



No. 11-179622- -00006-0000

Fecha: 2012-10-10 15:29:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 400 OPOSIOBSERVTER Folios: 37 38

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
PRESENTACIÓN DE OPOSICIÓN

1. Oposición a solicitud de:

- ☒ Patente de invención
☐ Registro de Diseño Industrial
☐ Patente de Modelo de Utilidad
☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

Número de expediente: 11 179.622

Solicitante: ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP

Apoderado: GERMAN CASTILLO GRAU

Título de la Nueva Creación: ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS

Gaceta: 648

2. Datos del Opositor

☐ Persona Natural ☒ Persona Jurídica
PROCAPS S.A.

Nombre o denominación /Razón social completa

WALTER TANAKA TATEKAWA

Nombre del representante legal

Documento de identificación: C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☒ Otro ☐ Cuál

Número 890106527-5

Dirección: CALLE 80 78B 201 Ciudad BARRANQUILLA

Teléfono 055 3719900 Fax: Correo electrónico

☒ Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico

3. Datos del representante o apoderado:

MORENO BOHORQUEZ ELIANA ISAURA

51.975.664

83823

Apellidos y Nombre

Documento de identificación

Tarjeta profesional

Dirección del representante

CRA 13 119-95 OFICINA 104

Dirección electrónica
negocios@optimum-co.com

No. Fax
(571)6121979

Número telefónico
(571)2131213

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general:

4. Fundamentos de la oposición

Causal Art14, 16, 18,20 y 30 de la decisión 486 de la CAN no cumple con los requisitos De patentabilidad.

Justificación: La presente solicitud no cumple con los requisitos de patentabilidad dado que lo revelado, ya se encontraba en el estado de la técnica o es posible derivarlo de la misma tal y como se demostrará en el capítulo "fundamento de hecho".

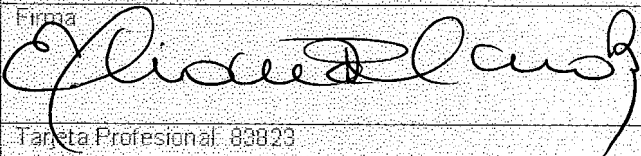
Prórroga: SI ☐ NO ☐

5. Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa.
- ☒ Poder, si fuera el caso.
- ☒ Fundamentos de la oposición. Se anexan 9 folios (obligatorios indicar cuántos).
- ☒ Anexo de fundamentos de la oposición. Se anexan 14 folios (obligatorios indicar cuántos)
- ☒ Copias para traslado.
- ☐ Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético.

6. Firma

Nombre del Firmante
ELIANA ISAURA MORENO BOHORQUEZ
CC: 51.975.654

Firma

Tarjeta Profesional 83823

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 106544	
				Bogotá D.C., Octubre 10 de 2012 - 14:40:38	
RECIBIDO DE : PROCAPS S.A.			NI 890.106.527		
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	144688316	10/10/2012	5.040.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO	
1 50005-01-04	PRESENTACION DE OBSERVACIONES A SOLICITUDES	12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	315.000.00	315.000.00	
				\$315.000.00	
=====					
SON: **TRESCIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 11-179622- -00006-0000 Fecha: 2012-10-10 15:29:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 400 OPOSIOBSERVTER Folios: 37 38					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
, Octubre 10 de 2012 - 14:40:39					

Señor Director,
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Referencia : Expediente N° 11 179622
Asunto : Oposición a la solicitud de patente de Invención titulada
"ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS"
Solicitante : ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP.
Opositora : PROCAPS S.A.

Publicada en la Gaceta de la Propiedad Industrial
N° 648 del 16 de julio de 2012

Yo, *ELIANA ISAURA MORENO BOHÓRQUEZ*, abogada en ejercicio, identificada como aparece al pie de su firma, con tarjeta profesional No. 83823 del Consejo Superior de la Judicatura, en mi condición de apoderada de la sociedad **PROCAPS S.A.** conformada bajo las leyes de la República de Colombia y domiciliada en la ciudad de Barranquilla, Colombia, atentamente manifiesto que estando dentro del término de ley y por orden expresa de mi representada, presento oposición a la concesión del registro de la Patente de Invención titulada "**ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS**", cuyo titular **ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP**, y pido a Usted declarar fundada esta oposición y en consecuencia negar el registro de la patente solicitada.

Carrera 13 N° 119-95, Of. 104 Tel. (571) 2 13 12-13 - 6 20 50 21 - Fax. (571) 6 12 19 79
E-mail: negocios@optimum-co.com - www.optimum-co.com
Bogotá Colombia

1. INTERÉS PARA ACTUAR

Conforme a lo dispuesto en el artículo 42 de la Decisión 486 de 2000 de la CAN, estando dentro del término estipulado por la ley, manifiesto el legítimo interés de nuestra representada para oponerse al registro de la patente de la referencia, atendiendo a que la solicitud pretendida no cumple con los requisitos dispuestos en la ley como se analizará más adelante y de ser concedida afectaría directamente la comercialización de algunos productos de mi representada, que contienen, en particular **anticuerpos**. Por lo tanto, solicito respetuosamente a ese Despacho se sirva tener en cuenta la presente oposición dentro del trámite administrativo que se surte en esta Superintendencia.

2. FUNDAMENTOS DE HECHOS

2.1. La solicitud objeto de la presente fue presentada el 28 de diciembre de 2011, reivindicando prioridad bajo la solicitud US20090218005P del 2009-06-17; y fue publicada en Colombia, en la Gaceta de la Propiedad Industrial N° 648 del 16 de julio de 2012, cuya publicación internacional corresponde a la WO2010148223 del 2010-12-23.

