.10	206	63.2 ± 1.6
cAMP-Tris	0.25	216	85.7 ± 10.7
cAMP-Tris	0.25	209	62.1 ± 1.8
dATP-Tris	0.10	213	206 ± 13
dATP-Tris	0.10	196	127 ± 0.2
GTP	0.10	205	150 ± 12
dTTP-Tris	0.10	221	207 ± 6
dGTP-Tris	0.10	217	238 ± 31
dC TP-Tris	0.10	217	325 ± 13
NADP	0.25	186	242 ± 16
NADP	0.10	204	165 ± 23
Fosfato de piridoxal	0.25	200	171 ± 11
Fosfoenol piruvato	0.25	193	>> 200
Fosfocreatina	0.25	231	>> 200

(continuación)

PB: Tampón de fosfato; TPP: pirofosfato de tiamina; ATP: Trifosfato de adenosina; ADP: Difosfato de adenosina; AMP: Adenosina Monofosfato; cAMP: Monofosfato de Adenosina Cíclico; dATP: Deoxi Adenosina Trifosfato; dTTP: Deoxi Timidina Trifosfato; dGTP: Deoxi Guanosina Trifosfato; dCTP: Deoxi Citidina Trifosfato; NADP: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato. Todos los fosfatos son sales de sodio, a menos que se indique lo contrario.

### Ejemplo 2. La reducción de la viscosidad de las soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® depende de la concentración de organofosfato

Se prepararon soluciones acuosas de un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente como se describe en el Ejemplo 1. Las tortas de proteína secas se reconstituyeron en tampón fosfato o agua hasta un volumen final de aproximadamente 0,1 ml y una concentración final de organofosfato reductor de viscosidad de 0,02 M-0,5 M. La concentración final de mAb en solución se determinó mediante un ensayo de cuantificación de proteína de Coomassie comparando concentraciones desconocidas de muestras con una curva estándar del biosimilar AVASTIN®. Las viscosidades indicadas se midieron en un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC.

Los datos de la Tabla 2 demuestran que la viscosidad de las soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® se reduce inicialmente mediante la adición de organofosfatos reductores de la viscosidad. Sin embargo, a medida que la concentración de organofosfato reductor de la viscosidad aumenta por encima de cierto valor, la adición de más organofosfato reductor de la viscosidad puede volverse contraproducente (lleva a un aumento de la viscosidad). Para las soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® examinadas aquí, la viscosidad comienza a aumentar para concentraciones mayores de aproximadamente 0,20 M de organofosfato reductor de la viscosidad.

**Tabla 2. Viscosidades de soluciones acuosas del biosimilar AVASTIN® en presencia de concentraciones variables de organofosfatos**

Excipiente	[Excipiente] (M)	[biosimilar AVASTIN®] (mg/ml)	Viscosidad (cP)
PB**	0.25	220	213 ± 10
PB**	0.25	180	~60-70*
TPP**	0.10	176	21.1 ± 1.7
TPP**	0.20	181	25.6 ± 0.6
TPP**	0.30	191	129 ± 5
TPP-APMI	0.02	213	69.5 ± 2.8
TPP-APMI	0.10	191	23.2 ± 0.9
TPP-APMI	0.20	180	20.9 ± 0.4
TPP-APMI	0.30	182	33.3 ± 0.2
TPP-APMI	0.50	180	111 ± 1
cAMP-Tris**	0.10	171	22.0 ± 2.2
cAMP-Tris**	0.40	176	39.2 ± 4.3
cAMP-Tris**	0.50	178	66.1 ± 0.4

\* Valor interpolado  
\*\* Ejemplos de referencia

### Ejemplo 3. Los organofosfatos disminuyen la viscosidad de muchos anticuerpos monoclonales de interés terapéutico

Se prepararon las soluciones acuosas de un biosimilar AVASTIN® obtenido comercialmente como se describe en el Ejemplo 1. Las tortas de proteína secas se reconstituyeron en tampón fosfato o agua hasta un volumen final de aproximadamente 0,10 ml y una concentración final de organofosfato reductor de viscosidad de 0,02 M-0,50 M. La concentración final de mAb en la solución se determinó mediante un ensayo de cuantificación de proteínas de Coomassie comparando las concentraciones desconocidas de las muestras con una curva estándar del biosimilar AVASTIN®.

Se purificó el TYSABRI® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (tampón de fosfato sódico, NaCl, Polisorbato 80), se intercambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó de la misma manera. El biosimilar ERBITUX® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (tampón fosfato sódico, NaCl, Polisorbato 80) se purificó, se le cambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó de la misma manera. El REMICADE® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (sacarosa, Polisorbato 80, tampón fosfato sódico) se preparó según las instrucciones de la hoja de información para la prescripción y se purificó, se cambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó de la misma manera. El HERCEPTIN® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (tampón de

5 histidina, trehalosa, polisorbato 20) se preparó según las instrucciones de la hoja de información para la prescripción y se purificó, se intercambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó de la misma manera. El biosimilar RITUXAN® obtenido comercialmente que contiene excipientes farmacéuticos (tampón citrato, cloruro sódico y TWEEN® 80) se purificó, se intercambió el tampón, se concentró, se secó, se reconstituyó y se analizó de la misma manera. Las viscosidades indicadas se midieron en un viscosímetro microfluídico RheoSense mVROC.

