



Organización y
Digitalización CSA Ltda

Industria y Comercio

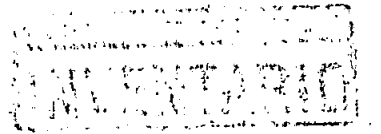
SUPERINTENDENCIA

PCT



CSA836162

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones



SOLICITUD

PATENTE DE

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-091445-00000-0000

Fecha: 2010-07-27 16:23:16 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 106

10-91445

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

PREPARACION DE SOLUCION QUE CONTIENE ANTICUERPOS
EN UNA ALTA CONCENTRACION

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA y F. HOFFMANN-
LA ROCHE AG

DOMICILIO

TOKYO, JAPON y BASEL, SUIZA, Respectivamente

74. APODERADO

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

C.C. 35.456.344 d e Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C.,



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-091445- -00000-0000

Fecha: 2010-07-27 16:23:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 106

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

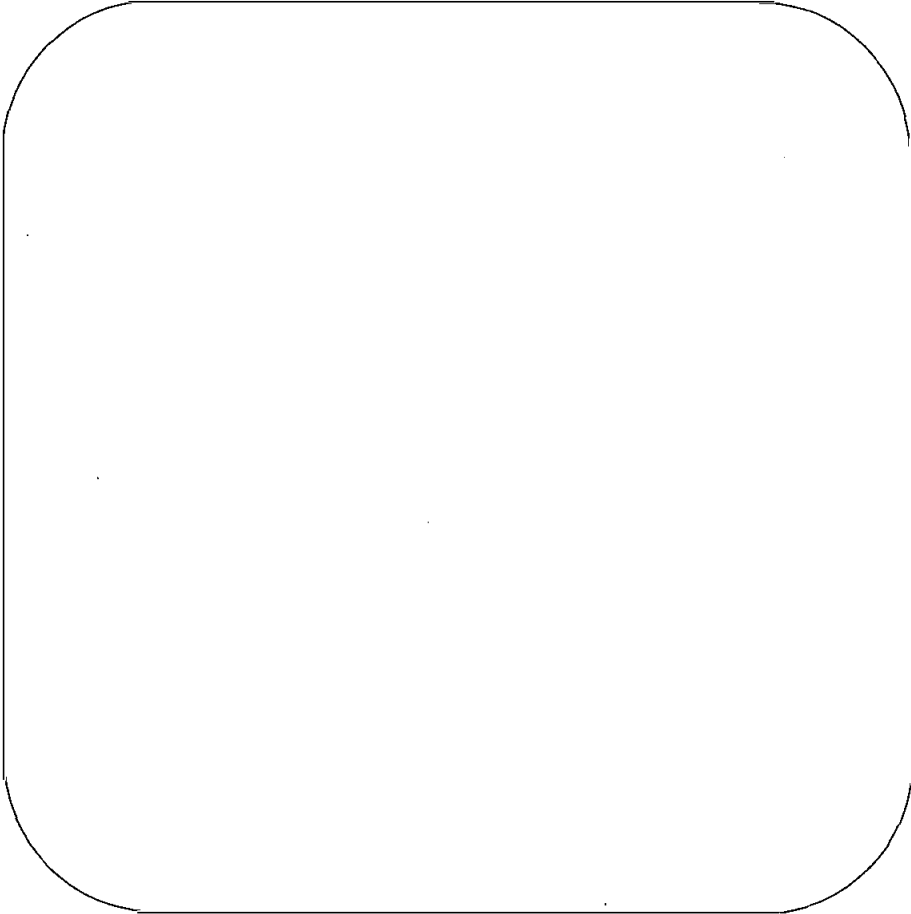
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:		
1 ☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad. ☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.		
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA Y F. HOFFMANN-LA ROCHE AG Sociedades constituidas y existentes bajo las leyes de Japón y Suiza, respectivamente. Dirección: 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japón y Grenzacherstrasse 124, Basel CH4070, Suiza Respectivamente Domicilio: Tokyo, Japón Basel, Suiza Respectivamente	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 211 86 50 E-mail: clientes@cavelier.com Domicilio: Bogotá, Colombia.	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>35.456.344</u> T.P 23.555
4 INVENTOR (ES) (72)	1. Toshiyuki MORICHIKA CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japón 3. Yoshimi IMAEDA CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japón 5. Oliver Boris STAUCHI Zasius Strasse 49, Freiburg 79102, Alemania	
	2. Daisuke KAMEOKA CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japón 4. Terutoshi MAEDA CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 115-8543, Japón	

5	PCT (86)	Solicitud Internacional No. <u>PCT/JP2008/073798</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2009/084659 A1</u>	Fecha: <u>26 de diciembre de 2008</u> Fecha: <u>09 de julio de 2009</u>
6	Título (54) <u>PREPARACION DE SOLUCION QUE CONTIENE ANTICUERPOS EN UNA ALTA CONCENTRACION</u>		
7	Clasificación Internacional (51) <u>A61K 039/395</u> <u>A61K 47/18</u> <u>A61P 43/00</u>		
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>JP</u>	(32) Fecha <u>27 de diciembre de 2007</u>
		(31) Número de Solicitud <u>2007-336310</u>	
9	Comprobante de pago No.: <u>10-59,094</u> Fecha: <u>21 de julio de 2010</u>		
10	Anexos:		
☒	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 554.000.oo.		
☒	Comprobante de pago por 10 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$260.000.oo.		
☒	Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.		
☒	Poderes de las sociedades CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA y F. HOFFMANN-LA ROCHE AG .		
☒	Copia auténtica de la Sustitución de poder de la sociedad CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA efectuada a mi favor por el Doctor EMILIO FERRERO.		
☐	Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
☒	Declaraciones.		
☒	Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)		
☒	Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)		
☐	Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.		
☐	Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.		
☐	De ser el caso, copia del contrato de acceso.		
☐	De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.		
☐	De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.		
☐	Arte final 12x12		
☐	De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.		
☒	Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS		

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia Soler
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2009/084659 A1

Descripción:

Páginas 26 en el idioma original

Páginas 36 en español

Reivindicaciones: Número (s) 20

Figuras: Número (s) 8

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

5

SW

CAVELIER

179

ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of-Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses:

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

domiciliado (s) en/of 5-1, Ukima 5-chome,

Kita-ku, Tokyo 115-8543 Japan, hereby ratify the patent

application No. 04.090.189 filed by EMILIO FERRERO on September 10, 2004 and

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4° N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4° N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property against unfair competition, for which purpose I (we) authorize (amos) them to represent me (us) before any authorities or persons, exercise or not jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive, of service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit

RECEIVED
JUL 14 2010
NOTARY

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

08 JUL. 2010

AMPARO QUINTERO ARZUAGA
NOTARIA



promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan
sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del
proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de
agentes oficiosos.

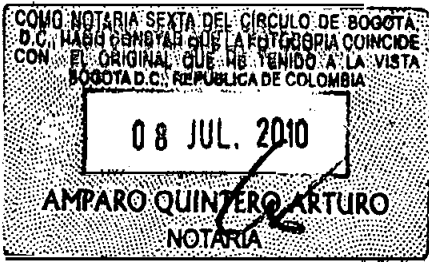
the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by
representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this 16th day of September, 2004
en/in Tokyo, Japan

por/by Osamu NAGAYAMA President, CEO


Firma Signature

CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA



0111

ESMA NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ
 TEL. 2611111 CONSTATA QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
 CON EL ORIGINAL QUE SE TENDIÓ A LA VISTA
 BOGOTÁ D. C. REPÚBLICA DE COLOMBIA

08 JUL. 2010

AMPARO QUINTERO ARTURO
 NOTARIA

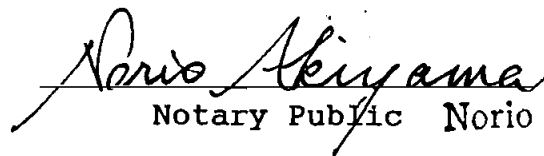
Registration No 561 of 2001

Notarial Certificate

This is to certify that Manami SEKIGUCHI, the attorney of Osamu NAGAYAMA, President, CEO of CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA, a Japanese body corporate of 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo, Japan has stated in my very presence that said Osamu NAGAYAMA acknowledges himself to have signed the attached Power of Attorney in compliance with the authority bestowed on him as President, CEO of CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA.

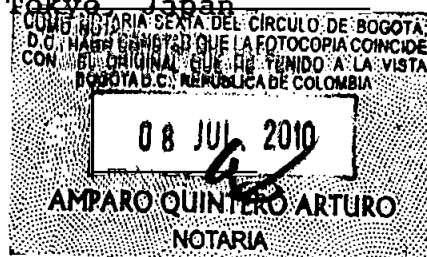
The foregoing was duly proven by the certified copy of the company register issued by Tokyo Legal Affairs Bureau, Japanese Government, dated July 21, 2004.

Dated this 7th day of October, 2004


Notary Public Norio Akiyama



No. 1-10, Nihombashi, Kabuto-cho,
Chuo-ku, Tokyo, Japan



15-11-1975

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

08 JUL. 2010

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

嘱託人 中外製薬株式会社 代表取締役 永山 治 は、別添文書における署名
が自己のものに相違ない旨、代理人 関口 麻奈美 を通じ、本公証人に対し
自認した。

よって、これを認証する。

平成16年 10 月 7 日、本公証人役場において

東京都中央区日本橋兜町1番10号

東京法務局 所属

公 証 人
Notary

永山 規 雄
Norio Akiyama



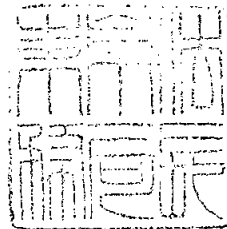
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、
真実のものであることを証明する。

平成16年 10 月 7 日

東京法務局長

石井政治



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN

This public document

2. has been signed by Norio Akiyama

3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau

4. bears the seal/stamp of

Certified

5. at Tokyo

6.

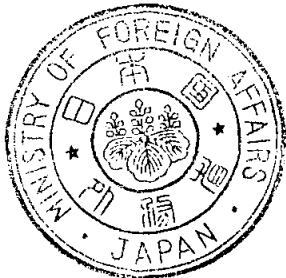
OCT. 7, 2004

7. by the Ministry of Foreign Affairs

8. 04- N^o 003170

9. Seal/stamp:

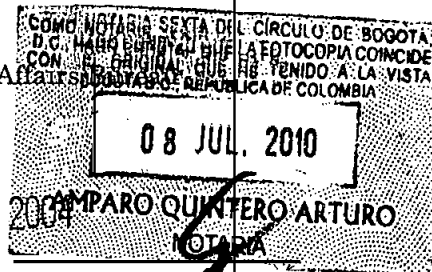
10. Signature



S. Hagiwara

Shinichi HAGIWARA

For the Minister for Foreign Affairs

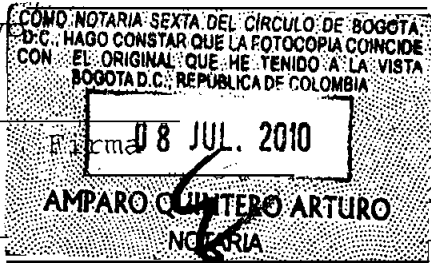


TRADUCCIÓN OFICIAL No. 10.13/04d realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento escrito en inglés y español por medio del cual CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA, domiciliado en el 5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokio 115-8543 Japón, por el presente ratifica la solicitud de patente No. 04.090.189 presentada por el Doctor Emilio FERRERO el 10 de Septiembre de 2004 y adicionalmente otorga derechos de representación y poder a los Doctores EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ, tpa. 23555; y GERMÁN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá D.C., Colombia.

Dado y firmado el 16 de Septiembre de 2004 en Tokio, Japón, por Osamu NAGAYAMA, Presidente y Director Ejecutivo

Firma Ilegible
Firma
CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA



Registro No. 561 de 2001

Certificado Notarial

El presente es para certificar que Manami SEKIGUCHI, apoderado de Osamu NAGAYAMA, Presidente y Director Ejecutivo de CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA, sociedad anónima japonesa domiciliada en 5-1 Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokio, Japón, ha declarado en presencia mía que el mencionado Osamu NAGAYAMA reconoce que él mismo firmó el adjunto Poder de conformidad con la autoridad a él investida como Presidente, Director Ejecutivo de CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA. Lo anterior fue debidamente probado con la copia certificada del registro de la compañía expedido por la Oficina de Asuntos Legales de Tokio del Gobierno Japonés, con fecha del 21 de Julio de 2004.

10

Expedido hoy 7 de Octubre de 2004

Firma ilegible
Notario Público Norio Akiyama

No. 1-10, Nihombashi, Kabuto-cho
Chuo-ku, Tokio, Japón

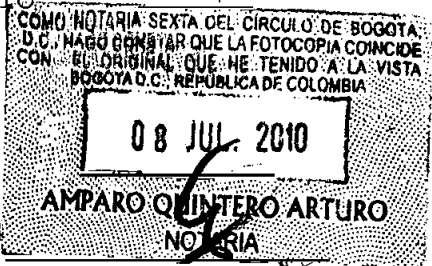
Sello: Oficina de Asuntos Legal de Tokio
OFICINA DE NOTARIO
No. 1-10, Nihombashi, Kabuto-cho
Chuo-ku, Tokio, Japón

Sellos rojos al lado de la firma y en la parte superior del documento.

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 octubre 1961)

- 1. País: **JAPÓN**
- Este documento público
- 2. ha sido firmado por Norio Akiyama
- 3. actuando en calidad de Notario de la Oficina de Asuntos Legales de Tokio
- 4. lleva el sello/estampilla de
- Certificado
- 5. en Tokio
- 6. OCT. 7.2004
- 7. por el Ministerio de Relaciones Exteriores
- 8. 04 - No. 003170 ✓
- 9. Sello/estampilla
- 10. Firma:



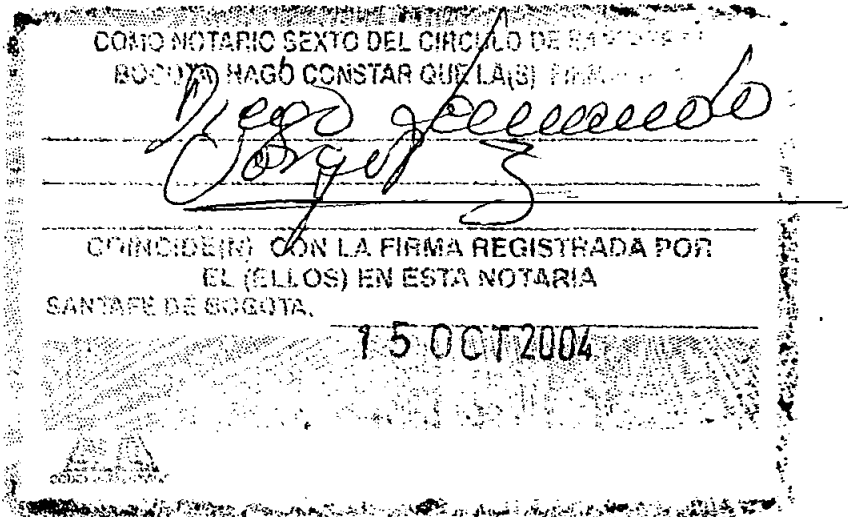
Firma Ilegible
Shinichi HAGIWARA

Por el Ministro de Relaciones Exteriores

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ/ID-6065/WPCL002G/COLO 14419-841-001-7

Diego F. Vargas Z.
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES - INGLES - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999²



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

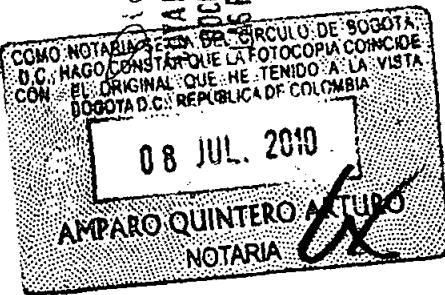
2004 OCT 15 P 12:46

UCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

055123

Diego Vargas
SU FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESDE EN LA
SUS FUNCIONES INDICADAS



CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTÁ 8, COLOMBIA

WEB SITE: www.cavelier.com
E-MAIL: cavelier@cavelier.com

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E. S. D.

Poderdante : **CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA**

Poder conferido el : 16/09/2004

Yo, EMILIO FERRERO, obrando como apoderado principal del poderdante arriba mencionado, mediante el presente escrito sustituyo el poder a mi otorgado a la doctora LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, identificada con cédula de ciudadanía No. 35.456.344 y Tarjeta Profesional N°23.555, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil.

Señora Jefe,

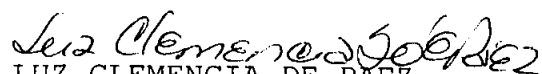


EMILIO FERRERO

T.P.A. N° 31.929

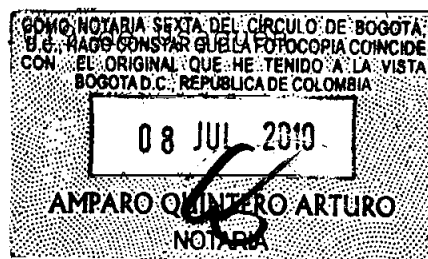
C.C. N° 438

Acepto:


LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

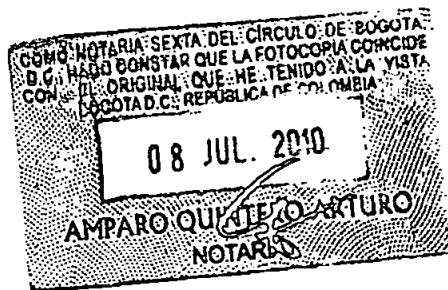
T.P.A. N° 23.555

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén



NOTARIA SEXTA DE BOGOTA
RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
 Bogotá, D.C. **3 - NOV. 2009**
 Ante mi AMPARO QUINTERO ARTURO,
 NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE
 BOGOTA D.C.
 Comparecedor(es) *[Firma]*
[Firma]
[Firma]
 Quien(es) exhibió(aron) la(s) C.C.
[Firma]
 Y declaró(aron) que la(o) firma(s) que a loce(n)
 en el presente documento es(son) la(s) cuya(o) y
 que el contenido del mismo es cierto.
 En constancia se firma esta diligencia.

Emilio Guerrero
Seiz Clemente de Sober





ESCRITURA PUBLICA NUMERO 3657
TRES MIL SEISCIENTOS CINCUENTA Y SIETE
DE FECHA: QUINCE (15) DE JULIO
DEL AÑO DOS MIL DIEZ (2010)
OTORGADA EN LA NOTARIA SEXTA (6ª.) DEL
CÍRCULO NOTARIAL DE BOGOTÁ, D.C.

ACTO: PODER

PODERDANTE: CAVELIER ABOGADOS Nit. 860.041.367-3

APODERADOS:

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ C.C. 35.456.344

NIDIA OSORIO LOPEZ C.C. 39.787.682

OSCAR FERNANDO CORREA BARBOSA C.C. 79.524.634

EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY C.C. 52.006.265

JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL C.C. 16.209.380

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, República de Colombia, ante mí MABEL
ANDREA RODRIGUEZ DIAZ Notaria(o) Sexta(o) (6) Encargada de este Círculo
Notarial, se otorgó la escritura pública que se consigna en los siguientes
términos:

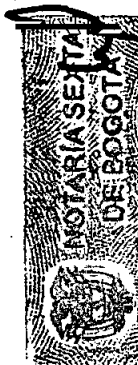
Compareció: con minuta escrita el señor CARLOS ALBERTO GALLÓN
GIRALDO, mayor de edad, vecino de esta ciudad, casado, identificado con la
cédula de ciudadanía No. 19.066.425 de Bogotá, y dijo:

ESTIPULACIONES

PRIMERA: Que obra en su calidad de representante legal de la sociedad
denominada CAVELIER ABOGADOS domiciliada en la Carrera 4 No. 72-35,
Bogotá, Colombia.

SEGUNDA: Que F. HOFFMANN-LA ROCHE AG, sociedad constituida y
existente bajo las leyes de Suiza domiciliada en Grenzacherstrasse 124, Basel
CH4070, Suiza, designó a CAVELIER ABOGADOS como su representante para
la Propiedad Industrial en Colombia con facultades de nombrar apoderados tal
como consta en la copia auténtica del documento de representación que se
protocoliza.

TERCERA: Que en su carácter de representante legal de CAVELIER
ABOGADOS, y en desarrollo de la facultad otorgada por F. HOFFMANN-LA
ROCHE AG, confiere poder a los abogados LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, T.P.A.



No. 23.555, identificada con cédula de ciudadanía número **35.456.344** de Usaquen, **NIDIA OSORIO LOPEZ**, T.P.A. No.73.366, identificada con cédula de ciudadanía número **39.787.682** de Bogotá, **OSCAR FERNANDO CORREA BARBOSA**, T.P.A. No. 71.027 identificado con cédula de ciudadanía número **79.524.634** de Bogotá, **EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY**, T.P.A. 65.794 identificada con cédula de ciudadanía número **52.006.265** de Bogotá y **JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL**, T.P.A. No. 40.119, identificado con cédula de ciudadanía número **16.209.380** de Cartago (Valle), mayores de edad, vecinos de Bogotá, para que representen a la sociedad a cuyo nombre actúa, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, incluyendo las del orden administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: -----

a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, trazado de circuitos integrados, secretos industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales, denominaciones de origen e indicaciones de procedencia, su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos -----

b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones, cancelación administrativa o judicial, nulidad, medidas cautelares, acción por infracción, concesión de licencias, la protección de secretos industriales y de nombres de dominio junto con su administración y pago; acciones populares, de tutela y de cumplimiento; y en general los procesos civiles, penales, administrativos o contencioso administrativos, de conciliación, arbitramento, tutela relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. -----

CUARTO: Que los apoderados designados están facultados en todos los asuntos arriba determinados para sustituir este mandato, transigir, conciliar, arbitrar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y ratificar los actos de agentes oficiosos. -----

QUINTO: Que protocoliza con la presente escritura, un certificado expedido por la Cámara de Comercio de Bogotá, que acredita la constitución y personería de la sociedad **CAVELIER ABOGADOS**, igualmente protocoliza copia autenticada del



01



* 9 4 7 1 9 8 3 7 *

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

12 DE JULIO DE 2010 HORA 16:09:43

R028844095

PAGINA: 1 de 3

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O INSCRIPCION DE DOCUMENTOS

CERTIFICA:

NOMBRE : CAVELIER ABOGADOS
N.I.T. : 860041367-3
DOMICILIO : BOGOTA D.C.

CERTIFICA:

NO: 00820237

CERTIFICA:

CONSTITUCION : QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0006233 DE NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C. DEL 10 DE SEPTIEMBRE DE 1974 , INSCRITA EL 26 DE SEPTIEMBRE DE 1974 BAJO EL NUMERO 00021234 DEL LIBRO IX, SE CONSTITUYO LA SOCIEDAD CIVIL DENOMINADA: CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER.

CERTIFICA :

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0001000 DE NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C. DEL 10 DE MARZO DE 1983 , INSCRITA EL 5 DE ABRIL DE 1983 BAJO EL NUMERO 00130769 DEL LIBRO IX, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NOMBRE DE : CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER. POR EL DE : CAVELIER ABOGADOS

CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NUMERO 1.000 OTORGADA EN LA NOTARIA 6A. DE BOGOTA EL 10 DE MARZO DE 1.983, INSCRITA EN ESTA CAMARA DE COMERCIO EL 5 DE ABRIL DE 1.983 BAJO EL NUMERO 130769 DEL LIBRO IX, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NOMBRE DE: CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER, POR EL DE: CAVELIER ABOGADOS, E INTRODUJO OTRAS REFORMAS.

CERTIFICA:

CERTIFICA

QUE POR E.P.NO. 2.034 DE LA NOTARIA 6 DE SANTAFE DE BOGOTA DEL 18 DE ABRIL DE 1.995, INSCRITA EL 27 DE ABRIL DE 1.995 BAJO EL NO. 5.937 DEL LIBRO XIII, LA SOCIEDAD TRASLADO SU DOMICILIO DE LA CIUDAD DE SANTAFE DE BOGOTA D.C. AL MUNICIPIO DE TABIO (CUNDINAMARCA).--.