2.2. La solicitud colombiana 11 179.622 objeto de la presente oposición, se refiere a variantes del anticuerpo anti-VEGF bevacizumab con inmunogenicidad reducida y/o afinidad mejorada hacia VEGF, en comparación con bevacizumab o ranibizumab. Bevacizumab tiene tres CDRs de la cadena pesada, denominadas aquí

(en orden desde el terminal amino al carboxi) CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3, y tres CDRs de la cadena liviana, denominadas aquí (en orden desde el terminal amino al carboxi) CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3. Las secuencias de las CDRs de bevacizumab se muestran en las Figuras 1A y 1B, y su numeración se presenta en la Tabla 1 (para las CDRs de la cadena pesada) y la Tabla 2 (para las CDRs de la cadena liviana). Un anticuerpo relacionado, ranibizumab, fue generado por maduración de la afinidad de bevacizumab. Ranibizumab tiene las secuencias de CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 y CDR-H2 idénticas a bevacizumab, pero varía en sus secuencias de CDR-H1 y CDR-H3 de las de bevacizumab. Las secuencias de las cadenas pesada y liviana de ranibizumab se muestran en la Figura 1C, y las CDRs se presentan en la Figura 1D.

2.3. En primera instancia, se debe advertir que algunas reivindicaciones se refieren al uso y a un método de tratamiento y no sólo a la composición farmacológica o a un método de fabricación mediante la cual se obtenga un producto tangible y según la legislación, decisión 486 de la Comunidad Andina de Naciones, Artículo 14.- *“Los Países Miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o de procedimiento (...)”*, los usos no están contemplados como patentables; y, Artículo 20.- *“No serán patentables (...) d) los métodos terapéuticos o quirúrgicos para el tratamiento humano o animal, así como los métodos de diagnóstico aplicados a los seres humanos o a animales”*. Solo serán patentables los productos o procedimientos. Por lo tanto a luz de la norma, dicha materia referente al uso y a un método de tratamiento no sería patentable.

2.4. Ahora bien, con base en el artículo 14 de la Decisión 486 de la CAN consagra lo siguiente: *“Los países miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o procedimiento, en todos los campos de la tecnología, siempre que sean nuevas, tengan nivel*

inventivo y sean susceptibles de aplicación industrial". Así las cosas, las invenciones objeto de patente deben ser nuevas y tener nivel inventivo. Bien, pues antes de la fecha de prioridad de esta solicitud se encuentran los siguientes documentos que afecta la patentabilidad de la presente solicitud:

- D1: US20020032315 publicada el 14 de marzo de 2002.

2.5. Ahora bien, el documento D1, particularmente en la descripción revela anticuerpos humanizados y variantes anti-VEGF y para ello se describen diversos usos. Los anticuerpos anti-VEGF tienen fuertes afinidades de unión de VEGF; inhibir VEGF inducida por la proliferación de células endoteliales *in vitro*, y inhibir el crecimiento tumoral *in vivo*. El documento D1 revela también anticuerpos anti-VEGF, y el ejemplo 3 detalla la construcción de diferentes mutantes, las mutaciones que se realizan en las regiones CDR con la finalidad de aumentar la afinidad, tal como se describe en los párrafos 288 al 304 y la Tabla 5 de D1. La única diferencia con la presente solicitud es que este último se refiere a un anticuerpo específico tal como se define por sus 6 COR. Un efecto técnico que supone esta diferencia no es evidente. Esta solución sin embargo no puede ser considerada como que implica una actividad inventiva por que a partir de D2 es posible proponer algunas mutaciones en las regiones CORS con el fin de mejorar la afinidad del anticuerpo. Por lo tanto, la necesidad de más anticuerpos alentaría a los expertos a seguir ese camino. Además, los datos presentados en los ejemplos no muestran si el problema se ha resuelto realmente, es decir, los anticuerpos tienen las propiedades esperadas de un aumento o incluso la misma afinidad o una inmunogenicidad disminuida. Así las cosas, a partir de lo que evidencia dicho

documento D1, la presente solicitud se deriva de manera evidente de la técnica, por lo tanto, la presente solicitud carece evidentemente de altura inventiva.

2.6. Por lo tanto, este documento objeto de oposición a la luz del documento D1 carece evidentemente de ALTURA INVENTIVA.

2.7. En consecuencia y de acuerdo a lo descrito anteriormente, se deriva que la solicitud colombiana 11 179.622 no puede pretender un monopolio por patente toda vez que lo que pretende no cumple con dos de los tres requisitos necesarios para su protección.

2.8. Que por consiguiente, respecto a la solicitud pretendida se tiene que:

2.8.1. CARENCIA DE ALTURA INVENTIVA. Según la Decisión 486 de la Comunidad Andina de Naciones, Artículo 18.- *“Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica.”*. A la fecha de prioridad, 17 de junio de 2009, a partir del documento D1, puede llegar de manera evidente a variantes del anticuerpo anti-VEGF bevacizumab con inmunogenicidad reducida y/o afinidad mejorada hacia VEGF, sobre el cual busca protección en el capítulo reivindicatorio.

2.8.2. CARENCIA DE APLICACIÓN INDUSTRIAL La Decisión 486 de la CAN consagra en su artículo 14 lo siguiente: *“Los países miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o procedimiento, en todos los campos de la tecnología, siempre que sean nuevas, tengan nivel inventivo y sean susceptibles de*

aplicación industrial". La presente solicitud carece de aplicación Industrial ya que como se demostró anteriormente, algunas cláusulas reclaman el método terapéutico y estos no son aplicables industrialmente porque primero no se obtiene un producto o proceso; y segundo no es reproducible o repetible a escala industrial. Por lo tanto, el objeto de la presente invención referido a los usos y métodos terapéuticos, no cumplen con el requisito de la aplicación industrial.

2.9. Dado lo anterior, es posible deducir que la solicitud y lo reivindicado no es objeto de patentabilidad pues es contrario a lo que dicta la Decisión 486 de la Comunidad Andina de Naciones, Artículo 14.- *"Los Países Miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o de procedimiento, en todos los campos de la tecnología, siempre que sean nuevas, tengan nivel inventivo y sean susceptibles de aplicación industrial."* La solicitud pretendida no cumple con los tres requisitos de patentabilidad.

2.10. Por todo lo anterior, atentamente solicito a usted que se sirva declarar fundada **"ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS"**, cuyo titular **ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP**, solicitud Colombiana que apareció publicada en la Gaceta de la Propiedad Industrial N° 648 del 16 de julio de 2012.