10 Los datos de la Tabla 3 demuestran que los organofosfatos reductores de la viscosidad pueden disminuir la viscosidad de soluciones acuosas concentradas de muchos mAbs terapéuticamente relevantes. El cAMP-Tris reduce la viscosidad hasta aproximadamente 9 veces en algunos casos.

**Tabla 3. Viscosidades de soluciones acuosas de mAbs de anticuerpos monoclonales en presencia de organofosforados**

mAb	Organofosfato, 0,25 M a menos que se indique lo contrario	[mAb], mg/ml	Viscosidad, cP
Biosimilar AVASTIN®	PB*	220	213 ± 10
	TPP (0,1 M)*	216	47.6 ± 2.7
	cAMP-Tris *	216	85.7 ± 10.7
	Riboflavina-5-fosfato (0,10 M)*.	225	131 ± 4
	Hidrato de cidofovir (0,02 M)*.	210	121 ± 2
REMICADE®	PB*	213	1157 ± 22
	PB*	162	513 ± 15
	TPP	232	1773 ± 304
	TPP (0,10 M)*	158	100 ± 9
	TPP-APMI	223	316 ± 11
	cAMP-Tris(0,10 M)*	156	59.7 ± 0.8
HERCEPTINA®	PB*	239	122 ± 17
		218	71.6 ± 3.9
	TPP	240	156 ± 3
	TPP-APMI	221	60.5 ± 0.3
	cAMP-Tris*	235	79.5 ± 2.7
TYSABRI®	PB*	237	182 ± 6
	TPP	206	59.6 ± 1.6
	TPP-APMI	238	76.3 ± 3.2
	cAMP-Tris*	227	80.1 ± 2.4
Biosimilar ERBITUX®	PB*	215	812 ± 49
	TPP	215	55.6 ± 4.8
	Riboflavina-5-fosfato (0,10 M)*.	237	492 ± 9
Biosimilar RITUXAN®	PB*	199	251 ± 1
	TPP (0,10 M)*	193	102 ± 16
	cAMP-Tris (0,10 M)*.	199	62.6 ± 1.7

\*Ejemplos de referencia

A menos que se defina expresamente de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la técnica.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica líquida inyectable que comprende:
  - 5 (i) un anticuerpo;
  - (ii) tiamina pirofosfato 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (TPP-APMI), y
  - (iii) un solvente farmacéuticamente aceptable;
 en donde la formulación farmacéutica líquida, cuando está en un volumen adecuado para inyección:
  - 10 (a) tiene una viscosidad absoluta de aproximadamente 1 mPa\*s (cP) a aproximadamente 100 mPa\*s (cP) a 25° C, medida usando un viscosímetro de cono y placa o un viscosímetro microfluídico; y
  - (b) la viscosidad absoluta de la formulación farmacéutica líquida es menor que una viscosidad absoluta de una composición correspondiente que comprende el anticuerpo y el solvente farmacéuticamente aceptable, pero sin el TPP-APMI;
 en donde la viscosidad absoluta es una viscosidad extrapolada de cizallamiento cero.
2. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
3. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el anticuerpo tiene un peso molecular de aproximadamente 120 kDa a aproximadamente 250 kDa.
4. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el solvente farmacéuticamente aceptable es acuoso.
5. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, el uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables comprendiendo un azúcar, un alcohol de azúcar, un agente tampón, un conservante, un portador, un antioxidante, un agente quelante, un polímero natural, un polímero sintético, un crioprotector, un lioprotector, un surfactante, un agente de carga, un agente estabilizador, o cualquier combinación de los mismos.
6. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el alcohol de azúcar es sorbitol o manitol.
7. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables comprenden un polisorbato, poloxámero 188, lauril sulfato sódico, un polioliol, un poli(etilenglicol), glicerol, un propilenglicol o un poli(alcohol vinílico).
8. Una formulación farmacéutica líquida de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en un vial de dosis unitaria, vial de múltiples dosis, cartucho o jeringuilla precargada.
9. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la formulación farmacéutica líquida es isotónica al suero sanguíneo humano.
10. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la viscosidad absoluta se mide a una velocidad de cizallamiento de por lo menos aproximadamente 0,5 s<sup>-1</sup> cuando se mide usando un viscosímetro de cono y placa o una velocidad de cizallamiento de por lo menos aproximadamente 1,0 s<sup>-1</sup> cuando se mide usando un viscosímetro microfluídico.
11. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la formulación farmacéutica líquida se reconstituye a partir de una composición liofilizada.
12. Una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en un método de administración por inyección subcutánea o intramuscular.
13. Una formulación farmacéutica líquida para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la formulación farmacéutica líquida produce un índice de irritación primaria menor de 3 cuando se evalúa usando un sistema de puntuación Draize.
14. Una formulación farmacéutica líquida para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en donde la fuerza de inyección es por lo menos un 10% menor que la fuerza de inyección para una composición de control, la composición de control comprendiendo el anticuerpo y el solvente farmacéuticamente aceptable, pero sin el TPP-APMI.
15. Una formulación farmacéutica líquida para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, la fuerza de inyección

es por lo menos un 20% menor que la fuerza de inyección para una composición de control, la composición de control comprendiendo el anticuerpo y el solvente farmacéuticamente aceptable, pero sin el TPP-APMI.