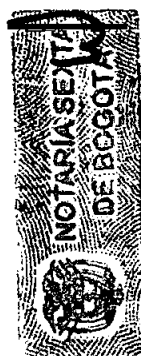
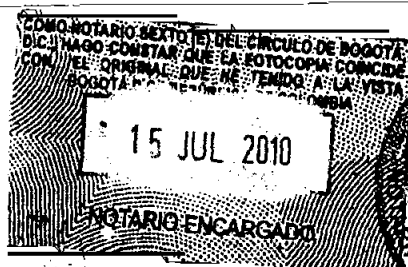
CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 7710 DE LA NOTARIA SEXTA DE BOGOTA DEL 10 DE OCTUBRE DE 1984, INSCRITA EL 15 DE NOVIEMBRE DE 1984 BAJO EL NO. 1559 DEL LIBRO XIII, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NATURALEZA JURIDICA DE SOCIEDAD COMERCIAL A SOCIEDAD CIVIL.

CERTIFICA:

REFORMAS:

ESCRITURAS NO.	FECHA	NOTARIA	INSCRIPCION
842	10-V-1.977	18. BTA.	27-V-1.977-NO. 46.204
3.430	1-VII-1.980	6A. BTA.	3-IX-1.980-NO. 89.582
4.844	10-IX-1.980	6A. BTA.	8-X-1.980-NO. 91.261
432	10-II-1.983	6A. BTA.	1-III-1.983-NO.129.337



7.710	10-X-1.984	6A. BTA.	15-XI-1.984-NO.	1.559
7.305	21-X-1.985	6A. BTA.	18-XI-1.985-NO.	1.906
2.567	29-IV-1.987	6A. BTA.	7-V- 1.987-NO.	2.386
4.278	3-VII-1.987	6A. BTA.	23-VII-1987 NO.	215.652
2.657	25- IV-1.988	6A. BTA.	19- V -1988-NO.	2,740
9.033	21-XII-1.990	6A. BTA.	10- I - 1991-NO.	3.786
25	3- I -1.991	6A. BTA.	10- I - 1991-NO.	3.787
1.608	8-III-1.991	6A. BTA.	14-III- 1991-NO.	3.841
2.155	2-IV- 1.991	6A. BTA.	8-IV - 1991-NO.	3.862
797	7-II -1.991	6A. BTA.	7- V -1991-NO.	3.882
1.739	14-III-1.991	6A. BTA.	7- V -1991-NO.	3.881
5.886	21-VIII-1.991	6A. BTA.	27-VIII-1991 NO.	4.019
8.596	4-XII -1.991	6A. BTA.	16-III -1992 NO.	4.430
1.494	10-III -1.992	6A. BTA.	19-III -1992 NO.	4.436
4.205	8 -VII -1.992	6A. BTA.	15-VII -1992 NO.	4.554
8.829	16-XII -1.992	6A. BTA.	24-XII -1992 NO.	4.819
12	5-I -1.993	6 STAFE BTA	13-I -1993 NO.	4.850
4.877	29-VI -1.993	6 STAFE BTA	7-VII -1993 NO.	5.065
5.216	12-VII -1.993	6 STAFE BTA	16-VII -1993 NO.	5.077
ACTA NO.71	2-IX- 1.993	JUNTA DE SOCIOS	29-IX- 1993 NO.	5.174
2.034	18-IV- 1.995	6 STAFE BTA	27- IV -1995 NO.	5.937
2.227	25-IV-1.995	6 STAFE BTA	18-VIII-1.995 NO.	6.092
7.594	12-XII-1.995	6 STAFE BTA	19- XII-1.995 NO.	6.294
676	11- II-1.997	6 STAFE BTA	14- II -1.997 NO.	6.873

CERTIFICA:

REFORMAS:

E.P. NO.	FECHA	NOTARIA	CIUDAD	FECHA	NO. INSC.
0004506	1997/07/28	0006	BOGOTA D.C.	1997/09/02	00007115
0002103	1998/04/08	0006	BOGOTA D.C.	1998/04/21	00007426
0005326	1998/08/06	0006	BOGOTA D.C.	1998/08/13	00007544
0005538	1998/08/14	0006	BOGOTA D.C.	1998/08/27	00007564
0007760	1998/11/10	0006	BOGOTA D.C.	1998/11/12	00007644
0006709	1997/11/04	0006	BOGOTA D.C.	2000/12/04	00008481
0003034	2003/05/30	0006	BOGOTA D.C.	2003/06/04	00882729
0003786	2004/07/16	0006	BOGOTA D.C.	2004/07/28	00009703
0001432	2005/03/18	0006	BOGOTA D.C.	2005/04/07	00009917
0004818	2005/08/22	0006	BOGOTA D.C.	2005/08/26	00010008
0005506	2007/07/17	0006	BOGOTA D.C.	2007/07/24	00010841
5453	2009/10/19	0006	BOGOTA D.C.	2009/10/21	00012243
1336	2010/03/16	0006	BOGOTA D.C.	2010/03/24	00012506

CERTIFICA:

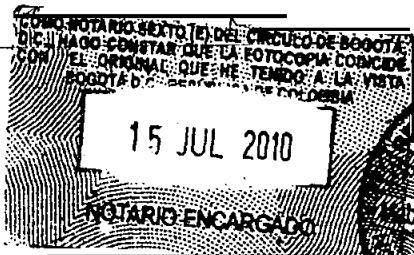
VIGENCIA: QUE LA SOCIEDAD NO SE HALLA DISUELTA. DURACION HASTA EL 10 DE SEPTIEMBRE DE 2024 .

CERTIFICA:

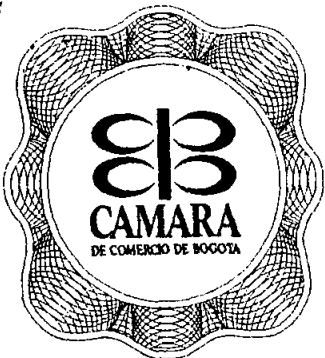
OBJETO SOCIAL: LA SOCIEDAD TENDRA POR OBJETO : EL EJERCICIO DE LA ACTIVIDAD PROFESIONAL DE ABOGADOS. EN DESARROLLO DE ESTE OBJETO LA SOCIEDAD PODRA ADQUIRIR, CONTRAER OBLIGACIONES Y CELEBRAR TODA CLASE DE CONTRATOS DIRECTAMENTE RELACIONADOS Y SUBORDINADOS AL MISMO, INCLUSIVE LOS DE ARRENDAMIENTO, HIPOTECA, MUTUO CON O SIN INTERES, MANDATO CIVIL Y COMERCIAL, Y SOCIEDAD, ASI COMO PARTICIPAR EN ASOCIACIONES CIENTIFICAS, GREMIALES O PROFESIONALES SIN ANIMO DE LUCRO.

CERTIFICA:

CAPITAL Y SOCIOS: \$10,000.00 DIVIDIDO EN 10,000.00 CUOTAS CON VALOR NOMINAL DE \$1.00 CADA UNA, DISTRIBUIDO ASI :
- SOCIO CAPITALISTA (S)



LS



01



* 9 4 7 1 9 8 3 8 *

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

12 DE JULIO DE 2010 HORA 16:09:43

R028844095

PAGINA: 2 de 3

ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568
NO. CUOTAS: 8,800.00	VALOR: \$8,800.00
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
NO. CUOTAS: 1,200.00	VALOR: \$1,200.00
- SOCIO INDUSTRIAL (S)	
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA	C.C. 000000035456344
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
CHAVARRO JORGE	C.C. 000000016209380
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
TOTALES	
NO. CUOTAS: 10,000.00	VALOR: \$10,000.00

CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURAS PUBLICAS NO. 001431 Y 001432 DEL 18 DE MARZO DE 2005 DE LA NOTARIA 06 DE BOGOTA D.C., INSCRITA EL 07 DE ABRIL DE 2005 BAJO EL NO. 0009918 Y 0009917, RESPECTIVAMENTE DEL LIBRO XIII, DE LAS MIL DOSCIENTAS (1200) PARTES DE INTERES SOCIAL RADICADAS EN CABEZA DE AGNES GAUDEBERT DE CAVELIER, SEISCIENTAS (600) PARTES ESTAN GRAVADAS O AFECTADAS EN PROPIEDAD FIDUCIARIA A FAVOR DE LAS SIGUIENTES PERSONAS : GERMAN CAVELIER FRANCO, ERNESTO CAVELIER FRANCO, JORGE CAVELIER FRANCO, INES CAVELIER FRANCO, GUILLERMO CAVELIER FRANCO, ELENA CAVELIER FRANCO, ALEJANDRO CAVELIER FRANCO, BEATRIZ CAVELIER FRANCO, Y LUCIA CAVELIER FRANCO.

CERTIFICA:

REPRESENTACION LEGAL: EL REPRESENTANTE LEGAL ES EL DIRECTOR. EL SOCIO FUNDADOR GERMAN CAVELIER GAVIRIA TENDRA EL CARACTER DE PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO, PARTICIPARA POR DERECHO PROPIO EN EL CONSEJO SUPERIOR Y EN EL CONSEJO DIRECTIVO Y LLEVARA LA REPRESENTACION LEGAL DE LA SOCIEDAD CUANDO LO ESTIME PERTINENTE SIN LIMITACION ALGUNA. IGUAL PARTICIPACION Y ATRIBUCIONES TENDRA SU SUPLENTE AGNES GAUDEBERT DE CAVELIER CUANDO OCUPE EL CARGO, EN CASO DE FALTA ABSOLUTA DE GERMAN CAVELIER GAVIRIA. LOS SOCIOS COLECTIVOS ESTÁN AUTORIZADOS PARA EJERCER LA REPRESENTACIÓN DE LA SOCIEDAD EN CUALQUIER TIEMPO, SIN PERJUICIO DE LAS DELEGACIONES CONFERIDAS A LOS ORGANOS CREADOS POR LOS PRESENTES ESTATUTOS

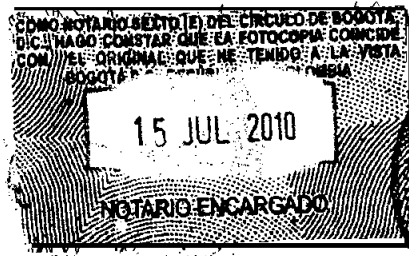
CERTIFICA:

** NOMBRAMIENTOS **

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0004818 DE NOTARIA 6 DE BOGOTA D.C. DEL 22 DE AGOSTO DE 2005, INSCRITA EL 26 DE AGOSTO DE 2005 BAJO EL NUMERO 00010008 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE	IDENTIFICACION
PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO CAVELIER GAVIRIA GERMAN	C.C. 000000002877924

QUE POR ACTA NO. 26 DE ASAMBLEA GENERAL DEL 13 DE MAYO DE 2010, INSCRITA EL 24 DE MAYO DE 2010 BAJO EL NUMERO 00012618 DEL LIBRO XIII,



FUE (RON) NOMBRADO (S) :

NOMBRE	IDENTIFICACION
DIRECTORA	
ZAPATA GIRALDO ADRIANA	C.C. 000000051680061
REPRESENTANTE LEGAL	
ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568
REPRESENTANTE LEGAL	
GALLON GIRALDO CARLOS	C.C. 000000019066425
REPRESENTANTE LEGAL	
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
SOCIO COLECTIVO	
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
SOCIO COLECTIVO	
ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0004818 DE NOTARIA 6 DE BOGOTA D.C. DEL 22 DE AGOSTO DE 2005, INSCRITA EL 26 DE AGOSTO DE 2005 BAJO EL NUMERO 00010008 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S) :

NOMBRE	IDENTIFICACION
SUPLENTE DEL PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO	
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100

CERTIFICA:

QUE EL NOMBRAMIENTO DE GALLÓN GIRALDO CARLOS INSCRITO BAJO EL REGISTRO 00012618 DEL LIBRO XIII, SE DA EN SU CONDICIÓN DE REPRESENTANTE LEGAL DE LA ASOCIACIÓN CAVELIER DEL DERECHO.

CERTIFICA:

FACULTADES DEL REPRESENTANTE LEGAL: APARTE DE LAS FACULTADES Y DEBERES QUE DE TIEMPO EN TIEMPO SE LE ASIGNEN POR EL CONSEJO SUPERIOR, EL DIRECTOR TENDRA LAS SIGUIENTES FUNCIONES : A) LA DE REPRESENTAR LEGALMENTE A LA SOCIEDAD ANTE LAS AUTORIDADES DE CUALQUIER ORDEN O NATURALEZA Y ANTE OTRAS PERSONAS NATURALES O JURIDICAS, CON FACULTADES PARA NOVAR, TRANSIGIR, COMPROMETER Y DESISTIR Y PARA COMPARECER EN JUICIOS INCLUSIVE EN AQUELLOS EN DONDE SE DISPUTE LA PROPIEDAD DE BIENES INMUEBLES; B) CUMPLIR Y HACER CUMPLIR LOS ESTATUTOS Y REGLAMENTOS DE LA SOCIEDAD; Y C) CREAR O SUPRIMIR TODOS LOS EMPLEOS QUE SEAN NECESARIOS DE ACUERDO CON EL CONSEJO SUPERIOR PARA EL BUEN FUNCIONAMIENTO DE LA SOCIEDAD, ASIGNARLES FUNCIONES, FIJAR SUS SALARIOS Y NOMBRAR LAS PERSONAS QUE DEBAN DESEMPEÑARLOS, ASI COMO RETIRARLOS Y REEMPLAZARLOS CUANDO HAYA LUGAR. CUANDO CUALQUIERA DE LOS ACTOS INDICADOS EN LA CLAUSULA ANTERIOR SE REFIERA A OPERACIONES CUYO MONTO EXCEDA DE LA SUMA EQUIVALENTE A CIENTO OCHENTA (180) SALARIOS MINIMOS MENSUALES, SU CELEBRACION REQUERIRA LA APROBACION PREVIA DEL CONSEJO SUPERIOR.

CERTIFICA:

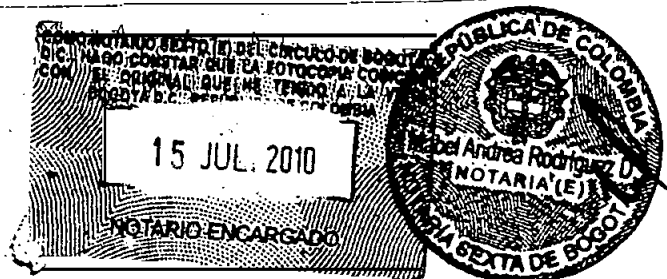
** REVISOR FISCAL **

QUE POR ACTA NO. 0000071 DEL 2 DE SEPTIEMBRE DE 1993, INSCRITA EL 29 DE SEPTIEMBRE DE 1993 BAJO EL NUMERO 00005175 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S) :

NOMBRE	IDENTIFICACION
REVISOR FISCAL	
RINCON FANDIÑO MIGUEL ALFONSO	C.C. 000000002877024

CERTIFICA:

DE CONFORMIDAD CON LO ESTABLECIDO POR LA LEY 962 DE 2005, LOS ACTOS DE REGISTRO AQUI CERTIFICADOS QUEDAN EN FIRME CINCO (5) DIAS HABILES DESPUES DE LA FECHA DE INSCRIPCION, SIEMPRE QUE NO SEAN OBJETO DE RECURSOS EN LA VIA GUBERNATIVA.





01



* 9 4 7 1 9 8 3 9 *

LG

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

12 DE JULIO DE 2010

HORA 16:09:43

R028844095

PAGINA: 3 de 3

*** EL PRESENTE CERTIFICADO NO CONSTITUYE PERMISO DE ***
*** FUNCIONAMIENTO EN NINGUN CASO ***

SEÑOR EMPRESARIO, SI SU EMPRESA TIENE ACTIVOS INFERIORES A 30.000 SMLMV Y UNA PLANTA DE PERSONAL DE MENOS DE 200 TRABAJADORES, USTED TIENE DERECHO A RECIBIR UN DESCUENTO EN EL PAGO DE LOS PARAFISCALES DE 75% EN EL PRIMER AÑO DE CONSTITUCION DE SU EMPRESA, DE 50% EN EL SEGUNDO AÑO Y DE 25% EN EL TERCER AÑO. LEY 590 DE 2000 Y DECRETO 525 DE 2009.

RECUERDE INGRESAR A www.supersociedades.gov.co PARA VERIFICAR SI SU EMPRESA ESTA OBLIGADA A REMITIR ESTADOS FINANCIEROS. EVITE SANCIONES.

EL SECRETARIO DE LA CAMARA DE COMERCIO,
VALOR : \$ 3,600

DE CONFORMIDAD CON EL DECRETO 2150 DE 1995 Y LA AUTORIZACION IMPARTIDA POR LA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO, MEDIANTE EL OFICIO DEL 18 DE NOVIEMBRE DE 1996, LA FIRMA MECANICA QUE APARECE A CONTINUACION TIENE PLENA VALIDEZ PARA TODOS LOS EFECTOS LEGALES

Esteban R

COMO NOTARIO SEXTO (E) DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. 15 DE JULIO DE 2010

15 JUL 2010

NOTARIO ENCARGADO



* * * NO ES VALIDO POR ESTA CARA * * *

17

83

CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ 8 - COLOMBIA

REPRESENTACION

REPRESENTATION

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

F. HOFFMANN - LA ROCHE AG

domiciliado (s) en/of Grenzachstrasse 124, Basel CH4070 Switzerland

Por el presente nombramos a CAVELIER ABOGADOS, sociedad colectiva constituida de conformidad con las leyes de la República de Colombia, mediante Escritura Pública No. 6233 del 10 de septiembre de 1974, otorgada en la Notaría Sexta del Circuito de Bogotá, domiciliada en Bogotá D.C., con matrícula mercantil No. 00820237 y NIT 860041367-3, domiciliada en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, como nuestra representante en todos los asuntos de Propiedad Industrial, con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

CAVELIER ABOGADOS también podrá representarnos, con las mismas facultades arriba indicadas, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, autoridades administrativas o jurisdiccionales, tribunales de arbitramento, en asuntos de naturaleza civil, comercial, penal, constitucional, competencia, competencia desleal, administrativa, contencioso administrativa, protección del consumidor, variedades vegetales, nombres de dominio, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, acciones de tutela, la protección de secretos industriales, derecho regulatorio y en general para que nos represente en cualesquiera acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan.

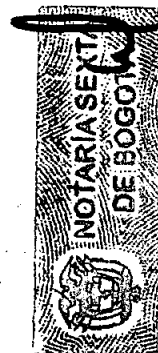
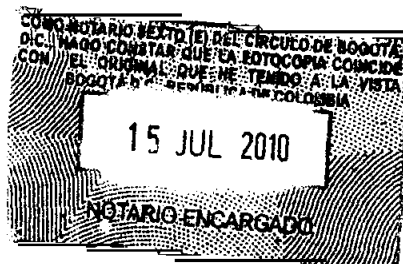
La representante podrá, en nuestro nombre, designar apoderados para actuar ante autoridades administrativas y judiciales, por vía extrajudicial y también procesalmente en nuestro nombre, como demandantes, como demandados, como litisconsortes, como agentes oficiosos, como terceros, por llamamiento en garantía o como intervinientes ad excludendum. Dentro de esta autorización, la representante podrá facultar a los apoderados que ella designe para transigir, conciliar,

© CAVELIER ABOGADOS

Do hereby appoint CAVELIER ABOGADOS, a general partnership organized under the laws of the Republic of Colombia by means of Public Deed No. 6233 of September 10, 1974, granted at Notary Sixth of the Bogota Circuit, domiciled in Bogota D.C., with Mercantile Registration No. 00820237 and Taxpayer Identification Number 860041367-3, domiciled at Carrera 4a N° 72-35, Bogota, Colombia, as our representative for all Industrial Property matters with faculty to receive notifications and appoint attorneys in and out of Court.

CAVELIER ABOGADOS may also represent us, with the same faculties stated above, before any entities or persons, with or without jurisdiction, administrative or jurisdictional authorities, courts of arbitration, in civil, commercial, criminal, constitutional, competition, unfair competition, administrative, administrative contentious, consumer protection, plant varieties, domain names, opposition or observation matters, administrative and Court cancellation, nullity, precautionary measures, licensing, action for writ mandamus, protection of trade secrets, regulatory law and in general represent us in any actions and suits instituted by us or against us.

The representative may, in our name, designate attorneys to act before administrative and judicial authorities, through out-of-court channels, and also procedurally in our name as plaintiff, defendant, joint litigant, representative without power of attorney, third party, when summoned to appear in court or as intervener ad excludendum. Under this authorization, the representative may empower the attorneys appointed thereby to compromise, conciliate, admit the facts of the



admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y sustituir el poder que se le otorgue. Así mismo, la representante tendrá la facultad para revocar el poder así otorgado en el momento que considere pertinente. La representante en todo caso podrá ratificar los actos de agentes oficiosos.

case, desist, cancel, receive, resign and substitute the power of attorney granted thereto. Likewise, the representative shall have the faculty of revoking the power of attorney thus granted at any time it may deem convenient. The representative may in any case ratify the acts of representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this May 12, 2010

En/in Basel, Switzerland

F. Hoffmann-La Roche AG

Por/by

[Signature]

Firma/Signature

Antonio Natoli

Beatrice Sievi

Holder of procuration Mandatory

Nota:

PARA SOCIEDADES

El documento de Representación deberá ser firmado por el representante legal de la compañía. Deberá ser presentado ante Notario Público para que certifique que la persona que firma es quien dice ser. La firma del señor Notario deberá ser legalizada.*

Adicionalmente deberá anexarse copia legalizada* del documento que pruebe la existencia y representación legal de la sociedad.

*La legalización podrá ser por Apostilla si el país del otorgante hace parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961 o ante el Cónsul de Colombia en caso contrario. Una sola legalización que incluya ambos documentos sería suficiente.

PARA PERSONAS NATURALES

El documento de Representación deberá ser firmado por el otorgante. El Notario Público deberá certificar que la persona que firma es quien dice ser.

Posteriormente el documento de Representación deberá ser legalizado por Apostilla si el país del otorgante hace parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961 o ante el Cónsul de Colombia en caso contrario.

Note:

FOR CORPORATIONS

The Representation document should be signed by the Legal Representative of the company. It should be produced before a Notary Public, who should certify that the person signing the same is in fact who he/she purports to be. The Notary's signature should then be legalized.*

In addition a legalized copy* of the document proving the existence and legal representation of the company should also be attached.

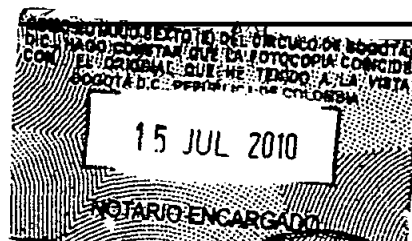
*Legalization may be made by Apostille if the issuing country is a member of the The Hague Convention of October 5, 1961, or before the Colombian Consulate if otherwise. A single legalization that would include both documents would be sufficient.

FOR INDIVIDUALS

The Representation should be signed by the grantor. The Notary Public should certify that the person signing is who he/she purports to be.

Subsequently, the Representation document should be legalized by Apostille if the issuing country is a member of the The Hague Convention of October 5, 1961 or before the Colombian Consulate if otherwise.