3. PRUEBAS

De conformidad con lo dispuesto por las normas vigentes, solicito a usted tener como prueba en este asunto los siguientes:

- D1: US20020032315 publicada el 14 de marzo de 2002.

4. FUNDAMENTO DE DERECHO

Fundamento esta observación en las normas legales siguientes:

- 4.1. Numeral 1 del artículo 586 del Código de Comercio.
- 4.2. Artículo 42 de la Decisión 486 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena.
- 4.3. En las demás normas concordantes.

5. ANEXOS

Para los efectos correspondientes anexo al presente escrito los siguientes documentos:

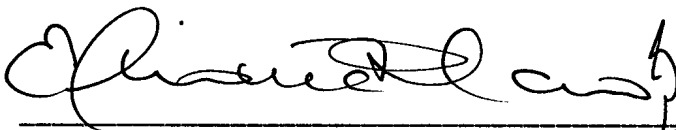
1. Poder para actuar en el presente.
2. Documento que acredita al representante legal de **PROCAPS S.A.**
3. Recibo de caja del respectivo pago de tasa.
4. Copias de los documentos:

- D1: US20020032315 publicada el 14 de marzo de 2002.

6. NOTIFICACIONES

Para efectos de notificaciones que por disposición del artículo 50 del Decreto 01 de 1984 debe hacer su Despacho, informo que mi representada y la suscrita recibiremos notificaciones en la Secretaría de su Despacho o en mis oficinas situadas en la Carrera 13 N° 119-95, Of. 104 de esta ciudad de Bogotá.

Señor Superintendente,



ELIANA ISAURA MORENO BOHORQUEZ

C.C. 51'975.664 de Bogotá

T.P.A. 83823 del C.S. de la J.

ANEXO 1



US 20020032315A1

(19) **United States**

(12) **Patent Application Publication** (10) **Pub. No.: US 2002/0032315 A1**
BACA et al. (43) **Pub. Date: Mar. 14, 2002**

(54) **ANTI-VEGF ANTIBODIES**

(22) Filed: **Apr. 6, 1998**

(76) Inventors: **MANUEL BACA, BLACK ROCK (AU); JAMES A. WELLS, BURLINGAME, CA (US); LEONARD G. PRESTA, SAN FRANCISCO, CA (US); HENRY B. LOWMAN, EL GRANADA, CA (US); YVONNE MAN-YEE CHEN, SAN MATEO, CA (US)**

Correspondence Address:

**STEVEN X. CUI
GENENTECH, INC.
1 DNA WAY
SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080-4990
(US)**

Related U.S. Application Data

(63) Non-provisional of provisional application No. 60/054,856, filed on Aug. 6, 1997.

Publication Classification

(51) Int. Cl.⁷ **A61K 39/395; A61K 39/40; A61K 39/42; C07K 16/00; C12P 21/08**

(52) U.S. Cl. **530/388.23; 530/387.1; 530/388.1**

(57) **ABSTRACT**

(*) Notice: This is a publication of a continued prosecution application (CPA) filed under 37 CFR 1.53(d).

(21) Appl. No.: **09/056,160**

Humanized and variant anti-VEGF antibodies and various uses therefor are disclosed. The anti-VEGF antibodies have strong binding affinities for VEGF; inhibit VEGF-induced proliferation of endothelial cells in vitro; and inhibit tumor growth in vivo.

ANTI-VEGF ANTIBODIES

BACKGROUND OF THE INVENTION

[0001] 1. Field of the Invention

[0002] This invention relates generally to anti-VEGF antibodies and, in particular, to humanized anti-VEGF antibodies and variant anti-VEGF antibodies.

[0003] 2. Description of Related Art

[0004] It is now well established that angiogenesis is implicated in the pathogenesis of a variety of disorders. These include solid tumors, intraocular neovascular syndromes such as proliferative retinopathies or age-related macular degeneration (AMD), rheumatoid arthritis, and psoriasis (Folkman et al. *J. Biol. Chem.* 267:10931-10934 (1992); Klagsbrun et al. *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-239 (1991); and Garner A, *Vascular diseases. In: Pathobiology of ocular disease. A dynamic approach.* Garner A, Klintworth G K, Eds. 2nd Edition Marcel Dekker, NY, pp 1625-1710 (1994)). In the case of solid tumors, the neovascularization allows the tumor cells to acquire a growth advantage and proliferative autonomy compared to the normal cells. Accordingly, a correlation has been observed between density of microvessels in tumor sections and patient survival in breast cancer as well as in several other tumors (Weidner et al. *N Engl J Med* 324:1-6 (1991); Horak et al. *Lancet* 340:1120-1124 (1992); and Macchiarini et al. *Lancet* 340:145-146 (1992)).

[0005] The search for positive regulators of angiogenesis has yielded many candidates, including aFGF, bFGF, TGF- α , TGF- β , HGF, TNF- α , angiogenin, IL-8, etc. (Folkman et al. and Klagsbrun et al.). The negative regulators so far identified include thrombospondin (Good et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87:6624-6628 (1990)), the 16-kilodalton N-terminal fragment of prolactin (Clapp et al. *Endocrinology*, 133:1292-1299 (1993)), angiostatin (O'Reilly et al. *Cell*, 79:315-328 (1994)) and endostatin (O'Reilly et al. *Cell*, 88:277-285 (1996)).