- 5 16. Una formulación farmacéutica líquida para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 12 a 15, en donde la inyección se administra con una aguja de entre 27 y 31 de diámetro.
17. Una formulación farmacéutica líquida para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la fuerza de inyección es menor de 30 N con una aguja de calibre 27.
- 10 18. Una formulación farmacéutica líquida para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 17, en donde la inyección subcutánea o intramuscular se realiza con una jeringuilla calentada, una jeringuilla automezcladora, un autoinyector, una jeringuilla precargada o combinaciones de los mismos.
- 15 19. Una formulación farmacéutica líquida para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 18, en donde el volumen de la formulación farmacéutica líquida es igual o menor de aproximadamente 1,5 ml para inyección subcutánea, o igual o menor de aproximadamente 3 ml para inyección intramuscular.
- 20 20. Un método de preparación de una formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende el paso de combinar el anticuerpo, el solvente farmacéuticamente aceptable y el TPP-APMI.
21. Una composición liofilizada que comprende:
- 25 (i) un anticuerpo;  
(ii) tiamina pirofosfato 1-(3-aminopropil)-2-metil-1H-imidazol (TPP-APMI), y  
(iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

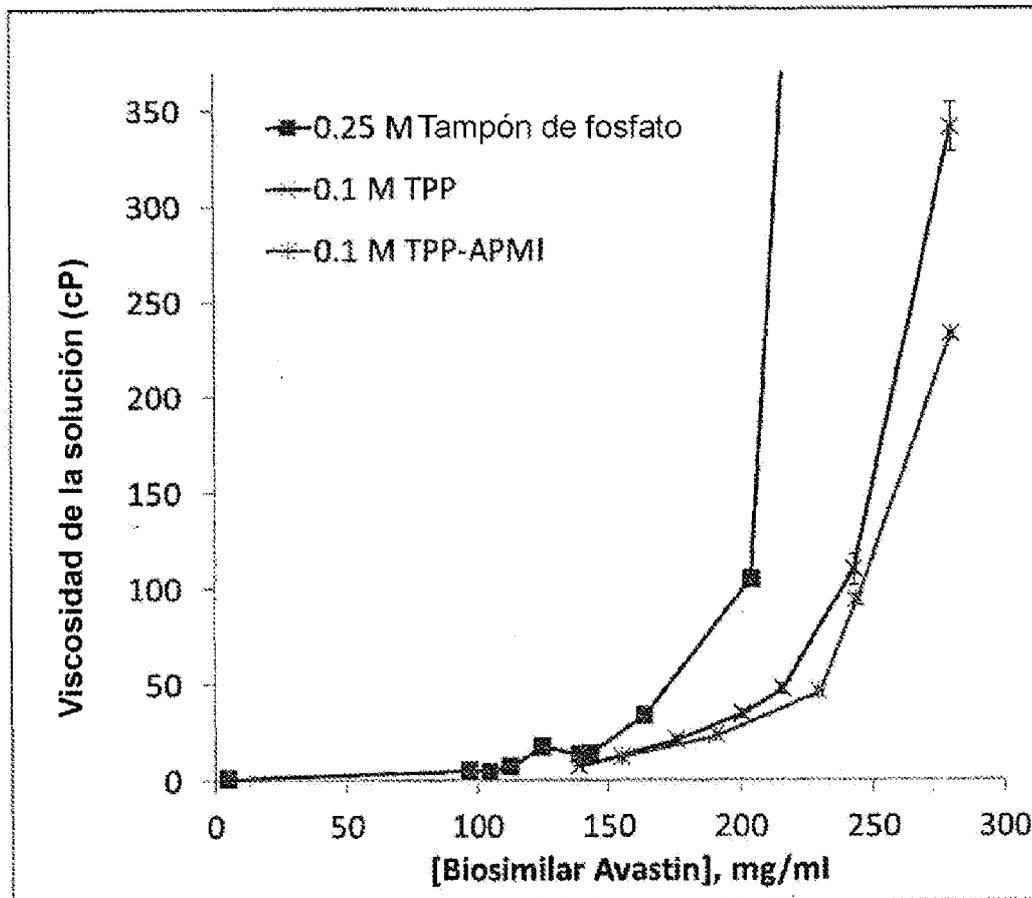


FIG. 1