© CAVELIER ABOGADOS



CERTIFICACION NOTARIAL (SOCIEDAD)

El infrascrito Notario Certifica: Que la firma que antecede de _____
es auténtica; que el signatario desempeña actualmente el cargo de _____
de la compañía _____
sociedad que actualmente existe y está organizada de acuerdo a las leyes de _____
que la dirección de dicha compañía es _____
y que el signatario tiene facultad para otorgar este documento.
Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.
Dado y firmado en _____
El _____

NOTARIAL CERTIFICATION (COMPANY)

The undersigned Notary certifies: That the preceding signature of Mr. A. Natali and Ms B. Sievi is authentic, that the signatory currently acts in the position of Holder of procuration /Mandatory of the company F. Hoffmann - La Roche AG a company currently existing and organized under the laws of Switzerland that the address is Grenzacherstrasse 124, 4070 Basel (Switzerland) and that the signatory has the power to grant this document.
The Notary Public is aware and attests to the above facts upon examination of the corresponding documents.
Given and signed in Basel (Switzerland)
On 12th May, 2010

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country:
This public document
2. has been signed by
3. acting in the capacity of
4. bears the seal/stamp of

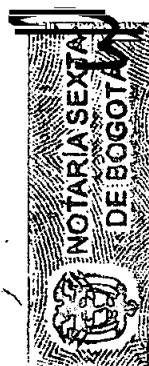
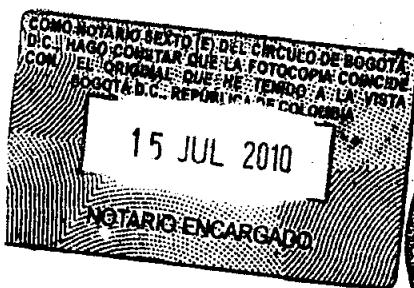
Certified

5. at 6. the
7. by
8. No.
9. Seal/stamp 10. Signature

© CAVELIER ABOGADOS

Dr. Christoph Nertz
Dr. Christoph Nertz
Notary Public

AP 78/2010



APOSTILLE
(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)
This official document

2. is signed by Dr. iur. Ch. Neri

3. in his/her function as notary public

4. and certified by the seal of the above-mentioned

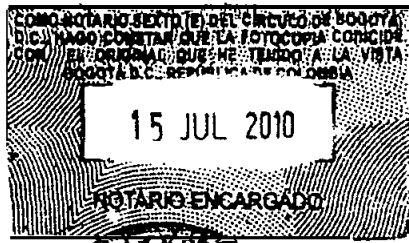
Certified

5. in Basel (Bâle) 6. on 17. Mai 2010

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. no. 3343/6547

9. Seal /stamp: 10. Signature: H. Lauener
Hanna Lauener



TRADUCCIÓN OFICIAL 185/2010 DE UN DOCUMENTO EN IDIOMA INGLÉS
 REALIZADA POR EDUARDO CALADO NOGUERA, TRADUCTOR OFICIAL
 APROBADO POR RESOLUCION 541 DEL 27 DE FEBRERO DE 1976
 EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA Y
 DEBIDAMENTE REGISTRADO ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES
 EXTERIORES DE COLOMBIA, POR EL CUAL F. HOFFMANN - LA ROCHE
 AG. DOMICILIADA EN GRENZACHERSTRASSE 124, BASEL CH4070, SUIZA
 OTORGA REPRESENTACIÓN EN ASUNTOS RELACIONADOS CON PROPIEDAD
 INDUSTRIAL A CAVELIER ABOGADOS.

DADO Y FIRMADO HOY 12 DE MAYO DE 2010 EN BASILEA, SUIZA.
 FIRMADO: ANTONIO NATOLI, APODERADO Y BEATRICE SIEVY,
 MANDATARIA.

CERTIFICACION NOTARIAL (COMPAÑIA)

El notario abajo firmante certifica que las firmas
 precedentes de A NATOLI y B. SIEVI apoderado y mandataria de
 la compañía F. HOFFMANN - LA ROCHE AG, una compañía
 actualmente existente y organizada de acuerdo con las leyes
 de Suiza y que su dirección es GRENZOCHERSTRASSE 124, 4070,
 BASILEA, SUIZA y que dichos signatarios poseen facultad para
 otorgar este documento.

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado
 los documentos respectivos y de todo ello da fe. Dado y
 firmado en BASILEA, SUIZA el 12 de mayo de
 Firmado: DR. CHRISTOPH NERTZ, notario público

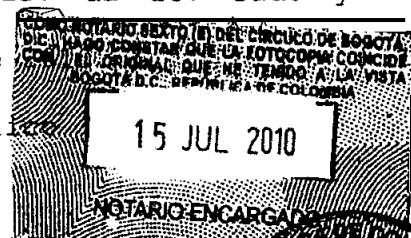
APOSTILLA

(CONVENCION DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961)

1. PAIS: SUIZA

2. Este documento público ha sido firmado por EL DR. N

Eduardo Calado N.
 EDUARDO CALADO NOGUERA
 TRADUCTOR OFICIAL
 Inglés - Español - Inglés



ESPACIO

EN

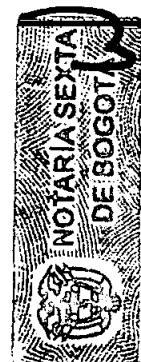
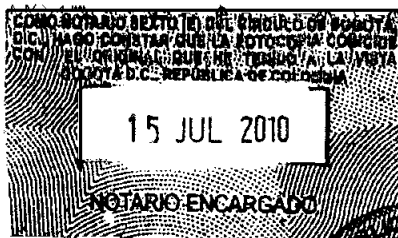
BLANCO

3. quien actúa en su calidad de NOTARIO PÚBLICO
4. y certificado por el sello arriba mencionado

CERTIFICADO

5. En BASILEA
 6. el 17 de mayo de 2010
 7. Por la cancillería del estado del Canton de la Ciudad de Basilea
 8. No. 3343/6547
 9. Sello/estampilla: CANCELLERIA DEL ESTADO, CIUDAD DE BASILEA
 10. Firma: HANNA LAUENER
- 278 palabras
- COLO-15277-841-001-8
- ECN\ECN\ID-174040\WPCL002G
- Bogotá, 8 de julio de 2010.

Eduardo Calado N.
Eduardo Calado Noguera
TRADUCTOR OFICIAL
Inglés - Español - Inglés
Res. 541 Febrero de 1976



RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

024265

Edmundo Ocampo
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
AS FUNCIONES INDICADAS

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2000 JUL -9 A 7:50

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

COMO NOTARIO SEPTIMO DEL CIRCULO DE BOGOTÁ
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTÁ D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

15 JUL 2010

NOTARIO ENCARGADO



7 700044 144908

3

22



documento de representación otorgado el día 12 de Mayo de 2010 por F. HOFFMANN-LA ROCHE AG, documento que está debidamente legalizado. -----

Presente la señora CARLOS ALBERTO GALLÓN GIRALDO, domiciliada en Bogotá, identificada como aparece al pie de su firma y manifestó que está conforme

con el contenido de esta escritura pública. -----

----- HASTA AQUI LAS DECLARACIONES DEL INTERESADO -----

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN. Leído, el presente instrumento público por el otorgante, dio su asentimiento y en prueba de ello lo firma junto con la suscrita Notaria quien en esta forma lo autoriza. -----

DERECHOS NOTARIALES: \$ 42.860 -----

IVA: \$ 15.887 -----

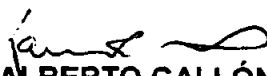
RECAUDO SUPERINTENDENCIA: \$3.570.00 -----

RECAUDO FONDO NACIONAL DE NOTARIADO: \$3.570.00 -----

RESOLUCIÓN 10301 DE DICIEMBRE 17 DE 2009 -----

PAPEL NOTARIAL: El presente instrumento público se extendió y firmó en las hojas de papel notarial números: 7 700044 144878 - 7 700044 144908 - -

EN BLANCO... EN BLANCO


CARLOS ALBERTO GALLÓN GIRALDO

C.C. 19026425

TEL. 3473611

Representante Legal de CAVELIER ABOGADOS



MABEL ANDREA RODRÍGUEZ DÍAZ
NOTARIA(O) SEXTA(O) (6) (E) DE BOGOTÁ, D.C.

T. CAVELIER Angelica PE

PAPEL DE USO EXCLUSIVO DEL PROTOCOLO NOTARIAL. NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO



ES FIEL Y SEGUNDA COPIA (FOTOCOPIA) TOMADA DE LA ESCRITURA PUBLICA
NUMERO 3571 DE FECHA 12 DE JULIO DE 2010. QUE EXPIDO CON DESTINO AL
INTERESADO EN 21 HOJAS RUBRICADAS EN SUS MARGENES CONFORME A LA
LEY.

BOGOTA, D.C. JULIO 15 DE 2010

RESOLUCION 01 DE 2008

POR LA NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C


MABEL ANDREA RODRIGUEZ DIAZ
NOTARIA ENCARGADA

Notaría
Sexta

6

DEL CIRCULO DE BOGOTA, D.C.

COPIA NUMERO 2

DE LA ESCRITURA NUMERO: 3657
FECHA: 15/Julio/2010

ACTO O CONTRATO:
PODER ESPECIAL
OTORGANTES:
CAVELIER ABOGADOS
JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL



CERTIFICADO SG 3980-1
PRESTACION DEL
SERVICIO PUBLICO
NOTARIAL
ISO 9001:2000
NTC-ISO 9001:2000



AMPARO QUINTERO ARTURO

NOTARIA SEXTA

CARRERA 9 No. 69-31 - PBX: 317 01 00 - FAX: 314 56 41
Correo Electrónico: notaria6debgta@etb.net.co

2b

PCT REQUEST

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	in relation to this international application CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i)		CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA is entitled as employer of the inventor, MORICHIKA, Toshiyuki
VIII-2-1(i)		CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA is entitled as employer of the inventor, KAMEOKA, Daisuke
VIII-2-1(i)		CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA is entitled as employer of the inventor, IMAEDA, Yoshimi
VIII-2-1(i)		CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA is entitled as employer of the inventor, MAEDA, Terutoshi

PCT REQUEST

VIII-2-2	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	in relation to this international application F. HOFFMANN-LA ROCHE AG is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-2(i)		F. HOFFMANN-LA ROCHE AG is entitled as employer of the inventor, STAUCH, Oliver Boris

25

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2009 年 7 月 9 日 (09.07.2009)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2009/084659 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 39/395 (2006.01) A61K 47/18 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2008/073798
- (22) 国際公開日: 2008 年 12 月 26 日 (26.12.2008)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2007-336310
2007 年 12 月 27 日 (27.12.2007) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 中外製薬株式会社 (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号 Tokyo (JP). エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・アーゲー (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) [CH/CH]; CH4070 パーゼル・グレンツァーヘルストラッセ 124 Basel (CH).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 森近 俊行 (MORICHIKA, Toshiyuki) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP). 亀岡 大介 (KAMEOKA, Daisuke) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP). 今枝 好美 (IMAEDA, Yoshimi) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP). 前田 照利 (MAEDA, Terutoshi) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号 中外製薬株式会社内 Tokyo (JP). シュタオ
- ヒオリバー ボリス (STAUCH, Oliver Boris) [DE/DE]; 79102 フライブルク、ツァジウス・シュトラッセ 49 Freiburg (DE).
- (74) 代理人: 小野 新次郎, 外 (ONO, Shinjiro et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 206 区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 規則 4.17 に規定する申立て:
— 出願し及び特許を与えられる出願人の資格に関する申立て (規則 4.17(ii))
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書

(54) Title: SOLUTION PREPARATION CONTAINING ANTIBODY AT HIGH CONCENTRATION

(54) 発明の名称: 高濃度抗体含有溶液製剤

(57) Abstract: A stable solution preparation containing an antibody, which is characterized by containing arginine and methionine, is provided as a stable antibody-containing preparation suitable for subcutaneous administration wherein dimer formation and deamidation are prevented during prolonged storage.

(57) 要約: 長期保存時の二量体生成や脱アミド化が抑制された、安定な、皮下投与に適した抗体含有製剤として、アルギニン及びメチオニンを含有することを特徴とする、安定な抗体含有溶液製剤を提供する。

WO 2009/084659 A1

SPECIFICATION

HIGH CONCENTRATION ANTIBODY-CONTAINING LIQUID FORMULATION

TECHNICAL FIELD

[0001] The present invention relates to an antibody-containing formulation, and particularly, to a stable liquid formulation containing a high concentration of an antibody.

BACKGROUND ART

[0002] In recent years, various antibody formulations have been developed and used in practice. Many such antibody formulations are used in intravenous injection. However, due to needs of a clinical site, there is an increasing demand for development of an antibody-containing formulation that can be administered as a self-injectable subcutaneous injection.

[0003] In designing an antibody-containing formulation for subcutaneous injection, since a dose of an antibody per administration is large (about 100 mg to 200 mg) and an amount of an injection solution is generally limited in subcutaneous injection, it is necessary to increase a concentration of an antibody in a liquid to be administered. In view of this, in many cases, high concentration formulations are used, which are prepared by the lyophilization-concentration technique, in which a lyophilized formulation is reconstituted in water having a volume smaller than that before lyophilization. However, a strong demand exists for a liquid formulation which does not require reconstitution, and which is easy to handle. Although an increase in a viscosity of a formulation due to addition of a cryoprotective agent such as a sugar in the production process of the lyophilized formulation is not preferred for formulations for subcutaneous injection, it is surmised that this problem could be avoided if the formulation were a liquid formulation.

[0004] Solutions containing a high concentration of an antibody tend to form solutions having a high viscosity due to macromolecular properties of proteins, and due to the intermolecular interactions of proteins. Further, in cases where a protein is stored in a form of a solution having a high concentration, problematic degradation occurs, which includes a

generation of insoluble and/or soluble aggregates; and it is necessary to prevent such degradation. Especially, in antibody formulations, associations are likely to be formed and insoluble aggregates are likely to be generated in a liquid state. In cases where a liquid formulation is stored for a long time, a problem exists in that a bioactivity of antibody molecules is lost due to deamidation of amino acid residues such as asparagine residues.

[0005] There have been proposed various ideas for providing a stabilized formulation, in which loss of an active component is small even after the formulation is stored for a long period of time. Such formulations are produced by dissolving an active component and various additives in a buffer solution. However, for liquid formulations containing a high concentration of an antibody, there does not yet exist a technology that is sufficient to prevent dimerization and deamidation.

[0006] A need to provide a high concentration antibody-containing formulation exists, in which dimerization and deamidation during long-term storage are inhibited, and which is both stable and suitable for use in subcutaneous administration.

DISCLOSURE OF THE INVENTION

PROBLEM TO BE SOLVED BY THE INVENTION

[0007] An object of the present invention is to provide a high concentration antibody-containing liquid formulation, in which dimerization and deamidation during long-term storage are inhibited, and which is stable and suitable for use in subcutaneous administration.

MEANS FOR SOLVING THE PROBLEM

[0008] The present inventors conducted intensive study with a view to attaining the above object, and as a result, discovered that a stable high concentration antibody-containing liquid formulation can be provided by adding an amino acid, arginine or a salt thereof, as a stabilizer, to thereby complete the present invention.

[0009] That is, the present invention provides the following:

(1) A stable antibody-containing liquid formulation, characterized by comprising arginine and methionine.

- (2) The formulation of (1) further comprising a histidine buffering agent.
- (3) The formulation of (1) or (2) further comprising a surfactant.
- (4) The formulation according to (1) to (3) containing the antibody in an amount of at least 50 mg/ml.
- (5) The formulation according to (1) to (3) containing the antibody in an amount of at least 100 mg/ml.
- (6) The formulation according to (1) to (3) containing the antibody in an amount of at least 120 mg/ml.
- (7) The formulation according to (1) to (6) wherein the antibody is an anti-IL-6 receptor antibody.
- (8) A stable liquid formulation containing an anti-IL-6 receptor antibody, characterized by comprising either arginine or methionine.
- (9) The formulation according to (1) to (8) wherein the antibody is a humanized antibody or human antibody.
- (10) The formulation according to (1) to (9) further comprising tryptophane.
- (11) The formulation according to (1) to (10) having the pH in the range from 4 to 8.
- (12) The formulation according to (1) to (11) wherein the arginine is present in an amount of from 50 to 1500mM.
- (13) The formulation according to (1) to (12) having a viscosity of from 2 to 15 mPa·s.
- (14) The formulation according to (1) to (13), which is stable at 22-28°C for at least 6 months.
- (15) The formulation according to (1) to (13), characterized in that dimerization of antibody molecules is inhibited.
- (16) The formulation according to (1) to (13), characterized in that deamidation of antibody molecules is inhibited.
- (17) The formulation according to (1) to (13), which is for subcutaneous administration.

(18) The formulation according to (1) to (13) which has not been subjected to lyophilization during preparation of the formulation.

(19) A method for inhibiting deamidation of molecules of an antibody in a liquid formulation containing the antibody, comprising adding arginine to the liquid formulation.

(20) A method for inhibiting dimerization of molecules of an antibody in a liquid formulation containing the antibody, comprising adding arginine and methionine to the liquid formulation.

ADVANTAGES OF THE INVENTION

[0010] By the present invention, a liquid formulation containing a high concentration of an antibody is provided, with which reformulation by concentration by lyophilization is not necessary, and hence does not require reconstitution. The antibody-containing liquid formulation according to the present invention can be stored in a liquid state for a long time. Since the antibody-containing liquid formulation according to the present invention can be produced by a process not including a lyophilization step, addition of a sugar or the like as a cryoprotective agent is not necessary.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0011] Fig. 1 shows a typical chromatogram of Example 1.

Fig. 2 shows evaluation results of the gel permeation chromatography (SEC) in Example 1.

Fig. 3 shows evaluation results of the gel permeation chromatography (SEC) in Example 1.

Fig. 4 shows a typical chromatogram of Example 2.

Fig. 5 shows evaluation results of the ion exchange chromatography (IEC) in Example 2.

Fig. 6 shows evaluation results of the ion exchange chromatography (IEC) in Example 2.

Fig. 7 shows evaluation results of the gel permeation chromatography (SEC) in Example 3.

Fig. 8 shows evaluation results of the ion exchange chromatography (IEC) in Example 3.

BEST MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION

[0012] The present invention will now be described in detail.

[0013] In the present invention, "antibody-containing liquid formulation" means a liquid formulation containing an antibody as an active component, which is prepared such that it can be administered to an animal such as human, and which is preferably produced by a process not including a lyophilization step.

[0014] The antibody-containing liquid formulation according to the present invention is a liquid pharmaceutical formulation containing an antibody at a high concentration, which preferably has an antibody concentration of not less than 50 mg/mL, more preferably not less than 100 mg/mL, still more preferably not less than 120 mg/mL, and yet more preferably not less than 150 mg/mL. It should be noted that a liquid formulation containing antibody at a concentration of 120 mg/mL or higher, or preferably 150 mg/mL or higher, has not been developed for commercial use. Namely, the present invention allows for the first time to put to use a liquid formulation containing antibody at this high concentration.

[0015] Further, considering the manufacturing process, the highest concentration of antibody in the liquid formulation according to the present invention may be typically 300 mg/mL, preferably 250 mg/mL and more preferably 200 mg/mL. Therefore, the antibody-containing liquid formulation according to the present invention preferably has an antibody concentration of from 50 to 300 mg/mL, more preferably from 100 to 300 mg/mL, still more preferably from 120 to 250 mg/mL, and yet more preferably from 150 to 200 mg/mL.

[0016] The antibody to be used in the present invention is not restricted as long as it binds to a desired antigen. The antibody can be either a polyclonal antibody or a monoclonal antibody, although a monoclonal antibody is preferred because an antibody having uniform properties can be produced stably.

[0017] A monoclonal antibody which can be used in the present invention includes not only

monoclonal antibodies originated from an animal such as human, mouse, rat, hamster, rabbit, sheep, camel or monkey, but also includes artificially modified recombinant antibodies such as chimeric antibody, humanized antibody and bispecific antibody. The immunoglobulin class of the antibody is not restricted, and can be any of the classes including IgGs such as IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4, IgA, IgD, IgE and IgM. Among these classes, IgG and IgM are preferred.

[0018] The antibody which can be used in the present invention includes not only whole antibodies, but also antibody fragments such as Fv, Fab and F(ab)₂; and low molecular weight antibodies such as single chain Fv (scFv, sc(Fv)₂, diabodies such as scFv dimer) having one or more specificities, prepared by binding the variable regions of an antibody through a linker such as a peptide linker.

[0019] The above-described antibodies which can be used in the present invention can be prepared by methods well known to those skilled in the art.

[0020] A hybridoma producing a monoclonal antibody can be prepared as follows basically utilizing a known technique. That is, the hybridoma can be prepared by immunizing an animal with a desired antigen or cells expressing the desired antigen as a sensitizing antigen by a standard method; fusing the obtained immunocytes with known parent cells by a standard cell-fusion method; and screening a monoclonal antibody-producing cell (hybridoma) by a standard screening method. Preparation of a hybridoma can be carried out by, for example, the method according to the method by Milstein et al (Kohler, G. and Milstein, C., Methods Enzymol. (1981) 73: 3-46). In cases where the immunogenicity of the antigen is low, the antigen can be bound to an antigenic macromolecule such as albumin, and the resulting conjugate can be used as an immunogen.

[0021] Recombinant antibodies can be employed, which are prepared by the genetic recombination technique in which an antigen gene is cloned from a hybridoma, incorporating the gene into an appropriate vector, introducing the vector into a host, and making the host produce the antibody (see, for example, Carl, A. K. Borrebaeck, James, W. Larrick, THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES, Published in the United Kingdom by

MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990). More specifically, a cDNA encoding the variable region (V region) in the antibody is synthesized from the mRNA of a hybridoma using a reverse transcriptase. If a DNA encoding the V region of the desired antibody is obtained, the DNA is then ligated to a DNA encoding the constant region (C region) of a desired antibody, and the resulting ligated DNA is introduced into an expression vector. Alternatively, a DNA encoding the V region of the antibody can be incorporated into an expression vector containing the DNA encoding the C region of the antibody. The DNA is incorporated into the expression vector such that the DNA is expressed under the control of an expression-controlling region such as enhancer or promoter. Host cells are then transformed with the resulting expression vector, and the antibody can be expressed by the host cells.

[0022] In the present invention, recombinant antibodies artificially modified for the purpose of reducing the heteroantigenicity to human, such as chimeric antibodies and humanized antibodies can be used. These modified antibodies can be produced by known methods. A chimeric antibody is an antibody comprising variable regions in the heavy chain and light chain in an antibody of an animal other than human, such as mouse, and constant regions in the heavy chain and light chain in an antibody of human, and can be obtained by ligating a DNA encoding the variable region in the mouse antibody with a DNA encoding the constant region in the human antibody, incorporating the obtained DNA into an expression vector, introducing the expression vector into a host, and making the host produce the antibody.

[0023] Humanized antibody is also called reshaped human antibody, and is obtained by transplanting the CDR (complementarity determining region) of, for example, a mouse antibody to the complementarity determining region of a human antibody. A standard genetic recombination technique for preparing the humanized antibody is also known. Specifically, a DNA designed such that the CDR of the mouse antibody and the framework region (FR) of the human antibody are ligated is synthesized by PCR method from several oligonucleotides prepared so as to have overlapping regions at their terminals. The obtained DNA is ligated to a DNA encoding the constant region of a human antibody, and the

resulting DNA is introduced into an expression vector. The expression vector is introduced into a host, and the host is made to produce the humanized antibody (see EP 239400 A and WO 96/02576). As the FR of the human antibody to be ligated through CDR, one of which complementarity determining region forms a good antigen-binding site is selected. As required, an amino acid(s) in the complementarity determining region can be substituted so that the complementarity determining region of the reshaped human antibody forms an appropriate antigen-binding site (Sato, K. et al., Cancer Res. (1993) 53, 851-856).