[0006] Work done over the last several years has established the key role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the regulation of normal and abnormal angiogenesis (Ferrara et al. *Endocr. Rev.* 18:4-25 (1997)). The finding that the loss of even a single VEGF allele results in embryonic lethality points to an irreplaceable role played by this factor in the development and differentiation of the vascular system (Ferrara et al.). Furthermore, VEGF has been shown to be a key mediator of neovascularization associated with tumors and intraocular disorders (Ferrara et al.). The VEGF mRNA is overexpressed by the majority of human tumors examined (Berkman et al. *J Clin Invest* 91:153-159 (1993); Brown et al. *Human Pathol.* 26:86-91 (1995); Brown et al. *Cancer Res.* 53:4727-4735 (1993); Mattern et al. *Brit. J. Cancer.* 73:931-934 (1996); and Dvorak et al. *Am J. Pathol.* 146:1029-1039 (1995)). Also, the concentration of VEGF in eye fluids are highly correlated to the presence of active proliferation of blood vessels in patients with diabetic and other ischemia-related retinopathies (Aiello et al. *N. Engl. J. Med.* 331:1480-1487 (1994)). Furthermore, recent studies have demonstrated the localization of VEGF in choroidal neovascular membranes in patients affected by AMD (Lopez et al. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 37:855-868 (1996)). Anti-VEGF neutralizing anti-

bodies suppress the growth of a variety of human tumor cell lines in nude mice (Kim et al. *Nature* 362:841-844 (1993); Warren et al. *J. Clin. Invest.* 95:1789-1797 (1995); Borgström et al. *Cancer Res.* 56:4032-4039 (1996); and Melnyk et al. *Cancer Res.* 56:921-924 (1996)) and also inhibit intraocular angiogenesis in models of ischemic retinal disorders (Adamis et al. *Arch. Ophthalmol.* 114:66-71 (1996)). Therefore, anti-VEGF monoclonal antibodies or other inhibitors of VEGF action are promising candidates for the treatment of solid tumors and various intraocular neovascular disorders.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0007] This application describes humanized anti-VEGF antibodies and anti-VEGF antibody variants with desirable properties from a therapeutic perspective, including strong binding affinity for VEGF; the ability to inhibit VEGF-induced proliferation of endothelial cells in vitro; and the ability to inhibit VEGF-induced angiogenesis in vivo.

[0008] The preferred humanized anti-VEGF antibody or variant anti-VEGF antibody herein binds human VEGF with a K_d value of no more than about 1×10^{-8} M and preferably no more than about 5×10^{-9} M. In addition, the humanized or variant anti-VEGF antibody may have an ED50 value of no more than about 5 nM for inhibiting VEGF-induced proliferation of endothelial cells in vitro. The humanized or variant anti-VEGF antibodies of particular interest herein are those which inhibit at least about 50% of tumor growth in an A673 in vivo tumor model, at an antibody dose of 5 mg/kg.

[0009] In one embodiment, the anti-VEGF antibody has a heavy and light chain variable domain, wherein the heavy chain variable domain comprises hypervariable regions with the following amino acid sequences: CDRH1 (GYX₁FTX₂YGMN, wherein X₁ is T or D and X₂ is N or H; SEQ ID NO:128), CDRH2 (WINTYTGEPTYAADFKR; SEQ ID NO:2) and CDRH3 (YPX₁YYGX₂SHWYFDV, wherein X₁ is Y or H and X₂ is S or T; SEQ ID NO:129). For example, the heavy chain variable domain may comprise the amino acid sequences of CDRH1 (GYTFTNYGMN; SEQ ID NO:1), CDRH2 (WINTYTGEPTYAADFKR; SEQ ID NO:2) and CDRH3 (YPHYYGSSHWYFDV; SEQ ID NO:3). Preferably, the three heavy chain hypervariable regions are provided in a human framework region, e.g., as a contiguous sequence represented by the following formula: FR1-CDRH1-FR2-CDRH2-FR3-CDRH3-FR4.

[0010] The invention further provides an anti-VEGF antibody heavy chain variable domain comprising the amino acid sequence: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYX₁FTX₂YGMNWVRQAPGKGLEWVGWI NTYTGEPT YAADFKRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSL RAEDTAVYYCAKYPX₃YYGX₄SHWYFDVWGQGTLV TVSS (SEQ ID NO:125), wherein X₁ is T or D; X₂ is N or H; X₃ is Y or H and X₄ is S or T. One particularly useful heavy chain variable domain sequence is that of the F(ab)-12 humanized antibody of Example 1 and comprises the heavy chain variable domain sequence of SEQ ID NO:7. Such preferred heavy chain variable domain sequences may be combined with the following preferred light chain variable domain sequences or with other light chain variable domain sequences, provided that the antibody so produced binds human VEGF.

Tech. 2:3-10 (1990)). Media was changed to serum-free and harvested daily for up to five days. Antibodies were purified from the pooled supernatants using protein A-Sepharose CL-4B (Pharmacia). The eluted antibody was buffer exchanged into PBS using a Centricon-30 (Amicon), concentrated to 0.5 ml, sterile filtered using a Millex-GV (Millipore, Bedford, Mass.) and stored at 4° C.

[0219] For stable expression of the final humanized IgG1 variant (rhuMAb VEGF), Chinese hamster ovary (CHO) cells were transfected with dicistronic vectors designed to coexpress both heavy and light chains (Lucas et al., *Nucleic Acid Res.* 24:1774-79 (1996)). Plasmids were introduced into DP12 cells, a proprietary derivative of the CHO-K1 DUX B11 cell line developed by L. Chasin (Columbia University), via lipofection and selected for growth in GHT-free medium (Chisholm, V. High efficiency gene transfer in mammalian cells. In: Glover, D M, Hames, B D. *DNA Cloning 4. Mammalian systems*. Oxford Univ. Press, Oxford pp 1-41 (1996)). Approximately 20 unamplified clones were randomly chosen and reseeded into 96 well plates. Relative specific productivity of each colony was monitored using an ELISA to quantitate the full length human IgG accumulated in each well after 3 days and a fluorescent dye, Calcein AM, as a surrogate marker of viable cell number per well. Based on these data, several unamplified clones were chosen for further amplification in the presence of increasing concentrations of methotrexate. Individual clones surviving at 10, 50, and 100 nM methotrexate were chosen and transferred to 96 well plates for productivity screening. One clone, which reproducibly exhibited high specific productivity, was expanded in T-flasks and used to inoculate a spinner culture. After several passages, the suspension-adapted cells were used to inoculate production cultures in GHT-containing, serum-free media supplemented with various hormones and protein hydrolysates. Harvested cell culture fluid containing rhuMAb VEGF was purified using protein A-Sepharose CL-4B. The purity after this step was ~99%. Subsequent purification to homogeneity was carried out using an ion exchange chromatography step. The endotoxin content of the final purified antibody was <0.10 eu/mg.