[0024] Methods for obtaining a human antibody are known in the art. For example, a desired human antibody having a binding activity to a desired antigen can be obtained by sensitizing, *in vitro*, human lymphocytes with the desired antigen or with the cells expressing the desired antigen; fusing the sensitized lymphocytes with human myeloma cells, for example, U266 cells; and obtaining the antibody from the cells (see JP 1-59878 B). The desired human antibody can also be obtained by immunizing a transgenic animal having all repertoires of human antibody genes with the antigen (see WO 93/12227, WO 92/03918, WO 94/02602, WO 94/25585, WO 96/34096 and WO 96/33735). Further, a technique by which a human antibody is obtained by panning using a human antibody library is also known. For example, a variable region of a human body is expressed in the form of a single chain antibody (scFv) on the surface of a phage by use of a phage display method, and the phage which binds to the antigen can be selected. By analyzing the gene of the selected phage, the DNA sequence coding for the variable region of the human antibody which binds to the antigen can be determined. If the DNA sequence of the scFv which binds to the antigen is determined, an appropriate expression vector containing the sequence is constructed, and the humanized antibody can be obtained. These methods are well known, and WO 92/01047, WO 92/20791, WO 93/06213, WO 93/11236, WO 93/19172, WO 95/01438 and WO 95/15388 can be referred to.

[0025] In cases where an antibody gene is once isolated, and the gene is introduced into an appropriate host so as to prepare the antibody, appropriate combinations of the host and expression vector can be used. In cases where eukaryotic cells are used as the host, animal

cells, plant cells and fungal cells can be used. Known animal cells include (1) mammalian cells, for example, CHO, COS, myeloma, BHK (baby hamster kidney), Hela and Vero; (2) amphibian cells, for example, *Xenopus* oocytes and (3) insect cells, for example, sf9, sf21 and Tn5. Known plant cells include cells originated from plants belonging to the genus *Nicotiana*, for example, *Nicotiana tabacum*, and the cells can be subjected to callus culture. Known fungal cells include the cells originated from yeasts, for example, those belonging to the genus *Saccharomyces* such as *Saccharomyces cerevisiae*; and filamentous bacteria, for example, those belonging to the genus *Aspergillus* such as *Aspergillus niger*. In cases where prokaryotic cells are used, there are production systems using bacterial cells. Known bacterial cells include *E. coli* cells and *Bacillus subtilis* cells. The antibody is obtained by introducing a desired antibody gene into these cells by transformation, and culturing the transformed cells *in vitro*.

[0026] Antibodies in the form of antibody fragments, low molecular weight antibodies and modified antibodies can also be employed as the antibody in the present invention.

Examples of the antibody fragments and low molecular weight antibodies include Fab, F(ab')₂, Fv, and single chain Fv (scFv, sc(Fv)₂ and the like) having one or more specificities, prepared by ligating the Fvs in the H-chain and L-chain through an appropriate linker (Huston, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85, 5879-5883). Specifically, an antibody is treated with papain or pepsin to generate antibody fragments, or a gene encoding these antibody fragments is constructed, and the gene is expressed in appropriate host cells after introducing the gene into an expression vector (see, for example, Co, M. S. et al., T. Immunol. (1994) 152, 2968-2976 ; Better, M. and Horwitz, A. H., Methods Enzymol. (1989) 178, 476-496; Pluckthun, A. and Skerra, A., Methods Enzymol. (1989) 178, 497-515 ; Lamoyi, E., Methods Enzymol, (1986) 121, 652-663 ; Rousseaux, J. et al., Methods Enzymol. (1986) 121, 663-669 ; Bird, R. E. and Walker, B. W., Trends Biotechnol. (1991) 9, 132-137.

[0027] Antibodies bound to various molecules such as polyethylene glycol (PEG) can also be used as modified antibodies. The term "antibody" used in the present invention also

includes these modified antibodies. These modified antibodies can be obtained by chemically modifying an obtained antibody. Methods for carrying out the modifications are established in the art.

[0028] Examples of the antibody contained in the formulation according to the present invention include, but not limited to, anti-tissue factor antibodies, anti-IL-6 receptor antibodies, anti-IL-6 antibodies, HM1.24 antigen monoclonal antibodies, anti-parathyroid hormone-related peptide antibodies (anti-PTHrP antibodies), anti-glypican-3 antibodies, anti-ganglioside GM3 antibodies, anti-TPO receptor antagonist antibodies, factor VIII-substituting antibodies, anti-CD3 antibodies, anti-CD20 antibodies, anti-GPIIb/IIIa antibodies, anti-TNF antibodies, anti-CD25 antibodies, anti-EGFR antibodies, anti-Her2/neu antibodies, anti-RSV antibodies, anti-CD33 antibodies, anti-CD52 antibodies, anti-IgE antibodies, anti-CD11a antibodies, anti-VEGF antibodies, anti-VLA4 antibodies, anti-AXL antibodies, and so on.

[0029] Preferred examples of the reshaped human antibodies used in the present invention include humanized anti-interleukin (IL-6) receptor antibodies (hPM-1 or MRA) (see WO 92-19759), humanized anti-HM1.24 antigen monoclonal antibodies (see WO 98-14580), humanized anti-parathyroid hormone-related peptide antibodies (anti-PTHrP antibodies) (see WO 98-13388), humanized anti-tissue factor antibodies (see WO 99-51743) and anti-glypican-3 humanized IgG1 κ antibodies (see PCT/JP05/013103). The humanized antibodies especially preferred in the present invention are humanized anti-IL-6 receptor antibodies.

[0030] As the human IgM antibodies, anti-ganglioside GM3 recombinant human IgM antibodies (see WO 05-05636) and the like are preferred.

[0031] As the low molecular weight antibodies, anti-TPO receptor antagonist diabodies (see WO 02-33072), anti-CD47 agonist diabodies (see WO 01-66737) and the like are preferred.

[0032] To evaluate the shelf stability of the high concentration antibody-containing liquid formulation, the present inventors studied the effects of various additives by conducting heat acceleration tests and light acceleration tests. As a result, it was found that in solutions in

which a high concentration of antibody was dissolved in a buffer solution containing the amino acid arginine, the amount of generated dimer was smaller than that in solutions to which arginine was not added. From these results, it was found that arginine is effective as a stabilizer for inhibiting dimerization. Further, in solutions in which a high concentration of antibody was dissolved in a buffer solution containing arginine and methionine, the inhibitory effect against dimerization was observed at a total concentration of arginine and methionine which is lower than the concentration of arginine alone needed for attaining the same inhibitory effect. From these results, it was found that a synergistic effect is obtained by the addition of arginine and methionine in combination. Further, it was found that deamidation of the antibody molecules is inhibited by the addition of arginine. These results are exemplified as test results obtained for a sample containing a humanized anti-IL-6 receptor antibody at a concentration of 180mg/ml.

[0033] Thus, by adding arginine as a stabilizer, a stable antibody formulation can be provided, in which dimerization of the antibody is reduced and deamidation of the antibody is prevented. Therefore, a first aspect of the present invention is characterized by adding arginine to a solution, whereby dimerization or deamidation of the antibody molecules is inhibited in the resulting antibody-containing liquid formulation. Accordingly, an embodiment as a stable antibody-containing liquid formulation is characterized in that it contains an antibody and arginine in a buffer solution. Further, as described above, an antibody-containing liquid formulation of the present invention can additionally contain methionine in the solution, with a synergistic effect being obtained by use of arginine and methionine in combination. Therefore, a second aspect of the present invention is characterized by adding arginine and methionine to a solution, whereby dimerization, in particular, of the antibody molecules is inhibited in the resulting antibody-containing liquid formulation. Accordingly, an embodiment as a stable antibody-containing liquid formulation is characterized in that it contains an antibody, arginine and methionine in a buffer solution.

[0034] As the arginine used in the present invention, any of the arginine compound *per se*,

derivatives thereof and salts thereof can be used. L-arginine and salts thereof are preferred. As the methionine used in the present invention, any of the methionine compound *per se*, derivatives thereof and salts thereof can be used. L-methionine and salts thereof are preferred.

[0035] In cases where the antibody-containing liquid formulation according to the present invention contains arginine and does not contain methionine, the concentration of arginine is preferably 50 to 1500 mM, more preferably 100 to 1000 mM, still more preferably 200 to 700 mM. In cases where the antibody-containing liquid formulation according to the present invention contains arginine and methionine, the total concentration of arginine and methionine is preferably 50 to 1200 mM, for example, preferably, the arginine concentration is 40 to 1000 mM and the methionine concentration is 10 to 200 mM; more preferably, the arginine concentration is 50 to 700 mM and the methionine concentration is 10 to 100 mM; and still more preferably, the arginine concentration is 100 to 300 mM, and the methionine concentration is 10 to 50 mM.

[0036] The buffer solution is prepared using a buffering agent which is a substance for maintaining a pH of the solution. In a high concentration antibody-containing liquid formulation according to the present invention, a pH of the formulation is preferably 4 to 8, more preferably 5.0 to 7.5, still more preferably 5.5 to 7.2, and still more preferably 6.0 to 6.5. A buffering agent which can be used in the present invention is one which can adjust the pH in this range and which is pharmaceutically acceptable. Such a buffering agent is known by those skilled in the art, and examples thereof include inorganic salts such as phosphoric acid salts (sodium or potassium) and sodium hydrogen carbonate; organic acid salts such as citric acid salts (sodium or potassium), sodium acetate and sodium succinate; and acids such as phosphoric acid, carbonic acid, citric acid, succinic acid, malic acid and gluconic acid. Further, Tris buffers, Good's buffers such as MES, MOPS and HEPES, histidine (e.g., histidine hydrochloric acid salt) and glycine can also be used. In the high concentration antibody-containing liquid formulation according to the present invention, the buffer is preferably a histidine buffer or glycine buffer, and a histidine buffer is especially preferred.

The concentration of the buffer solution is generally 1 to 500 mM, preferably 5 to 100 mM, still more preferably 10 to 20 mM. In cases where a histidine buffer is used, the buffer solution contains histidine at a concentration of preferably 5 to 25 mM, more preferably 10 to 20 mM.

[0037] For the "stable" high concentration antibody-containing liquid formulation according to the present invention, significant change is not observed when it is stored at a refrigeration temperature (2 to 8°C) for at least 12 months, preferably for 2 years, and more preferably for 3 years; or when it is stored at room temperature (22 to 28°C) for at least 3 months, preferably 6 months, and more preferably 1 year. For example, sum amount of dimers and degradation products in the formulation when it is stored at 5°C for 2 years is 5.0% or lower, preferably 2% or lower, and more preferably 1.5% or lower; or sum amount of dimers and degradation products in the formulation when it is stored at 25°C for 6 months is 5.0% or lower, preferably 2% or lower, and more preferably 1.5% or lower.

[0038] The formulation according to the present invention can further contain a surfactant.

[0039] Typical examples of the surfactant include nonionic surfactants, for example, sorbitan fatty acid esters such as sorbitan monocaprylate, sorbitan monolaurate and sorbitan monopalmitate; glycerin fatty acid esters such as glycerol monocaprylate, glycerol monomyristate and glycerol monostearate; polyglycerol fatty acid esters such as decaglyceryl monostearate, decaglyceryl distearate and decaglyceryl monolinoleate; polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters such as polyoxyethylene sorbitan monolaurate, polyoxyethylene sorbitan monooleate, polyoxyethylenesorbitan monostearate, polyoxyethylene sorbitan monopalmitate, polyoxyethylene sorbitan trioleate and polyoxyethylene sorbitan tristearate; polyoxyethylene sorbitol fatty acid esters such as polyoxyethylene sorbitol tetrastearate and polyoxyethylene sorbitol tetra oleate; polyoxyethylene glycerin fatty acid esters such as polyoxyethylene glyceryl monostearate; polyethylene glycol fatty acid esters such as polyethylene glycol distearate; polyoxyethylene alkyl ethers such as polyoxyethylene lauryl ether; polyoxyethylene polyoxypropylene alkyl ethers such as polyoxyethylene polyoxypropylene glycol ether, polyoxyethylene polyoxypropylene propyl ether and

polyoxyethylene polyoxypropylene cetyl ether; polyoxyethylene alkyl phenyl ethers such as polyoxyethylene nonylphenyl ether; polyoxyethylene hardened castor oils such as polyoxyethylene castor oil and polyoxyethylene hardened castor oil (polyoxyethylene hydrogenated castor oil); polyoxyethylene bees wax derivatives such as polyoxyethylene sorbitol bees wax; polyoxyethylene lanolin derivatives such as polyoxyethylene lanolin; surfactants having an HLB of 6 to 18 such as polyoxyethylene fatty acid amides, for example, polyoxyethylene octadecanamide; anionic surfactants, for example, alkyl sulfate salts having a C₁₀-C₁₈ alkyl group, such as sodium cetyl sulfate, sodium lauryl sulfate and sodium oleyl sulfate; polyoxyethylene alkyl ether sulfate salts in which the average number of moles of the added ethylene oxide units is 2 to 4 and the number of carbon atoms of the alkyl group is 10 to 18, such as polyoxyethylene sodium lauryl sulfate; alkyl sulfosuccinate salts having a C₈-C₁₈ alkyl group, such as sodium lauryl sulfosuccinate; natural surfactants such as lecithin and glycerophospholipids; sphingophospholipids such as sphingomyelin; and sucrose esters of C₁₂-C₁₈ fatty acids. These surfactants can be added to the formulation of the present invention individually, or two or more of these surfactants can be added in combination.

[0040] Preferred surfactants are polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters and polyoxyethylene polyoxypropylene alkyl ethers, and especially preferred are polysorbates 20, 21, 40, 60, 65, 80, 81 and 85, and Pluronic type surfactants, and most preferred are polysorbates 20 and 80, and Pluronic F-68 (Poloxamer 188).

[0041] The amount of the surfactant(s) to be added to the antibody formulation according to the present invention is generally 0.0001 to 10% (w/v), preferably 0.001 to 5%, more preferably 0.005 to 3%.

[0042] In another aspect of the present invention, the formulation according to the present invention is preferably substantially composed of the following components:

- A) anti-IL-6 receptor antibody;
- B) arginine and/or methionine, and additional other amino acid(s) (e.g., tryptophan) as an optional additional component(s);
- C) buffering agent(s); and

D) surfactant(s).

[0043] The term "substantially composed of" herein means that a component other than the components usually added to formulations is not contained, the components usually added to formulations being the optional additive components described below, such as suspending agents, solubilizing agents, isotonic agents, preservatives, adsorption inhibitors, diluents, vehicles, pH-adjusters, soothing agents, sulfur-containing reducing agents and antioxidants.

[0044] The above-described "B) arginine and/or methionine, and additional other amino acid(s) (e.g., tryptophan) as an optional additional component(s)" is meant to include the cases where the formulation contains (b-1) arginine; (b-2) arginine and methionine; and (b-3) methionine; respectively, as an amino acid additive(s), and further include the cases where the formulation additionally contains other amino acid(s). Preferred example of the other amino acid(s) is tryptophan. As the tryptophan, any of the tryptophan compound *per se*, derivatives thereof and salts thereof can be used. L-tryptophan and salts thereof are preferred.

[0045] As required, a suspending agent, solubilizing agent, isotonic agent, preservative, adsorption inhibitor, diluent, vehicle, pH-adjuster, soothing agent, sulfur-containing reducing agent, antioxidant and the like can be added to the formulation according to the present invention.

[0046] Examples of the suspending agent include methyl cellulose, polysorbate 80, hydroxyethyl cellulose, gum arabic, powdered tragacanth, sodium carboxymethylcellulose and polyoxyethylene sorbitan monolaurate.

[0047] Examples of the solubilizing agent include, polyoxyethylene hydrogenated castor oil, polysorbate 80, nicotinamide, polyoxyethylene sorbitan monolaurate, macrogol and castor oil fatty acid ethyl ester.

[0048] Examples of the isotonic agent include sodium chloride, potassium chloride and calcium chloride.

[0049] Examples of the preservative include methyl *p*-hydroxybenzoate, ethyl *p*-hydroxybenzoate, sorbic acid, phenol, cresol and chlorocresol.

[0050] Examples of the adsorption inhibitor include human serum albumin, lecithin, dextran, ethyleneoxide-propylene oxide copolymer, hydroxypropylcellulose, methyl cellulose, polyoxyethylene hydrogenated castor oil and polyethylene glycol.

[0051] Examples of the sulfur-containing reducing agent include the compounds having a sulfhydryl group(s), such as N-acetylcysteine, N-acetyl homocysteine, thioctic acid, thiodiglycol, thioethanolamine, thioglycerol, thiosorbitol, thioglycolic acid and salts thereof, sodium thiosulfate, glutathione and C₁-C₇ thioalkanes.

[0052] Examples of the antioxidant include erythorbic acid, dibutylhydroxytoluene, butylated hydroxyanisole, α -tocopherol, tocopherol acetate, L-ascorbic acid and salts thereof, L-ascorbyl palmitate, L-ascorbyl stearate, sodium hydrogen sulfite, sodium sulfite, triamyl gallate, propyl gallate, and chelating agents such as disodium ethylenediaminetetraacetate (EDTA), sodium pyrophosphate and sodium metaphosphate.

[0053] The antibody-containing liquid formulation according to the present invention is usually administered through a parenteral route, for example, by injection (subcutaneous, intravenous, intramuscular injections or the like), percutaneous, transmucosal, transnasal or pulmonary administration, but it can also be administered orally. In subcutaneous injection, the dose of antibody per administration is large (about 100 to 200 mg) while the amount of the injection solution is limited, so that the formulation according to the present invention is especially suited for subcutaneous injection.

[0054] The osmotic pressure ratio of the antibody-containing liquid formulation according to the present invention is preferably about 0.5 to 4, more preferably about 0.7 to 2, and still more preferably about 1.

[0055] The viscosity of the antibody-containing liquid formulation according to the present invention is preferably about 2 to 15 mPa·s, more preferably about 4 to 10 mPa·s. It should be noted that the viscosity described herein is measured by a rotation viscometer method using a cone-plate type viscometer, in accordance with 2.53 Viscosity Determination / General Tests, the Japanese Pharmacopoeia, 15th edition.

[0056] As can be seen from the results of the examples described below, according to the

present invention, a stable liquid formulation can be obtained, in which dimerization and deamidation of the antibody during long-term storage are small, by adding to the formulation arginine alone, or arginine and methionine, or methionine alone.

[0057] As another aspect of the present invention, a method for inhibiting deamidation in antibody-containing liquid formulations is provided, the method comprising adding to the formulation arginine or a salt thereof.

[0058] As still another aspect of the present invention, a method for inhibiting dimerization of antibody in antibody-containing liquid formulations is provided, the method comprising adding to the formulation arginine and methionine.

[0059] In the above-described two methods, the antibody is preferably an anti-IL-6 receptor antibody, which is a humanized antibody or human antibody.

[0060] The present invention will now be described in more detail by way of the examples given below. However, the scope of the present invention is not restricted thereto.

[0061] [Examples]

Antibody Sample

The humanized anti-IL-6 receptor antibody was the humanized antibody prepared in accordance with the method described in Reference Example 2 in JP 8-99902 A using the human elongation factor I α promoter described in Example 10 in WO 92/19759. This antibody will occasionally be referred to as "MRA" in the tables in Examples.

EXAMPLE 1

[0062] Stabilizing Effects by Combination of Arginine and Methionine

Liquid formulations containing anti-IL-6 receptor humanized antibody were evaluated for an influence on stabilization of the formulations obtained by use of a combination of arginine and methionine.

[0063] In this study, to evaluate the effects by the combination of arginine and methionine, evaluation samples numbered A1 to A9 were prepared. Prescriptions for the evaluation samples were as follows:

[0064]

[Table 1-1]

[Prescriptions]

Sample No.	Antibody mg/mL	Arg mM	Met mM	Polysorbate 80 mg/mL	Histidine buffer mM	pH
A1	180	-	-	0.5	20	6.0
A2	180	50	-	0.5	20	6.0
A3	180	100	-	0.5	20	6.0
A4	180	150	-	0.5	20	6.0
A5	180	200	-	0.5	20	6.0
A6	180	300	-	0.5	20	6.0
A7	180	100	10	0.5	20	6.0
A8	180	100	30	0.5	20	6.0
A9	180	100	50	0.5	20	6.0

To evaluate stability of the liquid formulations, each sample was subjected to a heat acceleration test (stored at 40°C for 3 months and at 25°C for 6 months, respectively). The purity of the antibody before and after the heat acceleration test was evaluated by gel permeation chromatography (SEC). The analytical conditions were as follows:

[Gel Permeation Chromatography]

The sample was used as the solution to be measured as it was.

[0065] One microliter of the solution to be measured was subjected to liquid chromatography, and the peak areas of the peaks of dimer, monomer and low molecular weight degradation products (LMW) were measured by an automatic analytical method, and the amounts thereof (%) were determined.

[0066]

[Table 1-2]

Analytical Conditions

Column: TSKgel G3000SWx1 7.8 mm I. D. x 30 cm (TOSOH)

Mobile Phase: phosphate buffer, pH 7.0 (50 mmol/L phosphate buffer, pH 7.0, containing 300 mmol/L of sodium chloride and 0.05% sodium azide)

Amount of Injected Sample: about 180 µg in terms of humanized anti-IL-6 receptor antibody

Flow Rate: 1 mL/min

Detection Wavelength: 280 nm

[0067] [Formula 1]

Calculation Equation

Total Area of All Peaks = Peak Area of Monomer + Peak Area of Dimer + Peak Area of Low Molecular Weight Degradation Products (LMW)

Amount of Dimer (%) = (Peak Area of Dimer / Total Area of All Peaks) x 100

Amount of Low Molecular Weight Degradation Products (LMW) (%) = (Peak Area of Low Molecular Weight Degradation Products / Total Area of All Peaks) x 100

A typical chromatography is shown in Fig. 1.

[0068] The evaluation results obtained by the gel permeation chromatography (SEC) are shown in Table 1 and Figs. 2 and 3. As shown, the amount of dimer in the samples (Sample Nos. A2 to A6) to which arginine was added, after the acceleration at 40°C for 3 months and at 25°C for 6 months, respectively, was smaller than that in the sample (Sample No. A1) to which arginine was not added; and accordingly, the inhibitory effect of arginine against dimerization was confirmed. It was also confirmed that the amount of dimer was reduced proportionally to the amount of the arginine added. On the other hand, the amount of dimer in the samples (Sample Nos. A7 to A9) to which arginine (100 mM) and methionine were added, after the acceleration at 40°C for 3 months and at 25°C for 6 months, respectively,

was smaller than that in the samples (Sample Nos. A3 and A4) containing 150 mM of arginine, which concentration was about the same as the total concentration of the stabilizers; and the amount of dimer was about the same as in the sample (Sample No. A6) having an arginine concentration of 300 mM. These results are considered to indicate that a synergistic effect in the inhibition of dimerization is obtained by combining arginine and methionine.

[0069] Influence of arginine and methionine on the amount of low molecular weight degradation products was not observed.

[0070] [Table 1-3]

Table 1

	40°C-3months		25°C-6months	
	Dimer (%)	LMW (%)	Dimer (%)	LMW (%)
A1	2.70	1.25	1.88	0.48
A2	2.19	1.24	1.41	0.47
A3	2.00	1.34	1.33	0.49
A4	1.85	1.38	1.19	0.49
A5	1.62	1.37	1.09	0.49
A6	1.53	1.46	0.99	0.50
A7	1.58	1.29	1.11	0.45
A8	1.52	1.21	1.07	0.47
A9	1.48	1.32	1.03	0.47

EXAMPLE 2

[0071] Inhibitory Effect by Arginine against Deamidation

Liquid formulations containing anti-IL-6 receptor humanized antibody were evaluated for influence on the deamidation by arginine.

[0072] In this study, evaluation samples numbered A10 to A15 and numbered A16 to A18,

containing different amounts of arginine and methionine, respectively, were prepared.

Prescriptions for the evaluation samples were as follows:

[0073] [Table 2-1]

[Prescriptions]

Sample No.	Antibody mg/mL	Arg mM	Met mM	Polysorbate 80 mg/mL	Histidine buffer mM	pH
A10	180	-	-	0.5	20	6.0
A11	180	50	-	0.5	20	6.0
A12	180	100	-	0.5	20	6.0
A13	180	150	-	0.5	20	6.0
A14	180	200	-	0.5	20	6.0
A15	180	300	-	0.5	20	6.0
A16	180	-	10	0.5	20	6.0
A17	180	-	30	0.5	20	6.0
A18	180	-	50	0.5	20	6.0

To evaluate the stability of the liquid formulations, each sample was subjected to a heat acceleration test (stored at 40°C for 3 months and at 25°C for 6 months, respectively). The purities of the antibody before and after the heat acceleration test were evaluated by ion-exchange chromatography (IEC). The analytical conditions were as follows:

[Ion-exchange Chromatography]

To each sample, purified water was added to adjust the amount of the humanized anti-IL-6 receptor antibody to about 1 mg in 1 mL of the sample, and the resulting sample was used as the sample to be measured.

[0074] Thirty microliters of the sample solution was subjected to liquid chromatography, and the peak areas of the peaks of MRA Pre, MRA Main, MRA Sub-1,MRA Sub-2, MRA R-1, 1Q(H)-MRA, 2Q(H)-MRA and other related substances (Others) were measured by an

automatic analytical method, and the amounts thereof (%) were determined by an area percentage method.

[0075] MRA Pre indicates the total of the peaks of the substances each eluted after a retention time shorter than that of the main component, and a plurality of degradation products, mainly deamidation products of humanized anti-IL-6 receptor antibody, was included. When the production amount of this Pre peak was small, inhibition of deamidation of the antibody is indicated.

[0076] [Table 2-2]

Analytical Conditions

Column: ProPac WCX-10 4 x 250 mm (DIONEX)

Mobile Phase: Solution A: 25 mmol/L MES buffer solution, pH 6.1

Mobile Phase: Solution B: 25 mmol/L MES buffer solution, pH 6.1 (containing 250 mmol/L of sodium chloride)

Amount of Injected Sample: about 30 μ g in terms of humanized anti-IL-6 receptor antibody

Flow Rate: 0.5 mL/min

Detection Wavelength: 280 nm

[0077] [Formula 2]

Calculation Equation

Total Area of All Peaks = Grand Total of Total Area of MRA Pre Peaks + Peak Area of MRA Main + Peak Area of MAR Sub-1 + Peak Area of MAR Sub-2 + Peak Area of MAR Sub-3 + Peak Area of MAR R-1 + Total Area of 1Q(H)-MRA Peaks + Total Area of 2Q(H)-MRA Peaks + Peak Area of Others

Amount of MRA Pre (%) = (Total Area of MRA Pre Peaks/Total Area of All Peaks) x 100

A typical chromatography is shown in Fig. 4. MRA Pre indicates the total of the

peaks of the substances appearing earlier than that of the main component.

[0078] Evaluation results of the ion-exchange chromatography are shown in Table 2 and Figs. 5 and 6. As shown, the amount of Pre peaks in the samples (Sample Nos. A11 to A15) to which arginine was added, after the acceleration at 40°C for 3 months and at 25°C for 6 months, respectively, was smaller than that in the sample (Sample No. A10) to which arginine was not added; and accordingly, the inhibitory effect of arginine against the generation of Pre peaks was confirmed. It was also confirmed that the amount of Pre peaks was reduced proportionally to an amount of arginine added. On the other hand, the amount of Pre peaks in the samples (Sample Nos. A16 to A18) to which methionine was added, after the acceleration at 40°C for 3 months and at 25°C for 6 months, respectively, was similar to the sample (Sample No. A10) to which arginine was not added; and accordingly, influence of the addition of methionine was not observed.

[0079] [Table 2-3]

Table 2		
	Pre peak (%)	
	40°C-3months	25°C-6months
A10	56.2	32.3
A11	51.3	30.3
A12	50.7	29.3
A13	49.0	28.7
A14	47.8	28.5
A15	47.0	27.9
A16	55.7	31.2
A17	55.0	31.2
A18	55.3	31.4

EXAMPLE 3

[0080] Stabilizing Effects by Combination of Arginine and Methionine (2)

As in Example 1, liquid formulations containing anti-IL-6 receptor humanized antibody were evaluated for influence on stabilization of the formulations obtained by use of a combination of arginine and methionine.

[0081] In this study, to evaluate effects of the combination of arginine and methionine, evaluation samples numbered A19 to A27 were prepared. Prescriptions for the evaluation samples were as follows:

[0082] [Table 3-1]

[Prescriptions]

Sample No.	Antibody mg/mL	Arg mM	Met mM	Polysorbate 80 mg/mL	Histidine buffer mM	pH
A19	180	-	-	0.5	20	6.0
A20	180	50	-	0.5	20	6.0
A21	180	100	-	0.5	20	6.0
A22	180	150	-	0.5	20	6.0
A23	180	200	-	0.5	20	6.0
A24	180	300	-	0.5	20	6.0
A25	180	100	10	0.5	20	6.0
A26	180	100	30	0.5	20	6.0
A27	180	100	50	0.5	20	6.0

To evaluate the stability of the liquid formulations, each sample was subjected to a light acceleration test (total illuminance 1,200,000 lux and total near-ultraviolet radiation energy: 200 W·h/m²). The purities of the antibody before and after the light acceleration test were evaluated by gel permeation chromatography (SEC) and ion exchange chromatography (IEC) as in Examples 1 and 2.

[0083] The evaluation results by the gel permeation chromatography (SEC) are shown in

Table 3 and Fig 7. As shown, the amount of dimer in the samples (Sample Nos. A20 to A24) to which arginine was added, after the light acceleration test was smaller than that in the sample (Sample No. A19) to which arginine was not added; and accordingly, the inhibitory effect of arginine against dimerization was confirmed. It was also confirmed that the amount of dimer was reduced proportionally to an amount of arginine added. On the other hand, the amount of dimer in the samples (Sample Nos. A25 to A27) to which arginine (100 mM) and methionine were added, after the light acceleration test was smaller than that in the sample (Sample No. A22) containing 150 mM of arginine, which concentration was about the same as the total concentration of the stabilizers; and the amount of dimer was smaller than in the samples (Sample Nos. A23 and A24) having arginine concentrations of 200 mM and 300 mM, respectively. These results are thought to indicate that a synergistic effect in the inhibition of dimerization is obtained by combining arginine and methionine.

[0084] Influence of arginine and methionine on the amount of low molecular weight degradation products was not observed.

[0085] [Table 3-2]

Table 3		
	1,200,000lux + 200 W · h/m ²	
	Dimer (%)	LMW (%)
A19	6.95	0.22
A20	6.75	0.24
A21	5.78	0.21
A22	5.08	0.19
A23	4.73	0.18
A24	4.13	0.18
A25	5.27	0.19
A26	4.05	0.17
A27	3.84	0.16

Next, the evaluation results by the ion exchange chromatography (IEC) are shown in Table 4 and Fig 8.

[0086] As shown, the amount of Pre peak in the samples (Sample Nos. A20 to A24) to which arginine was added, after the light acceleration test was smaller than that in the sample (Sample No. A19) to which arginine was not added; and accordingly, the inhibitory effect of arginine against formation of Pre peak was confirmed. Further, it was confirmed that as the amount of arginine increases, the production amount of Pre peak decreases proportionately. On the other hand, the amount of dimer after the light acceleration test in the samples (Sample Nos. A25 to A27) to which methionine was further added to arginine (100 mM) was smaller than that in the sample (Sample No. A22) containing 150 mM of arginine, which concentration was about the same as the total concentration of the stabiliz ers; and it was smaller than in the samples (Sample Nos. A23 and A24) having arginine concentrations of 200 mM and 300 mM, respectively. These results are thought to indicate that a synergistic effect in the inhibition of formation of Pre peak by the combination of arginine and methionine.

[0087] [Table 4]

	Pre peak (%)
	1,200,000lux + 200 W · h/m ²
A19	39.2
A20	38.6
A21	36.7
A22	35.7
A23	34.9
A24	34.9
A25	36.8
A26	35.0
A27	33.8

CLAIMS

1. A stable antibody-containing liquid formulation, characterized by comprising arginine and methionine.
2. The formulation of claim 1 further comprising a histidine buffering agent.
3. The formulation of claim 1 or 2 further comprising a surfactant.
4. The formulation according to any of claims 1 to 3 containing the antibody in an amount of at least 50 mg/ml.
5. The formulation according to any of claims 1 to 3 containing the antibody in an amount of at least 100 mg/ml.
6. The formulation according to any of claims 1 to 3 containing the antibody in an amount of at least 120 mg/ml.
7. The formulation according to any of the preceding claims wherein the antibody is an anti-IL-6 receptor antibody.
8. A stable liquid formulation containing an anti-IL-6 receptor antibody, characterized by comprising either arginine or methionine.
9. The formulation according to any of the preceding claims wherein the antibody is a humanized antibody or human antibody.
10. The formulation according to any of the preceding claims further comprising tryptophane.
11. The formulation according to any of claims the preceding claims having the pH in the range from 4 to 8.
12. The formulation according to any of the preceding claims wherein the arginine is present in an amount of from 50 to 1500mM.
13. The formulation according to any of the preceding claims having a viscosity of from 2 to 15 mPa·s.
14. The formulation according to any of the preceding claims, which is stable at 22-28°C for at least 6 months.

15. The formulation according to any of claims 1 to 13, characterized in that dimerization of antibody molecules is inhibited.
16. The formulation according to any of claims 1 to 13, characterized in that deamidation of antibody molecules is inhibited.
17. The formulation according to any of claims 1 to 13, which is for subcutaneous administration.
18. The formulation according to any of claims 1 to 13 which has not been subjected to lyophilization during preparation of the formulation.
19. A method for inhibiting deamidation of molecules of an antibody in a liquid formulation containing the antibody, comprising adding arginine to the liquid formulation.
20. A method for inhibiting dimerization of molecules of an antibody in a liquid formulation containing the antibody, comprising adding arginine and methionine to the liquid formulation.

ABSTRACT

The problem to be solved is to provide an antibody-containing formulation which is stable and suited for subcutaneous administration, wherein dimerization and deamidation is prevented during long-term storage.

The present application is directed to a stable antibody-containing liquid formulation characterized by containing arginine and methionine.

Fig. 1

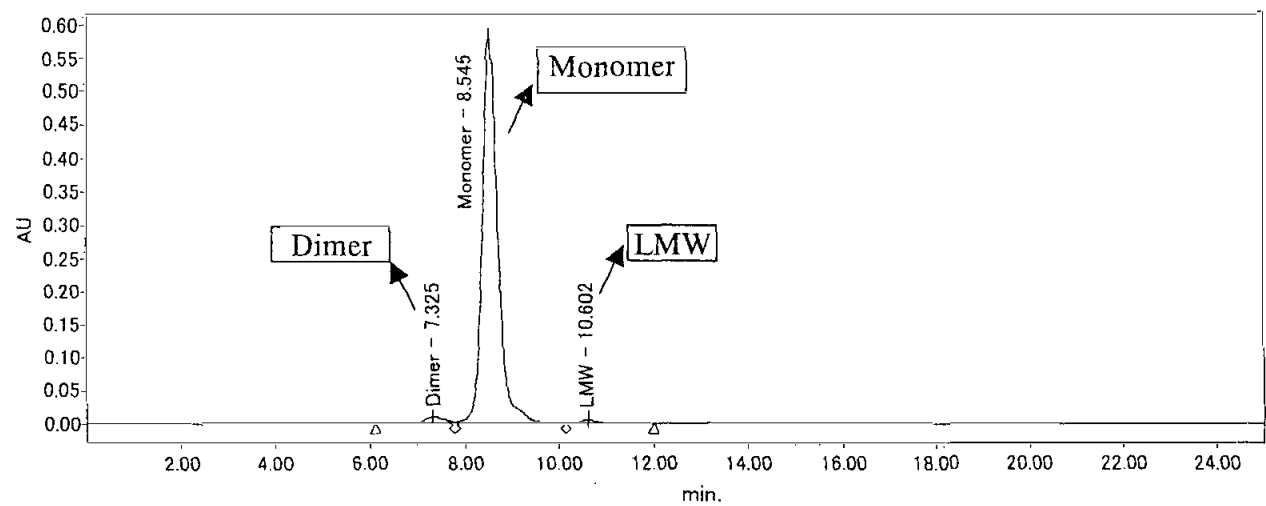


Fig. 2

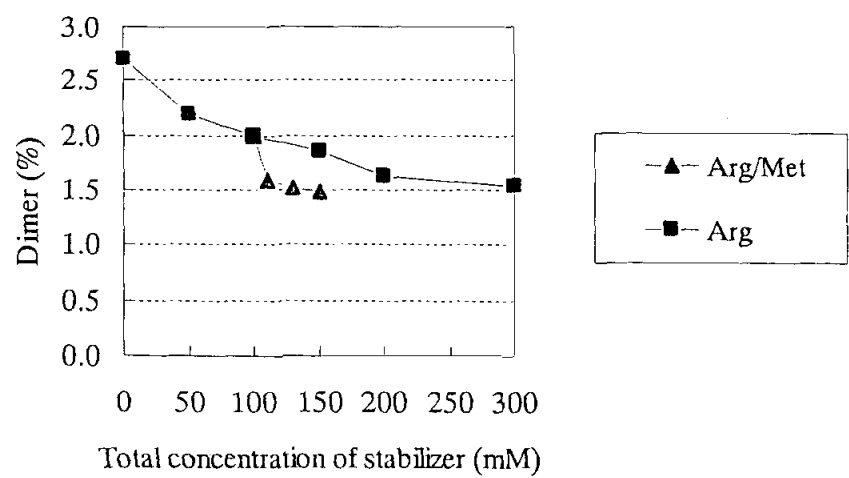


Fig. 3

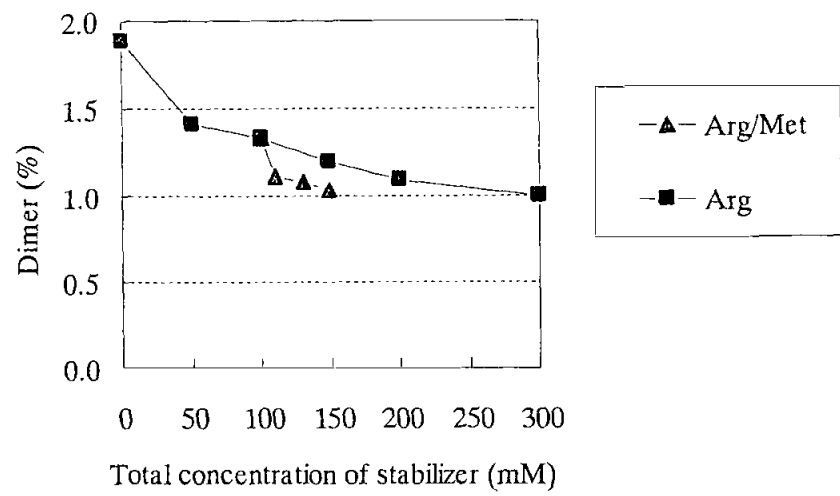
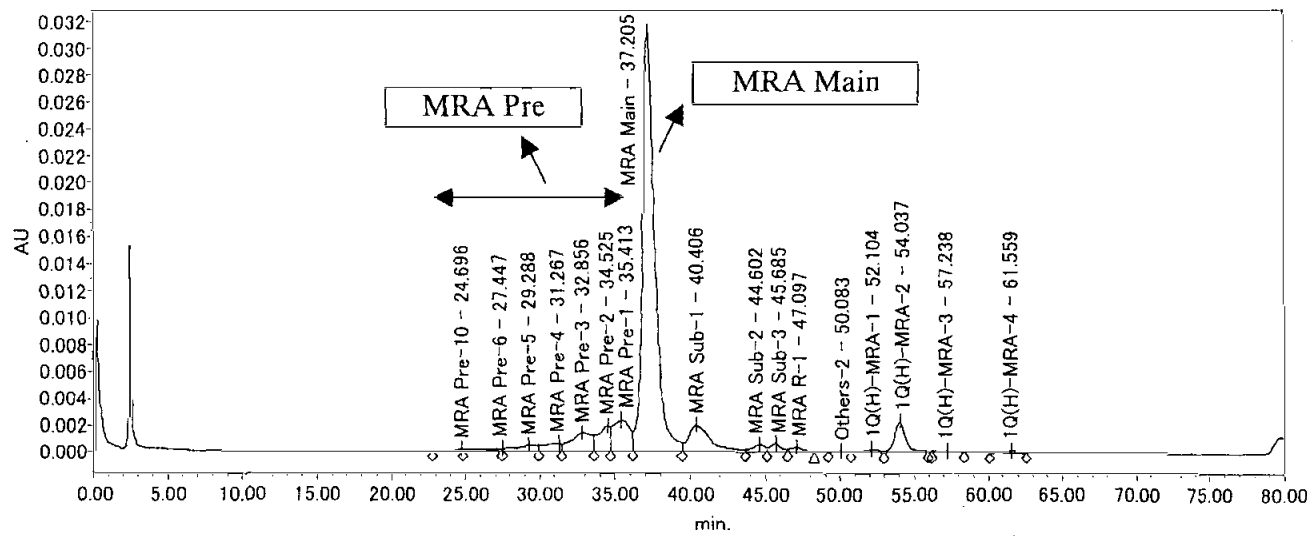


Fig. 4



St

Fig. 5

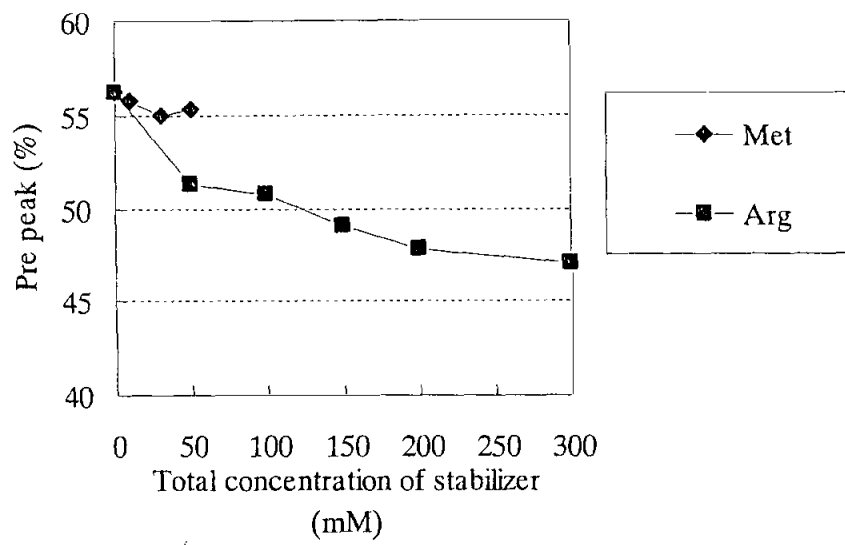


Fig. 6

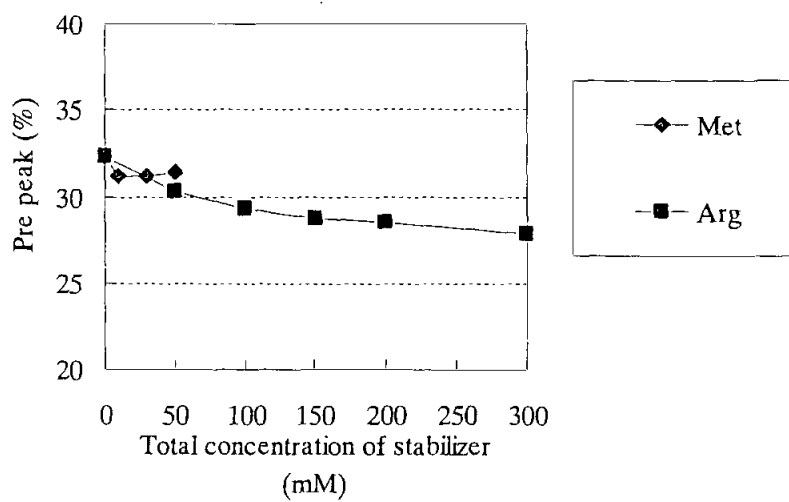
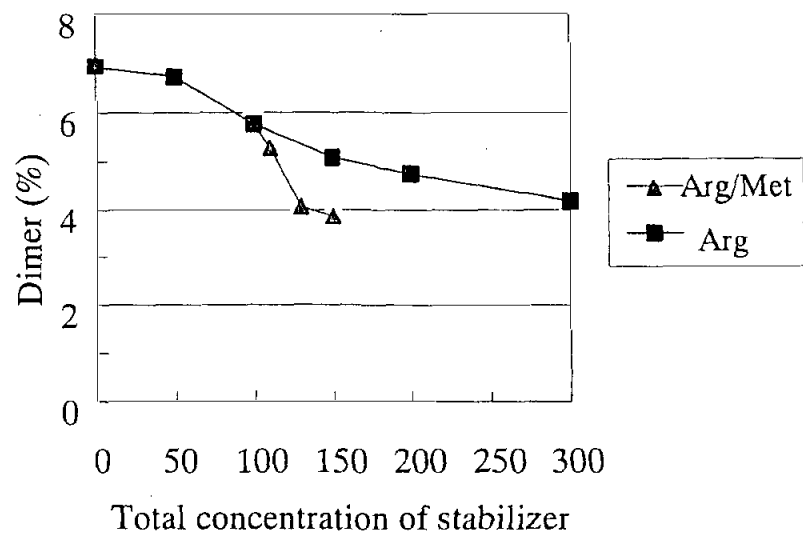
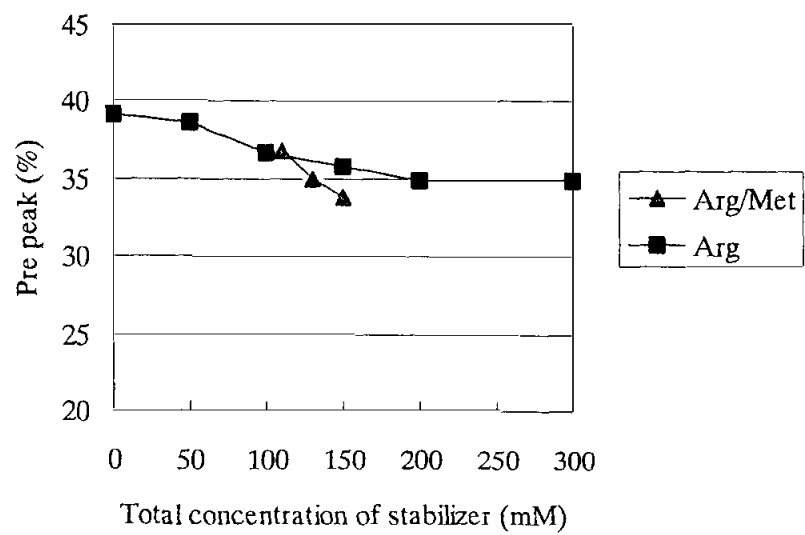


Fig. 7*Fig. 8*

**PREPARACION DE SOLUCION QUE CONTIENE ANICUERPOS EN UNA ALTA
CONCENTRACION**

CAMPO TECNICO

La presente invención se refiere a una formulación que contiene un anticuerpo y particularmente, a una formulación líquida estable que contiene una alta concentración de un anticuerpo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En años recientes, se han desarrollado y utilizado en la práctica varias formulaciones de anticuerpos. Varias formulaciones de anticuerpos se utilizan en inyecciones intravenosas. Sin embargo, debido a las necesidades de una clínica, hay una creciente demanda para el desarrollo de una formulación que contiene anticuerpos que puede administrarse como una inyección subcutánea autoinyectable.

Al diseñar una formulación que contiene anticuerpos para la inyección subcutánea, ya que una dosis de un anticuerpo por administración es grande (aproximadamente 100 mg a 200 mg) y una cantidad de una solución de inyección generalmente está limitada a una inyección subcutánea, es necesario aumentar una concentración de un anticuerpo en un líquido que se va a administrar. En vista de esto, en varios casos, se utilizan formulaciones de alta concentración, las cuales se preparan por medio de la técnica de concentración por liofilización, en la que una

formulación liofilizada se reconstituye en agua que tiene un volumen menor a aquel antes de la liofilización. No obstante, hay una fuerte demanda por una formulación líquida que no requiere reconstitución y la cual es fácil de manejar. Aunque no se prefiere un aumento en una viscosidad de una formulación debido a la adición de un agente crioprotector tal como un azúcar en el procedimiento de producción de la formulación liofilizada para las formulaciones para inyección subcutánea, se supone que este problema podría evitarse si la formulación fuera una formulación líquida.