[0220] F(ab) and IgG Quantitation:

[0221] For quantitating F(ab) molecules, ELISA plates were coated with 2 µg/ml goat anti-human IgG Fab (Organon Teknika, Durham, N.C.) in 50 mM carbonate buffer, pH 9.6, at 4° C. overnight and blocked with PBS-0.5% bovine serum albumin (blocking buffer) at room temperature for 1 h. Standards (0.78-50 ng/ml human F(ab)) were purchased from Chemicon (Temecula, Calif.). Serial dilutions of samples in PBS-0.5% bovine serum albumin-0.05% polysorbate 20 (assay buffer) were incubated on the plates for 2 h. Bound F(ab) was detected using horseradish peroxidase-labeled goat anti-human IgG F(ab) (Organon Teknika), followed by 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, Md.) as the substrate. Plates were washed between steps. Absorbance was read at 450 nm on a Vmax plate reader (Molecular Devices, Menlo Park, Calif.). The standard curve was fit using a four-parameter nonlinear regression curve-fitting program. Data points which fell in the range of the standard curve were used for calculating the F(ab) concentrations of samples. The concentration of full-length antibody was determined using goat anti-human IgG Fc (Cappel, Westchester, Pa.) for capture and horseradish peroxidase-

labeled goat anti-human Fc (Cappel) for detection. Human IgG1 (Chemicon) was used as standard.

[0222] VEGF Binding Assay:

[0223] For measuring the VEGF binding activity of F(ab)s, ELISA plates were coated with 2 µg/ml rabbit F(ab)₂ to human IgG Fc (Jackson ImmunoResearch, West Grove, Pa.) and blocked with blocking buffer (described above). Diluted conditioned medium containing 3 ng/ml of KDR-IgG (Park et al., *J. Biol. Chem.* 269:25646-25645 (1994)) in blocking buffer were incubated on the plate for 1 h. Standards (6.9-440 ng/ml chimeric F(ab)) and two-fold serial of samples were incubated with 2 nM biotinylated VEGF for 1 h in tubes. The solutions from the tubes were then transferred to the ELISA plates and incubated for 1 h. After washing, biotinylated VEGF bound to KDR was detected using horseradish peroxidase-labeled streptavidin (Zymed, South San Francisco, Calif. or Sigma, St. Louis, Mo.) followed by 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine as the substrate. Titration curves were fit with a four-parameter nonlinear regression curve-fitting program (KaleidaGraph, Synergy Software, Reading Pa.). Concentrations of F(ab) variants corresponding to the midpoint absorbance of the titration curve of the standard were calculated and then divided by the concentration of the standard corresponding to the midpoint absorbance of the standard titration curve. Assays for full-length IgG were the same as for the F(ab)s except that the assay buffer contained 10% human serum.

[0224] BIAcore™ Biosensor Assay:

[0225] VEGF binding of the humanized and chimeric F(ab)s were compared using a BIAcore™ biosensor (Karlsson et al. *Methods: A Comparison to Methods in Enzymology* 6:97-108 (1994)). Concentrations of F(ab)s were determined by quantitative amino acid analysis. VEGF was coupled to a CM-5 biosensor chip through primary amine groups according to manufacturer's instructions (Pharmacia). Off-rate kinetics were measured by saturating the chip with F(ab) (35 µl of 2 µM F(ab) at a flow rate of 20 µl/min) and then switching to buffer (PBS-0.05% polysorbate 20). Data points from 0-4500 sec were used for off-rate kinetic analysis. The dissociation rate constant (k_{off}) was obtained from the slope of the plot of $\ln(R_0/R)$ versus time, where R_0 is the signal at $t=0$ and R is the signal at each time point.

[0226] On-rate kinetics were measured using two-fold serial dilutions of F(ab) (0.0625-2 mM). The slope, K_s , was obtained from the plot of $\ln(-dR/dt)$ versus time for each F(ab) concentration using the BIAcore™ kinetics evaluation software as described in the Pharmacia Biosensor manual. R is the signal at time t . Data between 80 and 168, 148, 128, 114, 102, and 92 sec were used for 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, and 2 mM F(ab), respectively. The association rate constant (k_{on}) was obtained from the slope of the plot of K_s versus F(ab) concentration. At the end of each cycle, bound F(ab) was removed by injecting 5 µl of 50 mM HCl at a flow rate of 20 µl/min to regenerate the chip.

[0227] Endothelial Cell Growth Assay:

[0228] Bovine adrenal cortex-derived capillary endothelial cells were cultured in the presence of low glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (GIBCO) supplemented with 10% calf serum, 2 mM glutamine, and antibiotics (growth medium), essentially as previously described (Leung et al. *Science* 246:1306-1309 (1989)). For

mitogenic assays, endothelial cells were seeded at a density of 6×10^3 cells per well, in 6-well plates in growth medium. Either muMAb VEGF A.4.6.1 or rhuMAb VEGF was then added at concentrations ranging between 1 and 5000 ng/ml. After 2-3 hr, purified *E. coli*-expressed rhVEGF165 was added to a final concentration of 3 ng/ml. For specificity control, each antibody was added to endothelial cells at the concentration of 5000 ng/ml, either alone or in the presence of 2 ng/ml bFGF. After five or six days, cells were dissociated by exposure to trypsin and counted in a Coulter counter (Coulter Electronics, Hialeah, Fla.). The variation from the mean did not exceed 10%. Data were analyzed by a four-parameter curve fitting program (Kaleidagraph).