Las soluciones que contienen una alta concentración de un anticuerpo tienden a formar soluciones que tienen una alta viscosidad debido a las propiedades macromoleculares de las proteínas y debido a las interacciones intermoleculares de las proteínas. Además, en los casos donde se almacena una proteína en una forma de una solución que tiene una alta concentración, sucede una degradación problemática que incluye una generación de agregados insolubles y/o solubles y es necesario evitar tal degradación. Especialmente, en las formulaciones de anticuerpos, es probable que se formen asociaciones y es probable que se generen agregados insolubles en un estado líquido. En los casos en los que se almacena una formulación líquida por largo tiempo, existe un problema en que se pierde una bioactividad de moléculas de anticuerpo debido a la desamidación de residuos de aminoácidos tal como residuos de aspargina.

Se propusieron varias ideas para proveer una formulación estabilizada en la que la pérdida de un componente activo es pequeña aún después de que se almacena la formulación por largo tiempo. Tales formulaciones se producen al disolver un componente activo y varios aditivos de una solución reguladora. Sin embargo, para las formulaciones líquidas que contienen una alta concentración de

un anticuerpo, aún no existe una tecnología que sea suficiente para prevenir la dimerización y desamidación.

Existe una necesidad de proveer una formulación que contiene una alta concentración de anticuerpos en la que se inhibe la dimerización y desamidación durante un almacenamiento a largo plazo y el cual es tanto estable como adecuado para el uso en la administración subcutánea.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

Problema que se resolverá por medio de la invención

Un objetivo de la presente invención es proveer una formulación líquida que contiene una alta concentración de anticuerpos en la que se inhibe la dimerización y desamidación durante un almacenamiento a largo plazo y la cual es estable y adecuada para uso en la administración subcutánea.

Medios para resolver los problemas

Los presentes inventores dirigieron un estudio intensivo con una visión para lograr el objetivo anterior, y como un resultado, descubrieron que puede proveerse una formulación líquida estable que contiene una alta concentración de anticuerpos al agregar un aminoácido, arginina o una sal de la misma, como un estabilizador para así completar la presente invención.

Es decir, la presente invención proporciona lo siguiente:

(1) Una formulación líquida estable que contiene anticuerpos que se caracteriza por comprender arginina y metionina.

(2) La formulación de (1) comprende adicionalmente un agente regulador de histidina.

(3) La formulación de (1) ó (2) comprende adicionalmente un agente tensoactivo.

(4) La formulación de (1) a (3) que contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 50 mg/ml.

(5) La formulación de (1) a (3) que contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 100 mg/ml.

(6) La formulación de (1) a (3) que contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 120 mg/ml.

(7) La formulación de (1) a (6) en donde el anticuerpo es un anticuerpo anti-IL-6 de receptor.

(8) Una formulación líquida estable que contiene un anticuerpo anti-IL-6 de receptor que se caracteriza por comprender arginina o metionina.

(9) La formulación de (1) a (8) en donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o anticuerpo humano.

(10) La formulación de (1) a (9) comprende adicionalmente triptofano.

(11) La formulación de (1) a (10) contiene el pH en una escala de 4 a 8.

(12) La formulación de (1) a (11) en donde la arginina está presente en una cantidad de 50 a 1500mM.

(13) La formulación de (1) a (12) tiene una viscosidad de 2 a 15 mPa·s.

(14) La formulación de (1) a (13), la cual es estable a 22-28°C por al menos 6 meses.

(15) La formulación de (1) a (13) se caracteriza porque se inhibe la

dimerización de las moléculas de anticuerpo.

(16) La formulación de (1) a (13) se caracteriza porque se inhibe la desamidación de las moléculas de anticuerpo.

(17) La formulación de (1) a (13) la cual es para la administración subcutánea.

(18) La formulación de (1) a (13) la cual no se sujetó a la liofilización durante la preparación de la formulación.

(19) Un método para inhibir la desamidación de moléculas de un anticuerpo en una formulación líquida que contiene el anticuerpo, que comprende agregar arginina a la formulación líquida.

(20) Un método para inhibir la dimerización de moléculas de un anticuerpo en una formulación líquida que contiene el anticuerpo, que comprende agregar arginina y metionina a la formulación líquida.

Ventajas de la invención

Por medio de la presente invención, se provee una formulación líquida que contiene una alta concentración de un anticuerpo con el cual no es necesaria la reformulación por concentración por liofilización y por lo tanto, no requiere reconstitución. La formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención puede almacenarse en un estado líquido por un largo tiempo. Ya que la formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención puede producirse por medio de un procedimiento que no incluye el paso de liofilización, no es necesaria la adición de una azúcar o similar como un agente crioprotector.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra un cromatograma común del ejemplo 1.

La figura 2 muestra los resultados de la evaluación de la cromatografía de permeación de gel (SEC) en el ejemplo 1.

La figura 3 muestra los resultados de la evaluación de la cromatografía de permeación de gel (SEC) en el ejemplo 1.

La figura 4 muestra un cromatograma común del ejemplo 2.

La figura 5 muestra los resultados de la evaluación de la cromatografía de intercambio de iones (IEC) en el ejemplo 2.

La figura 6 muestra los resultados de la evaluación de la cromatografía de intercambio de iones (IEC) en el ejemplo 2.

La figura 7 muestra los resultados de la evaluación de la cromatografía de permeación de gel (SEC) en el ejemplo 3.

La figura 8 muestra los resultados de la evaluación de la cromatografía de intercambio de iones (IEC) en el ejemplo 3.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención ahora se describirá detalladamente.

En la presente invención, "formulación líquida que contiene anticuerpos" significa una formulación líquida que contiene un anticuerpo como un componente activo, el cual se prepara de tal manera que pueda administrarse a un

animal tal como el humano y el cual se produce preferiblemente por medio de un procedimiento que no incluye un paso de liofilización.

La formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención es una formulación farmacéutica líquida que contiene anticuerpos en una alta concentración, la cual preferiblemente tiene una concentración de anticuerpos de menos de 50 mg/mL, más preferiblemente no menos de 100 mg/mL, incluso más preferiblemente menos de 120 mg/mL e incluso más preferiblemente menos de 150 mg/mL. Debe observarse que no se ha desarrollado una formulación líquida que contiene anticuerpos en una concentración de 120 mg/mL o más alta o preferiblemente 150 mg/mL o más alta, para uso comercial. A saber, la presente invención permite por primera vez utilizar una formulación líquida que contiene anticuerpos en esta alta concentración.

Además, considerando el procedimiento de elaboración, la concentración más alta de un anticuerpo en la formulación líquida de acuerdo con la presente invención puede ser generalmente 300 mg/mL, preferiblemente 250 mg/mL y más preferiblemente 200 mg/mL. Por lo tanto, la formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención preferiblemente tiene una concentración de anticuerpos de 50 a 300 mg/mL, más preferiblemente de 100 a 300 mg/mL, incluso más preferiblemente de 120 a 250 mg/mL, e incluso más preferiblemente de 150 a 200 mg/mL.

El anticuerpo que se va a utilizar en la presente invención no está restringido mientras se una a un antígeno deseado. El anticuerpo puede ser un anticuerpo policlonal o un anticuerpo monoclonal, aunque se prefiere un anticuerpo monoclonal ya que un anticuerpo que tiene propiedades uniformes puede

producirse de manera estable.

Un anticuerpo monoclonal que pueda utilizarse en la presente invención no sólo incluye anticuerpos monoclonales originados de un animal tal como un humano, ratón, rata, hámster, conejo, oveja, camello o mono, sino que también incluye anticuerpos recombinantes monoclonales modificados tal como anticuerpo quimérico, anticuerpo humanizado y anticuerpo biespecífico. La clase de inmunoglobulina del anticuerpo no está restringida y puede ser cualquiera de las clases que incluyen IgG tales como IgG1, IgG2, IgG3 y IgG4, IgA, IgD, IgE y IgM. Entre estas clases, se prefieren IgG e IgM.

El anticuerpo que puede utilizarse en la presente invención no sólo incluye anticuerpos completos, sino que también fragmentos de anticuerpo tal como Fv, Fab y F(ab)₂; y anticuerpos de peso molecular bajo tal como Fv de una cadena (scFv, sc(Fv)₂, diacuerpos tales como el dímero scFv) que tiene una o más especificidades, preparado al unir las regiones variables de una anticuerpo a través de un aglutinante tal como un aglutinante de péptido.

Los anticuerpos antes mencionados que pueden utilizarse en la presente invención pueden prepararse por medio de métodos que los expertos en la técnica conocen bien.

Un hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal puede prepararse de la siguiente manera, básicamente utilizando una técnica conocida. Es decir, el hibridoma puede prepararse al vacunar un animal con un antígeno deseado o células que expresan el antígeno deseado como un antígeno sensibilizador por medio de un método estándar; fusionando los inmunocitos obtenidos con las células madre conocidas por un medio de fusión celular y haciendo pruebas de una célula

productora de anticuerpos monoclonales (hibridoma) por un método de prueba estándar. La preparación de un hibridoma puede llevarse a cabo, por ejemplo, por el método de acuerdo con el método de Milstein et al (Kohler, G. y Milstein, C., *Methods Enzymol.* (1981) 73: 3-46). En los casos en donde la inmunogenicidad del antígeno es baja, el antígeno puede estar unido a una macromolécula antigénica tal como albúmina y el conjugado resultante puede utilizarse como un inmunógeno.

Pueden emplearse los anticuerpos recombinantes, los cuales se preparan por la técnica de recombinación genética en la que un gen antígeno se clona a partir de un hibridoma, incorporando el gen en un vector adecuado, introduciendo el vector en una hospedera y haciendo que la hospedera produzca el anticuerpo (ver, por ejemplo, Carl, A. K. Borrebaeck, James, W. Larrick, *THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES*, publicado en el Reino Unido por MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990). Más específicamente, un ADNc que codifica la región variable (región V) en el anticuerpo está sintetizado a partir de ARNm de un hibridoma que utiliza una transcriptasa inversa. Si se obtiene un ADN que codifica la región V del anticuerpo deseado, entonces se liga el ADN a un ADN que codifica la región constante (región C) de un anticuerpo deseado y el ADN ligado resultante se introduce en un vector de expresión. Alternativamente, un ADN que codifica la región V del anticuerpo puede incorporarse en un vector de expresión que contiene el ADN que codifica la región C del anticuerpo. El ADN se incorpora en el vector de expresión de tal manera que el ADN se expresa bajo el control de una región que controla la expresión tal como un potenciador o promotor. Después las células hospederas se transforman con el vector de expresión resultante y el anticuerpo puede expresarse por medio de las células hospederas.

En la presente invención, pueden utilizarse los anticuerpos recombinantes artificialmente modificados para el propósito de reducir la heteroantigenicidad al humano, tal como los anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados. Estos anticuerpos modificados se pueden producir por métodos conocidos. Un anticuerpo quimérico es un anticuerpo que comprende regiones variables en la cadena pesada y la cadena ligera en un anticuerpo de un animal diferente al humano, tal como ratón y las regiones constantes en la cadena pesada y la cadena ligera en un anticuerpo de humano y pueden obtenerse al ligar un ADN que codifica la región variable en el anticuerpo de ratón con un ADN que codifica la región constante en el anticuerpo humano, incorporando el ADN obtenido en un vector de expresión, introduciendo el vector de expresión en una hospedera y haciendo que la hospedera produzca el anticuerpo.

El anticuerpo humanizado también es llamado anticuerpo humano reconfigurado y se obtiene al transplantar la CDR (región determinante complementaria, por sus siglas en inglés) de, por ejemplo, un anticuerpo de ratón a la región determinante complementaria de un anticuerpo humano. También se conoce una técnica de recombinación genética estándar para preparar el anticuerpo humanizado. Específicamente, un ADN diseñado de tal manera que las CDR del anticuerpo de ratón y la región estructural (FR) del anticuerpo humano se ligan se sintetiza por el método de PCR a partir de muchos oligonucleótidos preparados para tener regiones traslapadas en sus terminales. El ADN obtenido está ligado a un ADN que codifica la región constante de un anticuerpo humano y el ADN resultante se introduce en un vector de expresión. El vector de expresión se introduce en una hospedera y la hospedera está hecha para producir el anticuerpo humanizado (ver

EP 239400 A y WO 96/02576). Mientras se forma el FR del anticuerpo humano que se va a ligar a través de la CDR, una de las regiones determinantes complementarias, se selecciona un buen sitio de unión de antígeno. Tal como se requiere, un aminoácido en la región determinante complementaria puede sustituirse para que la región determinante de complementariedad del anticuerpo humano reconfigurado forma un sitio adecuado de unión de antígeno (Sato, K. et al., Cancer Res. (1993) 53, 851-856).

Se conocen los métodos para obtener un anticuerpo humano. Por ejemplo, puede obtenerse un anticuerpo humano deseado que tiene una actividad de unión a un antígeno deseado, sensibilizando *in vitro* los linfocitos humanos con el antígeno deseado o con las células que expresan el antígeno deseado; fusionando los linfocitos sensibilizados con las células de mieloma humano, por ejemplo, células U266; y obteniendo el anticuerpo de las células (ver JP 1-59878 B). También se puede obtener un anticuerpo humano deseado al inmunizar un animal transgénico que tiene todos los repertorios de genes de anticuerpo humano con el antígeno (ver WO 93/12227, WO 92/03918, WO 94/02602, WO 94/25585, WO 96/34096 y WO 96/33735). Además, también se conoce una técnica con la cual puede obtenerse un anticuerpo humano al cribar utilizando una genoteca de anticuerpo humano. Por ejemplo, se expresa una región variable de un cuerpo humano en la forma de un anticuerpo de una cadena (scFv) en la superficie de un fago al utilizar un método de muestra de fago y el fago que se une al antígeno puede seleccionarse. Al analizar el gen del fago seleccionado, se puede determinar la secuencia de ADN que codifica la región variable del anticuerpo humano que se une al antígeno. Si se determina la secuencia de ADN del scFv que se une al

antígeno, se construye un vector de expresión adecuado que contiene la secuencia y puede obtenerse el anticuerpo humano. Estos métodos ya se conocen, y se pueden usar como referencia WO 92/01047, WO 92/20791, WO 93/06213, WO 93/11236, WO 93/19172, WO 95/01438 y WO 95/15388.

En los casos en los que el gen de anticuerpo se aísla una vez y el gen se introduce en una hospedera adecuada para preparar el anticuerpo, pueden utilizarse las combinaciones adecuadas de la hospedera y el vector de expresión. En los casos en donde las células eucarióticas se utilizan como la hospedera, pueden utilizarse células animales, células vegetales y células fúngicas. Las células animales conocidas incluyen (1) células de mamífero, por ejemplo, CHO, COS, mieloma, BHK (riñón de hámster bebé), HeLa y Vero; (2) células de anfibio, por ejemplo, *Xenopus oocito* y (3) células de insecto, por ejemplo, sf9, sf21 y Tn5. Las células vegetales conocidas incluyen células originadas de plantas que pertenecen al género *Nicotiana*, por ejemplo, *Nicotiana tabacum*, y las células pueden estar sujetas a cultivos callosos. Las células fúngicas incluyen las células originadas de almidones, por ejemplo, aquellas que pertenecen al género *Saccharomyces* tal como *Saccharomyces cerevisiae*; y las bacterias filamentosas, por ejemplo, aquellas que pertenecen al género *Aspergillus* tal como *Aspergillus niger*. En los casos donde se utilizan las células procarióticas hay sistemas de producción que utilizan células bacterianas. Las células bacterianas conocidas incluyen células *E. coli* y células *Bacillus subtilis*. El anticuerpo se obtiene al introducir un gen de anticuerpo deseado en estas células por transformación y cultivando las células transformadas *in vitro*.

Los anticuerpos en la forma de fragmentos de anticuerpo, anticuerpos

de peso molecular bajo y anticuerpos modificados también pueden utilizarse como el anticuerpo en la presente invención. Los ejemplos de los fragmentos de anticuerpo y los anticuerpos de peso molecular bajo incluyen Fab, F(ab')₂, Fv, y Fv de una cadena (scFv, sc(Fv)₂ y similares) con una o más especificidades, preparados al ligar los Fv en la cadena H y la cadena L a través de un aglutinante adecuado (Huston, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. E.U.A. (1988) 85, 5879-5883). Específicamente, un anticuerpo se trata con papaína o pepsina para generar fragmentos de anticuerpo o se construye un gen que codifica estos fragmentos de anticuerpo y su gen se expresa en células hospederas adecuadas después de introducir el gen en un vector de expresión (ver, por ejemplo, Co, M.S. et al., T. Immunol. (1994) 152, 2968-2976 ; Better, M. and Horwitz, A. H., Methods Enzymol. (1989) 178, 476-496; Pluckthun, A. and Skerra, A., Methods Enzymol. (1989) 178, 497-515; Lamoyi, E., Methods Enzymol, (1986) 121, 652-663; Rousseaux, J. et al., Methods Enzymol. (1986) 121, 663-669; Bird, R. E. and Walker, B. W., Trends Biotechnol. (1991) 9, 132-137.

Los anticuerpos unidos a varias moléculas tal como polietilenglicol (PEG) también pueden utilizarse como anticuerpos modificados. El término "anticuerpo" utilizado en la presente invención también incluye estos anticuerpos modificados. Estos anticuerpos modificados se pueden obtener modificando químicamente un anticuerpo obtenido. Los métodos para llevar a cabo las modificaciones se establecen en la técnica.

Los ejemplos del anticuerpo contenido en la formulación de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no están limitados a, anticuerpos del factor anti-tejido, anticuerpos anti-IL-6 de receptor, anticuerpos anti-IL-6, anticuerpos

monoclonales del antígeno HM1.24, anticuerpos de péptido relacionado con la hormona anti-paratiroidea (anticuerpos anti-PTHrP), anticuerpos anti-glipican-3, anticuerpos anti-gangliosido GM3, anticuerpos antagonistas anti-TPO de receptor, anticuerpos de sustitución de factor VIII-, anticuerpos anti-CD3, anticuerpos anti-CD20, anticuerpos anti-GPIIb/IIIa, anticuerpos anti-TNF, anticuerpos anti-CD25, anticuerpos anti-EGFR, anticuerpos anti-Her2/neu, anticuerpos anti-RSV, anticuerpos anti-CD33, anticuerpos anti-CD52, anticuerpos anti-IgE, anticuerpos anti-CD11a, anticuerpos anti-VEGF, anticuerpos anti-VLA4, anticuerpos anti-AXL, y así sucesivamente.

Los ejemplos preferidos de los anticuerpos humanos reconfigurados utilizados en la presente invención incluyen anticuerpos humanizados anti-interleucina (IL-6) de receptor (hPM-1 o MRA) (ver WO 92-19759), anticuerpos humanizados monoclonales de antígeno anti-HM1.24 (ver WO 98-14580), anticuerpos humanizados de péptido relacionado con la hormona anti-paratiroidea (anticuerpos anti-PTHrP) (ver WO 98-13388), anticuerpos humanizados del factor anti-tejido (ver WO 99-51743) y anticuerpos anti-glipican-3 IgG1κ humanizado (ver PCT/JP05/013103). Los anticuerpos humanizados especialmente preferidos en la presente invención son anticuerpos humanizados anti-IL-6 de receptor.

Igual que los anticuerpos humanos, se prefieren los anticuerpos anti-gangliosido GM3 recombinante IgM humano (ver WO 05-05636) y similares.

Al igual que los anticuerpos de peso molecular bajo, se prefieren los anticuerpos antagonistas anti-TPO de receptor (ver WO 02-33072), anticuerpos agonistas anti-CD47 (ver WO 01-66737) y similares.

Para evaluar la estabilidad de almacenamiento de la formulación

líquida que contiene una alta concentración de anticuerpos, los presentes inventores estudiaron los efectos de varios aditivos al realizar pruebas de aceleración térmica y pruebas de aceleración de luz. Como un resultado, se encontró que en las soluciones en las que una alta concentración de anticuerpo se disolvió en una solución reguladora que contiene arginina de aminoácidos, la cantidad del dímero generado fue menor en soluciones a las que no se agregó arginina. A partir de estos resultados, se encontró que la arginina es efectiva como un estabilizador para inhibir la dimerización. Además, en soluciones en las que una alta concentración de anticuerpo se disolvió en una solución reguladora que contiene arginina y metionina, el efecto inhibitorio contra la dimerización se observó en una concentración total de arginina y metionina, la cual es menor que la concentración de la arginina sola necesaria para lograr el mismo efecto inhibitorio. A partir de estos resultados, se encontró que el efecto sinérgico se obtiene por la adición de arginina y metionina en combinación. Además, se encontró que la desamidación de las moléculas de anticuerpo se inhibe por la adición de arginina. Estos resultados se ejemplifican como resultados de prueba obtenidos para una muestra que contiene un anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor en una concentración de 180mg/ml.

De esta manera, al agregar arginina como un estabilizador, puede proveerse una formulación estable de anticuerpo en el cual la dimerización del anticuerpo se reduce y se previene la desamidación del anticuerpo. Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención se caracteriza por la adición de arginina a una solución, con lo cual la dimerización o desamidación de las moléculas de anticuerpo se inhibe en la formulación líquida resultante que contiene anticuerpos. Por consiguiente, una modalidad como una formulación líquida estable que contiene

anticuerpos se caracteriza porque contiene un anticuerpo y arginina en una solución reguladora. Además, como se describió anteriormente, una formulación líquida que contiene anticuerpos de la presente invención puede contener adicionalmente metionina en la solución con un efecto sinérgico obtenido por el uso de arginina y metionina en combinación. Por lo tanto, un segundo aspecto de la presente invención se caracteriza por la adición de arginina y metionina a una solución, con lo cual la dimerización, en particular, de las moléculas de anticuerpo se inhibe en la formulación líquida resultante que contiene anticuerpos. Por consiguiente, una modalidad como una formulación líquida estable que contiene anticuerpos se caracteriza porque contiene un anticuerpo, arginina y metionina y arginina en una solución reguladora.

De igual manera que la arginina utilizada en la presente invención, puede utilizarse cualquier compuesto de arginina *per se*, derivados de la misma y sales de la misma. Se prefieren L-arginina y sales de la misma.

De igual manera que la metionina utilizada en la presente invención, puede utilizarse cualquier compuesto de metionina *per se*, derivados de la misma y sales de la misma. Se prefieren L-metionina y sales de la misma.

En los casos donde la formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención contiene arginina y no contiene metionina, la concentración de arginina es preferiblemente 50 a 1500mM, más preferiblemente 100 a 1000 mM, incluso más preferiblemente 200 a 700 mM. En los casos donde la formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención contiene arginina y metionina, la concentración total de arginina y metionina es preferiblemente 50 a 1200 mM, por ejemplo, preferiblemente, la concentración de

arginina es 40 a 1000 mM y la concentración de metionina es 10 a 200 mM, más preferiblemente, la concentración de arginina es 50 a 700 mM y la concentración de metionina es 10 a 100 mM e incluso más preferiblemente, la concentración de arginina es 100 a 300 mm y la concentración de metionina es 10 a 50 mM.

La solución reguladora se prepara usando un agente regulador que es una sustancia para mantener un pH de la solución. En una formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención, un pH de la formulación es preferiblemente 4 a 8, más preferiblemente 5.0 a 7.5, incluso más preferiblemente 5.5 a 7.2 e incluso más preferiblemente 6.0 a 6.5. Un agente regulador que puede utilizarse en la presente invención es uno que pueda ajustar el pH en esta escala y que sea farmacéuticamente aceptable. Los expertos en la técnica conocen tal un agente regulador y los ejemplos del mismo incluyen sales orgánicas tales como sales de ácido fosfórico (sodio o potasio) y carbonato de hidrógeno sódico; sales ácidas orgánicas tales como sales de ácido cítrico (sodio o potasio), acetato de sodio y succinato de sodio y ácidos tales como ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico y ácido glucónico. Además, también pueden utilizarse reguladores Tris, reguladores de Good tales como MES, MOPS y HEPES, histidina (por ejemplo, sal histidina de ácido clorhídrico). En la formulación líquida que contiene alta concentración de anticuerpos de acuerdo con la presente invención, la solución reguladora es preferiblemente un regulador de histidina o regulador de glicina y se prefiere especialmente un regulador de histidina. La concentración de la solución reguladora generalmente es 1 a 500 mM, preferiblemente 5 a 100 mM, incluso más preferiblemente 10 a 20 mM. En los casos donde se utiliza un regulador de histidina,

la solución reguladora contiene histidina en una concentración de preferiblemente 5 a 25 mM, más preferiblemente 10 a 20 mM.

Para la formulación líquida "estable" que contiene alta concentración de anticuerpos de acuerdo con la presente invención, no se observa un cambio importante cuando se almacena a una temperatura de refrigeración (2 a 8°C) por al menos 12 meses, preferiblemente por 2 años, y más preferiblemente por 3 años; o cuando se almacene a temperatura ambiente (22 a 28°C) por al menos 3 meses, preferiblemente 6 meses, y más preferiblemente 1 año. Por ejemplo, la cantidad total de dímeros y productos de degradación en la formulación cuando se almacena a 5°C por 2 años es 5.0% o menor, preferiblemente 2% o menor y más preferiblemente 1.5% o menor; o la cantidad total de dímeros y los productos de degradación en la formulación cuando se almacena a 25°C por 6 meses es 5.0% o menor, preferiblemente 2% o menor y más preferiblemente 1.5% o menor.

La formulación de acuerdo con la presente invención puede contener adicionalmente un agente tensoactivo.

Los ejemplos comunes del agente tensoactivo incluyen agentes tensoactivos no iónicos, por ejemplo, ésteres de ácidos grasos de sorbitán tales como monocaprilato de sorbitán, monolaurato de sorbitán y monopalmitato de sorbitán; ésteres de ácidos grasos de glicerina tales como monocaprilato de glicerol, monomiristato de glicerol y monoestearato de glicerol; ésteres de ácidos grasos de poliglicerol tales como monoestearato de decaglicerilo, diestearato de decaglicerilo y monolinoleato de decaglicerilo; ésteres de ácidos grasos de polioxietilen sorbitán tales como monolaurato de polioxietilen sorbitán, monooleato de polioxietilen sorbitán, monestearato de polioxietilen sorbitán, monopalmitato de polioxietilen

sorbitán, triolato de polioxietilen sorbitán y triestearato de polioxietilen sorbitán; ésteres de ácidos grasos de polioxietilen sorbitol tales como tetraestearato de polioxietilen sorbitol y tetra oleato de polioxietilen sorbitol; ésteres de ácidos grasos de polioxietilen glicerina tales como monoestearato de polioxietilen glicerilo; ésteres de ácidos grasos de polietilen glicol tales como diestearato de polietilen glicol; alquil éteres de polioxietileno tales como lauril éter de polioxietileno; alquil éteres de polioxietilen polioxipropileno tales como éter de polioxietilen polioxipropilen glicol , éter de polioxietilen polioxipropilen propilo y éter de polioxietilen polioxipropilen cetilo; alquil fenil éteres de polioxietileno tales como nonifenil éter de polioxietileno; aceites de ricino endurecidos con polioxietileno tales como aceite de ricino de polioxietileno y aceite de ricino endurecido con polioxietileno (aceite de ricino hidrogenado con polioxietileno); derivados de cera de abeja de polioxietileno tales como cera de abeja de polioxietileno de sorbitol; derivados de lanolina de polioxietileno tales como lanolino de polioxietileno; agentes tensoactivos que tienen un HLB de 6 a 18 tales como amidas de ácidos grasos de polioxietileno, por ejemplo, octadecanamida de polioxietileno; agentes tensoactivos aniónicos, por ejemplo, sales de alquil sulfato que tienen un grupo alquilo de C_{10} - C_{18} tal como cetil sulfato de sodio, lauril sulfato de sodio y oleil sulfato de sodio; sales alquil éter de polioxietilen sulfato en el que el número promedio de moles de las unidades de óxido de etileno agregadas es 2 a 4 y el número de átomos de carbono del grupo alquilo es 10 a 18, tales como lauril sulfato de polioxietileno de sodio; sales de alquil sulfosuccinato que tienen un grupo alquilo de C_8 - C_{18} , tales como lauril sulfosuccinato de sodio; agentes tensoactivos naturales como lecitina y glicerofosfolípidos; esfingofosfolípidos tal como esfingomielina; y ésteres de sacarosa de ácidos grasos de C_{12} - C_{18} . Estos

agentes tensoactivos pueden agregarse a la formulación de la presente invención individualmente o pueden agregarse dos o más de estos agentes tensoactivos en combinación.

Los agentes tensoactivos preferidos son ésteres de ácidos grasos de polioxietileno de sorbitán y alquil éteres de polioxietilén polioxipropileno y se prefieren especialmente los polisorbatos 20, 21, 40, 60, 65, 80, 81 y 85, y agentes tensoactivos de tipo Plurónico y se prefieren más los polisorbatos 20 y 80, y Plurónico F-68 (Poloxamer 188).

La cantidad del agente tensoactivo que se va agregar a la formulación de anticuerpo de acuerdo con la presente invención generalmente es 0.0001 a 10% (p/v), preferiblemente 0.001 a 5%, más preferiblemente 0.005 a 3%.

En otro aspecto de la presente invención, la formulación de acuerdo con la presente invención preferiblemente está compuesta sustancialmente por los siguientes componentes:

- A) anticuerpo anti-IL-6 de receptor;
- B) arginina y/o metionina y otro(s) aminoácido(s) adicional(es) (por ejemplo, triptofano) como un(os) componente(s) adicional(es) opcional(es),
- C) agente(s) regulador(es); y
- D) agente(s) tensoactivo(s).

El término "sustancialmente compuesto de" en la presente significa que un componente diferente a los componentes generalmente agregado a las formulaciones no está contenido, los componentes generalmente agregados a las formulaciones son componentes aditivos opcionales descritos a continuación, tales como agentes de suspensión, agentes solubilizantes, agentes isotónicos,

conservadores, inhibidores de absorción, diluyentes, vehículos, ajustadores de pH, agentes relajantes, agentes reductores que contienen azufre y antioxidantes.

El antes descrito inciso "B) arginina y/o metionina y los otros aminoácidos adicionales (por ejemplo, triptofano) como un componente adicional opcional" significa que incluye los casos donde la formulación contiene (b-1) arginina; (b-2) arginina y metionina y (b-3) metionina; respectivamente, como un aditivo de aminoácidos y además incluye los casos donde la formulación contiene adicionalmente otros aminoácidos. Un ejemplo preferido de otros aminoácidos es triptofano. Igual que el triptofano, pueden utilizarse cualquiera de los compuestos de triptofano *per se*, derivados de los mismos y sales de los mismos. Se prefieren L-triptofano y sales del mismo.

Como se requiera, puede agregarse a la formulación de acuerdo con la presente invención un agente de suspensión, agente solubilizante, agente isotónico, conservador, inhibidor de absorción, diluyente, vehículo, ajustador de pH, agente relajante, agente reductor que contiene azufre, antioxidante y similares.

Los ejemplos del agente de suspensión incluyen metilcelulosa, polisorbato 80, hidroxietilcelulosa, goma arábica, tragacanto en polvo, carboximetilcelulosa de sodio y monolaurato de polioxietilen sorbitán.

Los ejemplos del agente solubilizante incluyen aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno, polisorbato 80, nicotinamida, monolaurato de polioxietilen sorbitán, macrogol y etil éster de ácido graso de aceite de ricino.

Los ejemplos del agente isotónico incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio y cloruro de calcio.

Los ejemplos de los conservadores incluyen metil *p*-hidroxibenzoato,

etil *p*-hidroxibenzoato, ácido sórbico, fenol, cresol y clorocresol.

Los ejemplos del inhibidor de absorción incluyen albúmina de suero humano, lecitina, dextrano, copolímero de óxido de etilenóxido-propileno, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno y polietilenglicol.

Los ejemplos del agente reductor que contiene azufre incluyen los compuestos que tienen un grupo sulfhidrilo, tales como N-acetilcisteína, N-acetil homocisteína, ácido tióctico, tiodiglicol, tioetanolamina, tioglicerol, tiosorbitol, ácido tioglicólico y sales de los mismos, tiosulfato de sodio, glutatona y tioalcanos de C₁-C₇.

Los ejemplos de los antioxidantes incluyen ácido eritórbico, dibutilhidroxi tolueno, hidroxianisol, α -tocoferol butilado, acetato de tocoferol, ácido L--ascórbico y sales de los mismos, palmitato de L-ascórbico, estearato de L-ascórbico, hidrógeno sulfito de sodio, sulfito de sodio, triamil galato, propil galato, y agentes quelantes tales como etilendiamintetraacetato disódico (EDTA), pirofosfato de sodio y metafosfato de sodio.

La formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención generalmente se administra a través de una vía paraenteral, por ejemplo, por inyección (inyecciones subcutáneas, intravenosas y similares), administración percutánea, transmucosal, transnasal o pulmonar, pero también puede administrarse oralmente. En la inyección subcutánea, la dosis de anticuerpo por administración es grande (aproximadamente 100 a 200 mg) mientras la cantidad de la solución de inyección está limitada para que la formulación de acuerdo con la presente invención se ajuste específicamente para la inyección subcutánea.

La relación de presión osmótica de la formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención es preferiblemente alrededor de 0.5 a 4, más preferiblemente alrededor de 0.7 a 2 y incluso más preferiblemente alrededor de 1.

La viscosidad de la formulación líquida que contiene anticuerpos de acuerdo con la presente invención es preferiblemente alrededor de 2 a 15 mPa·s, más preferiblemente alrededor de 4 a 10 mPa·s. Debe observar que la viscosidad aquí descrita se mide por medio de un método de viscosímetro de rotación que utiliza un viscosímetro tipo cono-placa de acuerdo con Viscosity Determination/General Tests, the Japanese Pharmacopoeia, 15a edición.

Como se puede observar a partir de los resultados de los ejemplos descritos a continuación, de acuerdo con la presente invención, puede obtenerse una formulación líquida estable, en la que la dimerización y desamidación del anticuerpo durante el almacenamiento a largo plazo son pequeñas, al agregar a la formulación arginina sola o arginina y metionina o metionina sola.

Como otro aspecto de la presente invención, se provee un método para inhibir la desamidación en las formulaciones líquidas que contienen anticuerpos, el método comprende agregar arginina o una sal de la misma a la formulación.

Como otro aspecto de la presente invención, se provee un método para inhibir la dimerización del anticuerpo en las formulaciones líquidas que contienen anticuerpos, el método comprende agregar arginina y metionina a la formulación.

En los dos métodos antes descritos, el anticuerpo es preferiblemente

un anticuerpo anti-IL-6 de receptor, el cual es un anticuerpo humanizado o anticuerpo humano.

Ahora, se describirá la presente invención más detalladamente a manera de los ejemplos que se dan a continuación. Sin embargo, el alcance de la presente invención no está restringido a la misma.

EJEMPLOS

Muestra de anticuerpos

El anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor fue un anticuerpo humanizado preparado de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia 2 en JP 8-99902 A que utiliza el promotor del factor I de elongación humano α descrito en el ejemplo 10 en WO 92/19759. Este anticuerpo ocasionalmente se mencionará como "MRA" en los cuadros en los ejemplos.

EJEMPLO 1

Efectos estabilizadores por la combinación de arginina y metionina

Las formulaciones líquidas que contienen el anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor se evaluaron para una influencia en la estabilización de las formulaciones obtenidas por medio del uso de una combinación de arginina y metionina.

En este estudio, para evaluar los efectos por medio de la combinación de arginina y metionina, se prepararon las muestras de evaluación enumeradas A1

a A9. Las prescripciones para las muestras de evaluación fueron de la siguiente manera:

CUADRO 1-1
Prescripciones

Muestra No.	Anticuerpo mg/mL	Arg mM	Met mM	Polisorbato 80 mg/mL	Regulador de histidina mM	pH
A1	180	-	-	0.5	20.	6.0
A2	180	50	-	0.5	20	6.0
A3	180	100	-	0.5	20	6.0
A4	180	150	-	0.5	20	6.0
A5	180	200	-	0.5	20	6.0
A6	180	300	-	0.5	20	6.0
A7	180	100	10	0.5	20.	6.0
A8	180	100	30	0.5	20	6.0
A9	180	100	50	0.5	20	6.0

Para evaluar la estabilidad de las formulaciones líquidas, cada muestra se sujetó a una prueba de aceleración por calor (almacenada a 40°C por 3 meses y a 25°C por 6 meses, respectivamente). La pureza del anticuerpo antes y después de la prueba de aceleración por calor se evaluó por medio de la cromatografía de permeación de gel (SEC) Las condiciones analíticas fueron las siguientes:

Cromatografía de permeación de gel

La muestra se utilizó como la solución que se va a medir como fue.

Un microlitro de la solución que se va a medir se sujetó a la cromatografía líquida y las áreas pico del dímero, monómero y los productos de degradación de peso molecular bajo (LMW) se midieron por medio de un método

analítico automático y se determinaron las cantidades del mismo (%).

CUADRO 1-2

Condiciones analíticas

Columna: TSKgel G3000SWx1 7.8 mm I. D. x 30 cm (TOSOH)

Fase móvil: regulador de fosfato, pH 7.0 (50 mmoles/L regulador de fosfato, pH 7.0, que contiene 300 mmoles/L de cloruro de sodio y 0.05% de azida sódica)

Cantidad de la muestra inyectada: aproximadamente 180 µg en términos del anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor

Velocidad de flujo: 1 mL/min

Longitud de onda de detección: 280 nm

Fórmula 1

Ecuación de cálculo

Área total de todos los picos = Área pico del área del monómero + Área pico del dímero + Área pico de los productos de degradación de peso molecular bajo (LMW)

Cantidad de dímero (%) = (Área pico del dímero/Área total de todos los picos) x 100

Cantidad de los productos de degradación de peso molecular bajo (LMW) (%) = (Área pico de los productos de degradación de peso molecular bajo/Área total de todos los picos) x 100

SS

En la figura 1 se muestra una cromatografía común.

Los resultados de la evaluación obtenidos por medio de la cromatografía de permeación de gel (SEC) se muestran en el cuadro 1 y las figuras 2 y 3. Como se muestra, la cantidad de dímero en las muestras (Muestras Nos. A2 a A6) a las cuales se agregó arginina, después de la aceleración a 40°C por 3 meses y a 25°C por 6 meses, respectivamente, fue menor que en la muestra (Muestra No. A1) a la cual no se agregó; y por consiguiente, se confirmó el efecto inhibidor de arginina contra la dimerización. También se confirmó que la cantidad de dímero se redujo proporcionalmente a la cantidad de la arginina agregada. Por otro lado, la cantidad de dímero en las muestras (Muestra Nos. A7 a A9) a la cual se agregaron arginina (100 mM) y metionina después de la aceleración a 40°C por 3 meses y a 25°C por 6 meses, respectivamente, fue menor a la que se agregó en las muestras (Muestra Nos. A3 y A4) que contienen 150 mM de arginina, cuya concentración fue aproximadamente la misma que la concentración total de los estabilizadores; y la cantidad de dímero fue aproximadamente la misma que en la muestra (Muestra No. A6) que tiene una concentración de arginina de 300 mM. Se considera que estos resultados indican que un efecto sinérgico en la inhibición de la dimerización se obtiene al combinar arginina y metionina.

No se observó la influencia de la arginina y metionina en la cantidad de los productos de degradación de peso molecular bajo.

CUADRO 1-3

CUADRO 1

	40°C-3meses		25°C-6meses	
	Dímero (%)	LMW (%)	Dímero (%)	LMW (%)
A1	2.70	1.25	1.88	0.48
A2	2.19	1.24	1.41	0.47
A3	2.00	1.34	1.33	0.49
A4	1.85	1.38	1.19	0.49
A5	1.62	1.37	1.09	0.49
A6	1.53	1.46	0.99	0.50
A7	1.58	1.29	1.11	0.45
A8	1.52	1.21	1.07	0.47
A9	1.48	1.32	1.03	0.47

EJEMPLO 2

Efecto inhibidor por la arginina contra la desamidación

Las formulaciones que contienen el anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor se evaluaron para la influencia en la desamidación por arginina.

En este estudio, se prepararon las muestras de evaluación enumeradas A10 a a15 y enumeradas A16 a A18, que contienen diferentes cantidades de arginina y metionina, respectivamente. Las prescripciones para las muestras de evaluación fueron de la siguiente manera:

CUADRO 2-1
Prescripciones

Muestra No.	Anticuerpo mg/mL	Arg mM	Met mM	Polisorbato 80 mg/mL	Regulador de histidina mM	pH
A10	180	-	-	0.5.	20	6.0
A11	180	50	-	0.5	20	6.0
A12	180	100	-	0.5	20	6.0
A13	180	150	-	0.5	20	6.0
A14	180	200	-	0.5	20	6.0
A15	180	300	-	0.5	20	6.0
A16	180	-	10	0.5	20	6.0
A17	180	-	30	0.5	20	6.0
A18	180	-	50	0.5	20	6.0

Para evaluar la estabilidad de las formulaciones líquidas, cada muestra se sujetó a una prueba de aceleración por calor (almacenada a 40°C por 3 meses y a 25°C por 6 meses, respectivamente). Las purezas del anticuerpo antes y después de la prueba de aceleración por calor se evaluaron por medio de la cromatografía de intercambio de iones (IEC). Las condiciones analíticas fueron las siguientes:

Cromatografía de intercambio de iones

A cada muestra, se agregó agua purificada para ajustar la cantidad del anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor a aproximadamente 1 mg en 1 mL de la muestra y la muestra resultante se utilizó como la muestra que se va a medir.

Treinta microlitros de la solución de muestra se sujetaron a la

cromatografía líquida y las áreas pico de los picos de MRA Pre, MRA Principal, MRA Secundario-1, MRA Secundario-2, MRA R-1, 1Q(H)-MRA, 2Q(H)-MRA y otras sustancias relacionadas (Otras) se midieron por medio de un método analítico automático y las cantidades de las mismas (%) se determinaron por medio de un método de porcentaje de área.

MRA Pre indica el total de los picos de las sustancias cada una eluída después de un tiempo de retención más corto que el del componente principal y se incluyó una pluralidad de productos de degradación, principalmente productos de desamidación del anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor. Cuando la cantidad de producción de este pico Pre fue pequeño, se indicó la inhibición de desamidación del anticuerpo.

CUADRO 2-2

Condiciones analíticas

Columna: ProPac WCX-10 4 x 250 mm (DIONEX)

Fase móvil: Solución A: 25 mmoles/L MES solución reguladora, pH 6.1

Fase móvil: Solución B: 25 mmoles/L MES solución reguladora, pH 6.1

(con 250 mmoles/L de cloruro de sodio)

Cantidad de la muestra inyectada: aproximadamente 30 µg en términos del anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor

Velocidad de flujo: 0.5 mL/min

Longitud de onda de detección: 280 nm

Fórmula 2Ecuación de cálculo

Área total de todos los picos = Gran total del Área total de picos MRA Pre + Área pico de MRA Principal + Área pico de MAR Secundario-1 + Área pico de MAR Secundario-2 + Área pico de MAR Secundario-3 + Área pico de MAR R-1 + Área total de los picos 1Q(H)-MRA + Área total de los picos 2Q(H)-MRA + Área pico de otros

Cantidad de MRA Pre (%) = (Área total de los picos MRA Pre / Área total de todos los picos) x 100

En la figura 4 se muestra una cromatografía común. Pre MRA indica el total de los picos de las sustancias que aparecen antes de aquellas del componente principal.

Los resultados de la evaluación de la cromatografía de intercambio de iones se muestran en el cuadro 2 y las figuras 5 y 6. Como se muestra, la cantidad de picos Pre en las muestras (Muestras Nos. A11 a A15) a las cuales se agregó arginina, después de la aceleración a 40°C por 3 meses y a 25°C por 6 meses, respectivamente, fue menor a aquel en la muestra (Muestra No. A10) a la cual no se agregó arginina; y por consiguiente, se confirmó el efecto inhibidor de arginina contra la generación de picos Pre. También se confirmó que la cantidad de picos Pre se redujo proporcionalmente a la cantidad de la arginina agregada. Por otro lado, la cantidad de picos Pre en las muestras (Muestras Nos. A16 a A18) a las cuales se agregó metionina, después de la aceleración a 40°C por 3 meses y a 25°C por 6 meses, respectivamente, fue similar a aquel en la muestra (Muestra No. A10) a la

cual no se agregó arginina; y por consiguiente, se confirmó que no se observó la influencia de la adición de metionina.

CUADRO 2-3

CUADRO 2

	Pico Pre (%)	
	40°C-3meses	25°C-6meses
A10	56.2	32.3
A11	51.3	30.3
A12	50.7	29.3
A13	49.0	28.7
A14	47.8	28.5
A15	47.0	27.9
A16	55.7	31.2
A17	55.0	31.2
A18	55.3	31.4

EJEMPLO 3

Efectos estabilizadores por la combinación de arginina y metionina

Como en el ejemplo 1, las formulaciones líquidas que contienen el anticuerpo humanizado anti-IL-6 de receptor se evaluaron para una influencia en la estabilización de las formulaciones obtenidas por medio del uso de una combinación de arginina y metionina.

En este estudio, para evaluar los efectos de la combinación de arginina y metionina, se prepararon las muestras de evaluación enumeradas A19 a A27. Las prescripciones para las muestras de evaluación fueron de la siguiente

manera:

CUADRO 3-1

Prescripciones

Muestra No.	Anticuerpo mg/mL	Arg mM	Met mM	Polisorbato 80 mg/mL	Regulador de histidina mM	pH
A19	180	-	-	0.5	20	6.0
A20	180	50	-	0.5	20	6.0
A21	180	100	-	0.5	20	6.0
A22	180	150	-	0.5	20	6.0
A23	180	200	-	0.5	20	6.0
A24	180	300	-	0.5	20	6.0
A25	180	100	10	0.5	20	6.0
A26	180	100	30	0.5	20	6.0
A27	180	100	50	0.5	20	6.0

Para evaluar la estabilidad de las formulaciones líquidas, cada muestra se sujetó a una prueba de aceleración de luz (iluminancia total 1,200,000 lux y energía total de radiación ultravioleta cercana. 200 W·h/m²). Las purezas del anticuerpo antes y después de la prueba de aceleración de luz se evaluaron por medio de la cromatografía de permeación de gel (SEC) y cromatografía de intercambio de iones (IEC) como en los ejemplos 1 y 2.

Los resultados de la evaluación por cromatografía de permeación de gel (SEC) se muestran en el cuadro 3 y la figura 7. Como se muestra, la cantidad de dímero en las muestras (Muestras Nos. A20 a A24) a las cuales se agregó arginina, después de la prueba de aceleración de luz fue menor que aquel en la muestra (Muestra No. A19) a la cual no se agregó; y por consiguiente, se confirmó el efecto

inhibidor de arginina contra la dimerización. También se confirmó que la cantidad de dímero se redujo proporcionalmente a la cantidad de la arginina agregada. Por otro lado, la cantidad de dímero en las muestras (Muestra Nos. A25 a A27) a la cual se agregaron arginina (100 mM) y metionina después de la prueba de aceleración de luz fue menor a la que se agregó en la muestra (Muestra No. A22) que contiene 150 mM de arginina, cuya concentración fue aproximadamente la misma que la concentración total de los estabilizadores; y la cantidad de dímero fue menor que en las muestras (Muestras No. A23 y A24) que tiene concentraciones de arginina de 200mM y 300 mM, respectivamente. Se considera que estos resultados indican que un efecto sinérgico en la inhibición de la dimerización se obtiene al combinar arginina y metionina.