[0229] In Vivo Tumor Studies:

[0230] Human A673 rhabdomyosarcoma cells (ATCC; CRL 1598) were cultured as previously described in DMEM/F12 supplemented with 10% fetal bovine serum, 2 mM glutamine and antibiotics (Kim et al. *Nature* 362:841-844 (1993) and Borgström et al. *Cancer Res.* 56:4032-4039 (1996)). Female BALB/c nude mice, 6-10 weeks old, were injected subcutaneously with 2×10^6 tumor cells in the dorsal area in a volume of 200 μ l. Animals were then treated with muMAb VEGF A.4.6.1, rhuMAb VEGF or a control MAb directed against the gp120 protein (Kim et al. *Nature* 362:841-844 (1993)). Both anti-VEGF MABs were administered at the doses of 0.5 and 5 mg/kg; the control MAB was given at the dose of 5 mg/kg. Each MAB was administered twice weekly intra peritoneally in a volume of 100 μ l, starting 24 hr after tumor cell inoculation. Each group consisted of 10 mice. Tumor size was determined at weekly intervals. Four weeks after tumor cell inoculation, animals

were euthanized and the tumors were removed and weighed. Statistical analysis was performed by ANOVA.

Results

[0231] Humanization:

[0232] The consensus sequence for the human heavy chain subgroup III and the light chain subgroup k I were used as the framework for the humanization (Kabat et al., supra) (FIGS. 1A and 1B). This framework has been successfully used in the humanization of other murine antibodies (Werther et al., supra; Carter et al., supra; Presta et al. *J. Immunol.* 151:2623-2632 (1993); and Eigenbrot et al. *Proteins* 18:49-62 (1994)). CDR-H1 included residues H26-H35. The other CDRs were according to Kabat et al., supra. All humanized variants were initially made and screened for binding as F(ab)s expressed in *E. coli*. Typical yields from 500 ml shake flasks were 0.1-0.4 mg F(ab).

[0233] The chimeric F(ab) was used as the standard in the binding assays. In the initial variant, F(ab)-1, the CDR residues were transferred from the murine antibody to the human framework and, based on the models of the murine and humanized F(ab)s, the residue at position H49 (Ala in human) was changed to the murine Gly. In addition, F(ab)s which consisted of the chimeric heavy chain/F(ab)-1 light chain (F(ab)-2) and F(ab)-1 heavy chain/chimeric light chain (F(ab)-3) were generated and tested for binding. F(ab)-1 exhibited a binding affinity greater than 1000-fold reduced from the chimeric F(ab) (Table 2). Comparing the binding affinities of F(ab)-2 and F(ab)-3 suggested that framework residues in the F(ab)-1 VH domain needed to be altered in order to increase binding.

TABLE 2

Binding of Humanized Anti-VEGF F(ab) Variants to VEGF ^a						
Variant	Template	Changes ^b	Purpose	EC50 F(ab)-X EC50 chimeric F(ab) ^c		
				Mean	S.D.	N
chim-F(ab)	Chimeric F(ab)			1.0		
F(ab)-1	Human FR		Straight CDR swap	>1350		2
F(ab)-2			AlaH49Gly			
F(ab)-3			Chimera Light Chain	>145		3
			F(ab)-1 Heavy Chain			
			F(ab)-1 Light Chain	2.6	0.1	2
			Chimera Heavy Chain			
F(ab)-4	F(ab)-1	ArgH71Leu	CDR-H2 conformation	>295		3
		AsnH73Thr	Framework			
F(ab)-5	F(ab)-4	LeuL46Val	VL-VH interface	80.9	6.5	2
F(ab)-6	F(ab)-5	LeuH78Ala	CDR-H1 conformation	36.4	4.2	2
F(ab)-7	F(ab)-5	IleH69Phe	CDR-H2 conformation	45.2	2.3	2
F(ab)-8	F(ab)-5	IleH69Phe	CDR-H2 conformation	9.6	0.9	4
		LeuH78Ala	CDR-H1 conformation			
F(ab)-9	F(ab)-8	GlyH49Ala	CDR-H2 conformation	>150		2
F(ab)-10	F(ab)-8	AsnH76Ser	Framework	6.4	1.2	4
F(ab)-11	F(ab)-10	LysH75Ala	Framework	3.3	0.4	2
F(ab)-12	F(ab)-10	ArgH94Lys	CDR-H3 conformation	1.6	0.6	4

^aAnti-VEGF F(ab) variants were incubated with biotinylated VEGF and then transferred to ELISA plates coated with KDR-IgG (Park et al., supra).

^bMurine residues are underlined; residue numbers are according to Kabat et al., supra.

^cMean and standard deviation are the average of the ratios calculated for each of the independent assays; the EC50 for chimeric F(ab) was 0.049 ± 0.013 mg/ml (1.0 nM).

[0234] Changing human residues H71 and H73 to their murine counterparts in F(ab)-4 improved binding by 4-fold (Table 2). Inspection of the models of the murine and humanized F(ab)s suggested that residue L46, buried at the VL-VH interface and interacting with CDR-H3 (FIG. 2), might also play a role either in determining the conformation of CDR-H3 and/or affecting the relationship of the VL and VH domains. When the murine Val was exchanged for the human Leu at L46 (F(ab)-5), the binding affinity increased by almost 4-fold (Table 2). Three other buried framework residues were evaluated based on the molecular models: H49, H69 and H78. Position H69 may affect the conformation of CDR-H2 while position H78 may affect the conformation of CDR-H1 (FIG. 2). When each was individually changed from the human to murine counterpart, the binding improved by 2-fold in each case (F(ab)-6 and F(ab)-7, Table 2). When both were simultaneously changed, the improvement in binding was 8-fold (F(ab)-8, Table 2). Residue H49 was originally included as the murine Gly; when changed to the human consensus counterpart Ala the binding was reduced by 15-fold (F(ab)-9, Table 2).

[0235] In F(ab)-10 and F(ab)-11 two residues in framework loop 3, FR-3, were changed to their murine counterparts: AsnH76 to murine Ser (F(ab)-10) and LysH75 to murine Ala (F(ab)-11). Both effected a relatively small improvement in binding (Table 2). Finally, at position H94 human and murine sequences most often have an Arg (Kabat et al., supra). In F(ab)-12, this Arg was replaced by the rare Lys found in the murine antibody (FIG. 1A) and this resulted in binding which was less than 2-fold from the chimeric F(ab) (Table 2). F(ab)-12 was also compared to the chimeric F(ab) using the BIAcore™ system (Pharmacia). Using this technique the K_d of the humanized F(ab)-12 was 2-fold weaker than that of the chimeric F(ab) due to both a slower k_{on} and faster k_{off} (Table 3).