No se observó la influencia de la arginina y metionina en la cantidad de los productos de degradación de peso molecular bajo.

CUADRO 3-2

CUADRO 3

	1,200,000lux + 200 W · h/m ²	
	Dímero (%)	LMW (%)
A19	6.95	0.22
A20	6.75	0.24
A21	5.78	0.21
A22	5.08	0.19
A23	4.73	0.18
A24	4.13	0.18
A25	5.27	0.19

A26	4.05	0.17
A27	3.84	0.16

Después, los resultados de la evaluación por cromatografía de intercambio de iones (IEC) se muestran en el cuadro 4 y la figura 8.

Como se muestra, la cantidad de pico Pre en las muestras (Muestras Nos. A20 a A24) a las cuales se agregó arginina, después de la prueba de aceleración de luz fue menor que aquel en la muestra (Muestra No. A19) a la cual no se agregó; y por consiguiente, se confirmó el efecto inhibidor de arginina contra la formación del pico Pre. Además, se confirmó que mientras la cantidad de arginina aumenta, la cantidad de producción del pico Pre disminuye proporcionalmente. Por otro lado, la cantidad de dímero después de la prueba de aceleración de luz en las muestras (Muestra Nos. A25 a A27) a las cuales se agregaron arginina (100 mM) fue menor a la que se agregó en la muestra (Muestra No. A22) que contiene 150 mM de arginina, cuya concentración fue aproximadamente la misma que la concentración total de los estabilizadores; y fue menor que en las muestras (Muestras No. A23 y A24) que tiene concentraciones de arginina de 200mM y 300 mM, respectivamente. Se considera que estos resultados indican un efecto sinérgico en la inhibición de la formación del pico Pre por la combinación de arginina y metionina.

CUADRO 4

	Pico Pre (%)
	1,200,000lux + 200 W · h/m ²
A19	39.2
A20	38.6
A21	36.7
A22	35.7
A23	34.9
A24	34.9
A25	36.8
A26	35.0
A27	33.8

95

NOVEDAD DE LA INVENCION

REIVINDICACIONES

1. Una formulación líquida estable que contiene anticuerpos que comprende arginina y metionina.
2. La formulación de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque comprende adicionalmente un agente regulador de histidina.
3. La formulación de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, caracterizada además porque comprende adicionalmente un agente tensoactivo.
4. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada además porque contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 50 mg/ml.
5. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada además porque contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 100 mg/ml.
6. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada además porque contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 120 mg/ml.
7. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque el anticuerpo es un anticuerpo anti-IL-6 de receptor.
8. Una formulación líquida estable que contiene un anticuerpo anti-

IL-6 de receptor que comprende ya sea arginina o metionina.

9. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o anticuerpo humano.

10. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque comprende adicionalmente triptofano.

11. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque tiene el pH en una escala de 4 a 8.

12. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque la arginina está presente en una cantidad de 50 a 1500mM.

13. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque tiene una viscosidad de 2 a 15 mPa.s.

14. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque es estable a 22-28°C por al menos 6 meses.

15. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque se inhibe la dimerización de las moléculas de anticuerpo.

16. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque se inhibe la desamidación de

las moléculas de anticuerpo.

17. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque es para administración subcutánea.

18. La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque no se sujetó a la liofilización durante la preparación de la formulación.

19. Un método para inhibir la desamidación de moléculas de un anticuerpo en una formulación líquida que contiene el anticuerpo, que comprende agregar arginina a la formulación líquida.

20. Un método para inhibir la dimerización de moléculas de un anticuerpo en una formulación líquida que contiene el anticuerpo, que comprende agregar arginina y metionina a la formulación líquida.

RESUMEN DE LA INVENCION

Como una preparación estable que contiene anticuerpos adecuada para la administración subcutánea en donde se previenen la formación de dímeros y la desamidación durante un almacenamiento prolongado, se provee una preparación estable de solución que contiene un anticuerpo, la cual se caracteriza por contener arginina y metionina.

9A

P10/326F

Fig. 1

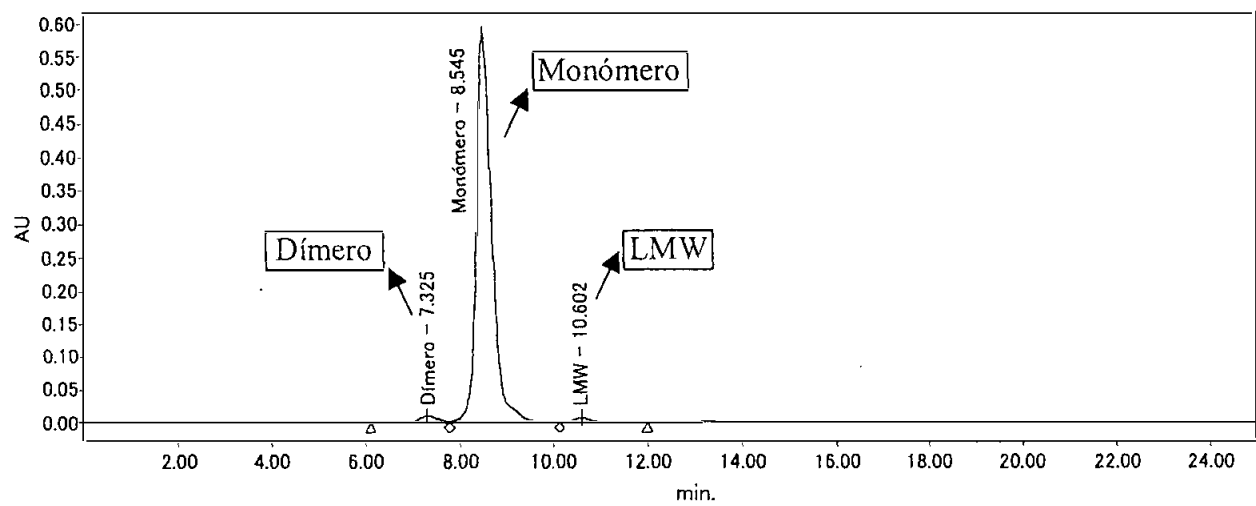


Fig. 2

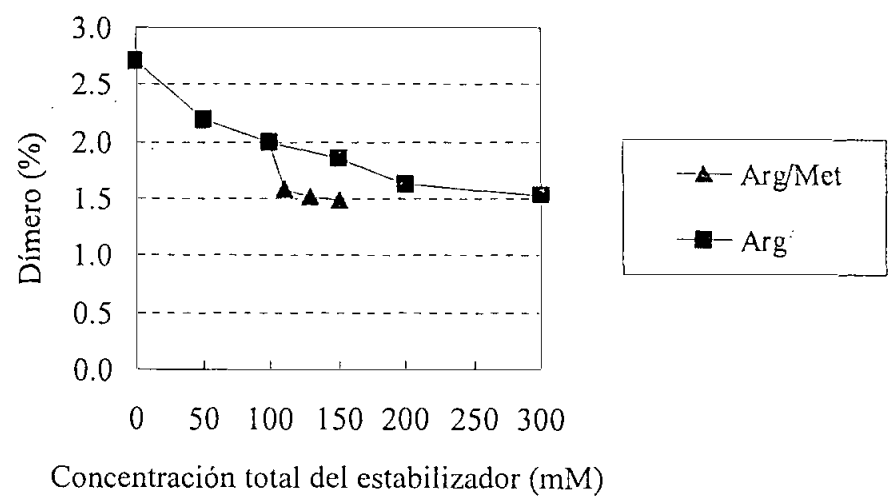


Fig. 3

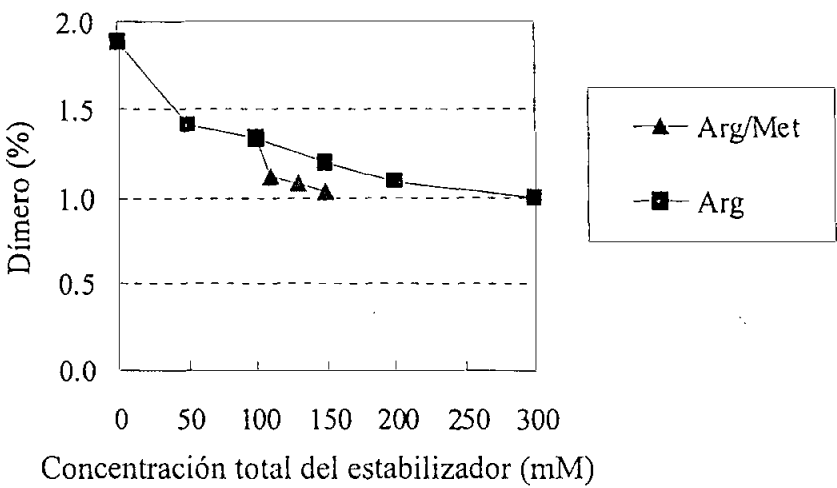


Fig. 4

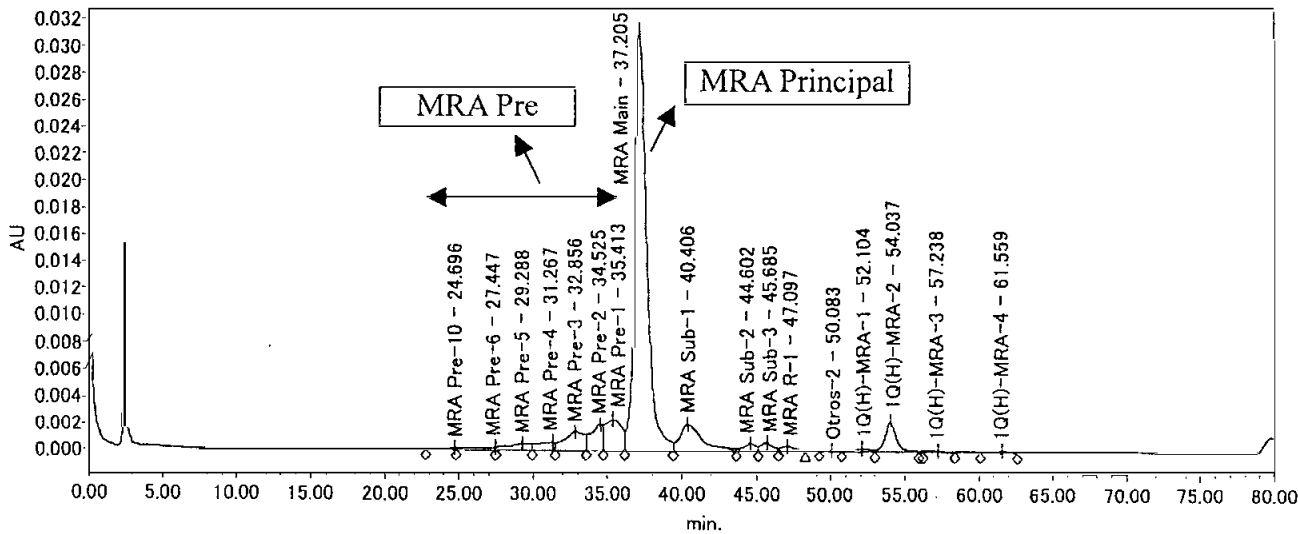


Fig. 5

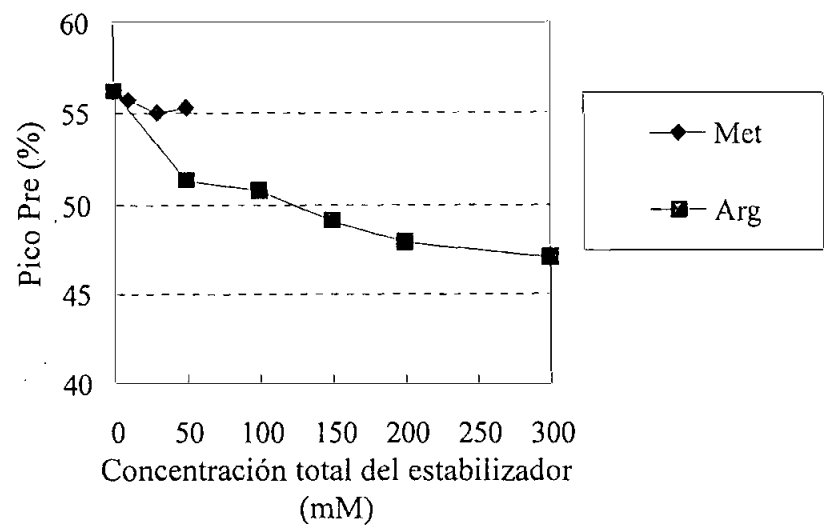


Fig. 6

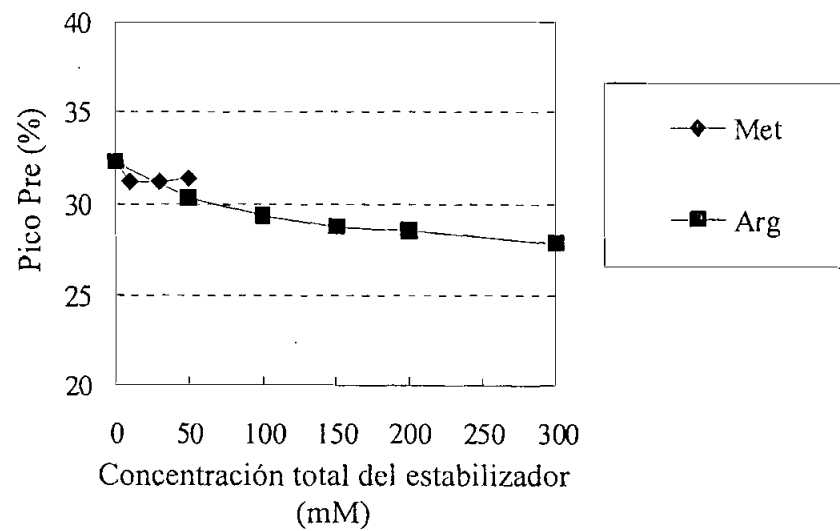


Fig. 7

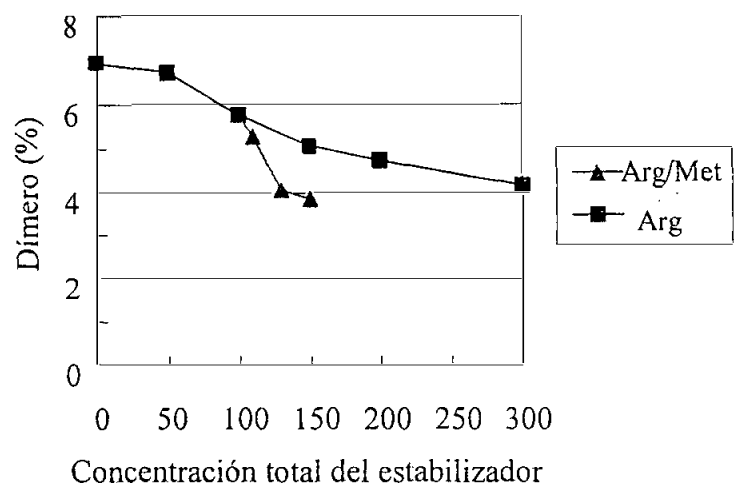
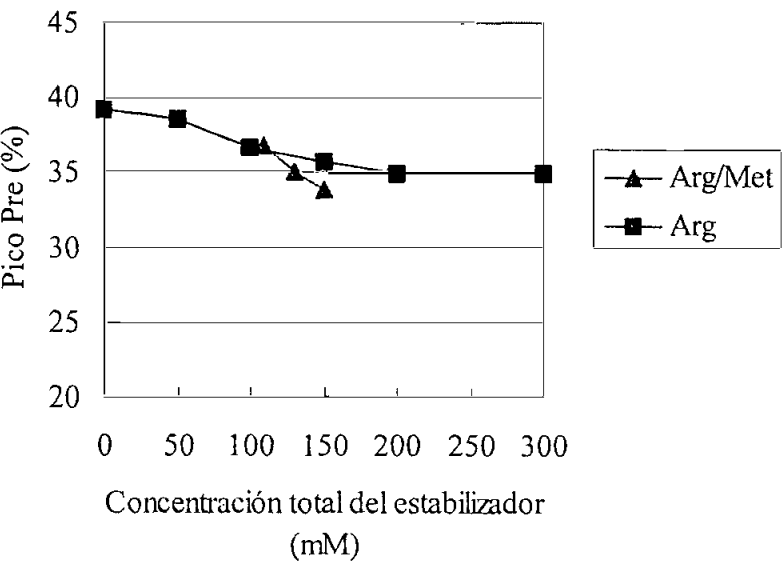


Fig. 8



103

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2008/073798

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K39/395(2006.01)i, A61K9/08(2006.01)i, A61K47/18(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K39/395, A61K9/08, A61K47/18, A61P43/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched <table border="0"> <tr> <td>Jitsuyo Shinan Koho</td> <td>1922-1996</td> <td>Jitsuyo Shinan Toroku Koho</td> <td>1996-2009</td> </tr> <tr> <td>Kokai Jitsuyo Shinan Koho</td> <td>1971-2009</td> <td>Toroku Jitsuyo Shinan Koho</td> <td>1994-2009</td> </tr> </table> Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)			Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2009	Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2009	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2009				
Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2009											
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2009	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2009											
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X Y</td> <td>JP 2005-527503 A (Immunex Corp.), 15 September, 2005 (15.09.05), Claims 1 to 30 & US 2003/0180287 A1 & EP 1478394 A & WO 2003/072060 A2</td> <td>19 1-18, 20</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2007-511566 A (ZLB Behring AG.), 10 May, 2007 (10.05.07), Claims 1 to 21 & US 2007/0122402 A1 & EP 1532983 A1 & WO 2005/049078 A2</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 02/13860 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 21 February, 2002 (21.02.02), Claims 1 to 35 & US 2003/0190316 A1 & EP 1314437 A1</td> <td>1-20</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X Y	JP 2005-527503 A (Immunex Corp.), 15 September, 2005 (15.09.05), Claims 1 to 30 & US 2003/0180287 A1 & EP 1478394 A & WO 2003/072060 A2	19 1-18, 20	Y	JP 2007-511566 A (ZLB Behring AG.), 10 May, 2007 (10.05.07), Claims 1 to 21 & US 2007/0122402 A1 & EP 1532983 A1 & WO 2005/049078 A2	1-20	Y	WO 02/13860 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 21 February, 2002 (21.02.02), Claims 1 to 35 & US 2003/0190316 A1 & EP 1314437 A1	1-20
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
X Y	JP 2005-527503 A (Immunex Corp.), 15 September, 2005 (15.09.05), Claims 1 to 30 & US 2003/0180287 A1 & EP 1478394 A & WO 2003/072060 A2	19 1-18, 20												
Y	JP 2007-511566 A (ZLB Behring AG.), 10 May, 2007 (10.05.07), Claims 1 to 21 & US 2007/0122402 A1 & EP 1532983 A1 & WO 2005/049078 A2	1-20												
Y	WO 02/13860 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 21 February, 2002 (21.02.02), Claims 1 to 35 & US 2003/0190316 A1 & EP 1314437 A1	1-20												
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.														
* Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</td> <td>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>"&" document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed			
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention													
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone													
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art													
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family													
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
Date of the actual completion of the international search 21 January, 2009 (21.01.09)		Date of mailing of the international search report 03 February, 2009 (03.02.09)												
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer												
Facsimile No.		Telephone No.												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2008/073798

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2007-204498 A (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 16 August, 2007 (16.08.07), Claims 1 to 26 & US 6908610 B1 & EP 1197221 A1 & WO 2000/051629 A1	1-20

AC Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 039/395	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA Y F. HOFFMANN-LA ROCHE AG	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 2007-336310	(32) Fecha 27/12/2007	(33) País JP
		(72) Inventor(es) TOSHIYUKI MORICHIKA Y OTROS	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 27/07/2010	(87) Publicación internacional		
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 09/07/2009		
Fecha de presentación de la solicitud: 26/12/2008	N° publicación: WO 2009/084659		
No. de solicitud PCT/JP2008/073798			
(54) Título: PREPARACION DE SOLUCION QUE CONTIENE ANTICUERPOS EN UNA ALTA CONCENTRACION			

Reivindicación(es):

- Una formulación líquida estable que contiene anticuerpos que comprende arginina y metionina.
- La formulación de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque comprende adicionalmente un agente regulador de histidina.
- La formulación de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, caracterizada además porque comprende adicionalmente un agente tensoactivo.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada además porque contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 50 mg/ml.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada además porque contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 100 mg/ml.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada además porque contiene el anticuerpo en una cantidad de al menos 120 mg/ml.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque el anticuerpo es un anticuerpo anti-IL-6 de receptor.
- Una formulación líquida estable que contiene un anticuerpo anti-IL-6 de receptor que comprende ya sea arginina o metionina.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o anticuerpo humano.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque comprende adicionalmente triptofano.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque tiene el pH en una escala de 4 a 8.

- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque la arginina está presente en una cantidad de 50 a 1500mM.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque tiene una viscosidad de 2 a 15 mPa-s.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada además porque es estable a 22-28°C por al menos 6 meses.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque se inhibe la dimerización de las moléculas de anticuerpo.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque se inhibe la desamidación de las moléculas de anticuerpo.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque es para administración subcutánea.
- La formulación de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada además porque no se sujetó a la liofilización durante la preparación de la formulación.
- Un método para inhibir la desamidación de moléculas de un anticuerpo en una formulación líquida que contiene el anticuerpo, que comprende agregar arginina a la formulación líquida.
- Un método para inhibir la dimerización de moléculas de un anticuerpo en una formulación líquida que contiene el anticuerpo, que comprende agregar arginina y metionina a la formulación líquida.

206

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-091445- -00000-0000

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 59,094
FECHA : JULIO 21 DE 2010

Fecha: 2010-07-27 16:23:16 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 106

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111250491	19/07/2010	31,979,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-02	PRORROGAS Y RENOVACIONES	30 PRORROGAS Y RENOVACIONES
			TOTAL : \$ 819,000.00

SON: OCHOCIENTOS DIEZ Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Cdo 17753-841-0016

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

- | | |
|-----------------------------------|---|
| ☐ | Indicación que se solicita una patente. |
| ☐ | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud |
| ☐ | Descripción de la invención |
| ☐ | Dibujos de ser estos pertinentes |
| ☐ | Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento) |
| Completa ☐ | Incompleta ☐ |

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- | | |
|--|---|
| ☒ | Indicación que se solicita una PCT |
| ☒ | Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen) |
| ☒ | Dibujos de ser estos pertinentes |
| ☒ | Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento) |
| Completa ☒ | Incompleta ☐ |

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- | | |
|-----------------------------------|---|
| ☐ | Indicación que se solicita Diseño industrial |
| ☐ | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud |
| ☐ | Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño |
| ☐ | Comprobante de pago de las tasas establecidas |
| Completa ☐ | Incompleta ☐ |

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- | | |
|-----------------------------------|---|
| ☐ | Indicación que se solicita un esquema de trazado |
| ☐ | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud |
| ☐ | Representación gráfica de un esquema de trazado |
| ☐ | Comprobante de pago de las tasas establecidas |
| Completa ☐ | Incompleta ☐ |



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
F. HOFFMANN - LA ROCHE AG

REFERENCIA	Radicación No.	10 091445
	Solicitud internacional	PCT/JP2008/073798
	Fecha inicio fase nacional	27/07/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

Nº 1 0363

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

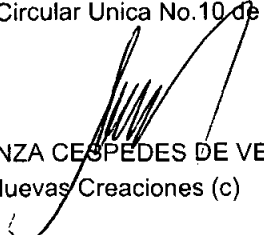
Continúa en la página siguiente...



Continuación radicado No: 10 091445



Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 13 AGO. 2010
adpa11