[0236] Full length mAbs were constructed by fusing the VL and VH domains of the chimeric F(ab) and variant F(ab)-12 to the constant domains of human κ light chain and human IgG1 heavy chain. The full length 12-IgG1 (F(ab)-12 fused to human IgG1) exhibited binding which was 1.7-fold weaker than the chimeric IgG1 (Table 4). Both 12-IgG1 and the chimeric IgG1 bound slightly less well than the original murine mAb A4.6.1 (Table 4).

TABLE 4

Binding of Anti-VEGF IgG Variants to VEGF ^a			
IgG1/chIgG1 ^b			
Variant	Mean	S.D.	N
chIgG1	1.0		2
murIgG1 ^c	0.759	0.001	2
12-IgG1 ^d	1.71	0.03	2

^aAnti-VEGF IgG variants were incubated with biotinylated VEGF and then transferred to ELISA plates coated with KDR-IgG (Park et al., (1994), supra).

^bchIgG1 is chimeric IgG1 with murine VL and VH domains fused to human CL and IgG1 heavy chains; the EC50 for chIgG1 was 0.113 $\pm$ 0.013 μ g/ml (0.75 nM).

^cmurIgG1 is muMabVEGF A461 purified from ascites.

^d12-IgG1 is F(ab)-12 VL and VH domains fused to human CL and IgG1 heavy chains.

[0237] Biological Studies:

[0238] rhuMab VEGF and muMab VEGF A.4.6.1. were compared for their ability to inhibit bovine capillary endo-

thelial cell proliferation in response to a near maximally effective concentration of VEGF (3 ng/ml). As illustrated in FIG. 3, the two MAbs were essentially equivalent, both in potency and efficacy. The ED50 values were respectively 50 $\pm$ 5 ng/ml and 48 $\pm$ 8 ng/ml ($\sim$ 0.3 nM). In both cases 90% inhibition was achieved at the concentration of 500 ng/ml ($\sim$ 3 nM). Neither muMab VEGF A.4.6.1 nor rhuMab VEGF had any effect on basal or bFGF-stimulated proliferation of capillary endothelial cells, confirming that the inhibition is specific for VEGF.

[0239] To determine whether such equivalency applies also to an in vivo system, the two antibodies were compared for their ability to suppress the growth of human A673 rhabdomyosarcoma cells in nude mice. Previous studies have shown that muMab VEGF A.4.6.1 has a dramatic inhibitory effect in this tumor model (Kim et al. *Nature* 362:841-844 (1993) and Borgström et al. *Cancer Res* 56:4032-4039 (1996)). As shown in FIG. 4, at both doses tested (0.5 and 5 mg/kg), the two antibodies markedly suppressed tumor growth as assessed by tumor weight measurements four weeks after cell inoculation. The decreases in tumor weight compared to the control group were respectively 85% and 93% at each dose in the animals treated with muMab VEGF A.4.6.1. versus 90% and 95% in those treated with rhuMab VEGF. Similar results were obtained with the breast carcinoma cell line MDA-MB 435.

EXAMPLE 2

[0240] In this example, the murine anti-VEGF antibody A4.6.1 discussed above was humanized by randomizing a small set of framework residues and by monovalent display of the resultant library of antibody molecules on the surface of filamentous phage in order to identify high affinity framework sequences via affinity-based selection.

Materials and Methods

[0241] Construction of Anti-VEGF Phagemid Vector, pMB4-19:

[0242] The murine anti-VEGF mAb A4.6.1 is discussed above in Example 1. The first Fab variant of humanized A4.6.1, hu2.0, was constructed by site-directed mutagenesis using a deoxyuridine-containing template of plasmid pAK2 (Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:4285-4289 (1992)) which codes for a human $V_L\kappa$ I-C κ_1 light chain and human V_H III-C $H_1\gamma_1$ heavy chain Fd fragment. The transplanted A4.6.1 CDR sequences were chosen according to the sequence definition of Kabat et al., supra, except for CDR-H1 which included residues 26-35. The Fab encoding sequence was subcloned into the phagemid vector phGHamg3 (Bass et al. *Proteins* 8:309-314 (1990) and Lowman et al. *Biochemistry* 30:10832-10838 (1991)). This construct, pMB4-19, encodes the initial humanized A4.6.1 Fab, hu2.0, with the C-terminus of the heavy chain fused precisely to the carboxyl portion of the M13 gene III coat protein. pMB4-19 is similar in construction to pDH188, a previously described plasmid for monovalent display of Fab fragments (Garrard et al. *Biotechnology* 9:1373-1377 (1991)). Notable differences between pMB4-19 and pDH188 include a shorter M13 gene III segment (codons 249-406) and use of an amber stop codon immediately following the antibody heavy chain Fd fragment. This permits expression of both secreted heavy chain or heavy chain-gene III fusions in supE suppressor strains of *E. coli*.

[0243] Expression and Purification of Humanized A4.6.1 Fab Fragment:

[0244] *E. coli* strain 34B8, a nonsuppressor, was transformed with phagemid pMB4-19, or variants thereof. Single colonies were grown overnight at 37° C. in 5 mL 2YT containing 50 µg/mL carbenicillin. These cultures were diluted into 200 mL AP5 medium (Chang et al. *Gene* 55:189-196 (1987)) containing 20 µg/mL carbenicillin and incubated for 26 hr at 30° C. The cells were pelleted at 4000× g and frozen at -20° C. for at least 2 h. Cell pellets were then resuspended in 5 mL of 10 mM Tris-HCl (pH 7.6) containing 1 mM EDTA, shaken at 4° C. for 90 min and centrifuged at 10,000× g for 15 min. The supernatant was applied to a 1 mL streptococcal protein G-sepharose column (Pharmacia) and washed with 10 mL of 10 mM MES (pH 5.5). The bound Fab fragment was eluted with 2.5 mL 100 mM acetic acid and immediately neutralized with 0.75 mL 1 M Tris-HCl, pH 8.0. Fab preparations were buffer-exchanged into PBS and concentrated using Centricon-30 concentrators (Amicon). Typical yields of Fab were ~1 mg/L culture, post-protein G purification. Purified Fab samples were characterized by electrospray mass spectrometry, and concentrations were determined by amino acid analysis.

[0245] Construction of the Anti-VEGF Fab Phagemid Library:

[0246] The humanized A4.6.1 phagemid library was constructed by site-directed mutagenesis according to the method of Kunkel et al. *Methods Enzymol.* 204:125-139 (1991). A derivative of pMB4-19 containing TAA stop triplets at V_H codons 24, 37, 67 and 93 was prepared for use as the mutagenesis template (all sequence numbering according to Kabat et al., supra). This modification was to prevent subsequent background contamination by wild type sequences. The codons targeted for randomization were 4 and 71 (light chain) and 24, 37, 67, 69, 71, 73, 75, 76, 78, 93 and 94 (heavy chain).

[0247] In order to randomize heavy chain codons 67, 69, 71, 73, 75, 76, 78, 93 and 94 with a single mutagenic oligonucleotide, two 126-mer oligonucleotides were first preassembled from 60 and 66-mer fragments by template-assisted enzymatic ligation. Specifically, 1.5 nmol of 5' phosphorylated oligonucleotide 503-1 (5'-GAT TTC AAA CGT CGT NYT ACT WTT TCT AGA GAC AAC TCC AAAAC ACABYT TAC CTG CAG ATG MC-3' (SEQ ID NO:22)) or 503-2 (5'-GAT TTC AAA CGT CGT NYT ACT WTT TCT TTA GAC ACC TCC GCAAGC ACABYT TAC CTG CAG ATG AAC-3' (SEQ ID NO:23)) were combined with 1.5 nmol of 503-3 (5'-AGC CTG CGC GCT GAG GAC ACT GCC GTC TAT TAC TGT DYAAAG TAC CCC CAC TAT TAT GGG-3' (SEQ ID NO:24)) (randomized codons underlined; N=A/G/T/C; W=A/T; B=G/T/C; D=G/A/T; R=A/G; Y=C/T). Then, 1.5 nmol of template oligonucleotide (5'-CTC AGC GCG CAG GCT GTT CAT CTG CAG GTA-3' (SEQ ID NO:25)), with complementary sequence to the 5' ends of 503-1/2 and the 3' end of 503-3, was added to hybridize to each end of the ligation junction. Taq ligase (thermostable ligase from New England Biolabs) and buffer were added, and the reaction mixture was subjected to 40 rounds of thermal cycling, (95° C. 1.25 min; 50° C. for 5 min) so as to cycle the template oligonucleotide between ligated and unligated junctions. The product 126-mer oligonucleotides were purified on a 6% urea/TBE

polyacrylamide gel and extracted from the polyacrylamide in buffer. The two 126-mer products were combined in equal ratio, ethanol precipitated and finally solubilized in 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA. The mixed 126-mer oligonucleotide product was labeled 504-01.

[0248] Randomization of select framework codons (V_L 4, 71; V_H 24, 37, 67, 69, 71, 73, 75, 76, 93, 94) was effected in two steps. Firstly, V_L randomization was achieved by preparing three additional derivatives of the modified pMB4-19 template. Framework codons 4 and 71 in the light chain were replaced individually or pairwise using the two mutagenic oligonucleotides 5'-GCT GAT ATC CAG TTG ACC CAG TCC CCG-3' (SEQ ID NO:26) 5'-and TCT GGG ACG GAT TAC ACT CTG ACC ATC-3' (SEQ ID NO:27). Deoxyuridine-containing template was prepared from each of these new derivatives. Together with the original template, these four constructs coded for each of the four possible light chain framework sequence combinations (Table 5).

[0249] Oligonucleotides 504-1, a mixture of two 126-mer oligonucleotides (see above), and 5'-CGT TTG TCC TGT GCA RYT TCT GGC TAT ACC TTC ACC AAC TAT GGT ATG AAC TGG RTC CGT CAG GCC CCG GGT AAG-3' (SEQ ID NO:28) were used to randomize heavy chain framework codons using each of the four templates just described. The four libraries were electroporated into *E. coli* XL-1 Blue cells (Stratagene) and combined. The total number of independent transformants was estimated at >1.2×10⁸, approximately 1,500-fold greater than the maximum number of DNA sequences in the library.

[0250] A variety of systems have been developed for the functional display of antibody fragments on the surface of filamentous phage. Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.* 12:433 (1994). These include the display of Fab or single chain Fv (scFv) fragments as fusions to either the gene III or gene VIII coat proteins of M13 bacteriophage. The system selected herein is similar to that described by Garrard et al., *Biotechn.* 9:1373 (1991) in which a Fab fragment is monovalently displayed as a gene III fusion (FIG. 7). This system has two notable features. In particular, unlike scFvs, Fab fragments have no tendency to form dimeric species, the presence of which can prevent selection of the tightest binders due to avidity effects. Additionally the monovalency of the displayed protein eliminates a second potential source of avidity effects that would otherwise result from the presence of multiple copies of a protein on each phagemid particle. Bass and Wells, *Proteins* 8:309 (1990) and Lowman et al., *Biochemistry* 30:10832 (1991).

[0251] Phagemid particles displaying the humanized A4.6.1 Fab fragments were propagated in *E. coli* XL-1 Blue cells. Briefly, cells harboring the randomized pMB4-19 construct were grown overnight at 37° C. in 25 mL 2YT medium containing 50 µg/mL carbenicillin and approximately 10¹⁰ M13KO7 helper phage (Vieira & Messing *Methods Enzymol.* 153:3-11 (1987)). Phagemid stocks were purified from culture supernatants by precipitation with a saline polyethylene glycol solution, and resuspended in 100 µL PBS (~10¹⁴ phagemid/mL)

[0252] Selection of Humanized A4.6.1 Fab Variants:

[0253] Purified VEGF₁₂₁ (100 µL at 10 µg/mL in PBS) was coated onto a microtiter plate well overnight at 4° C.

The coating solution was discarded and this well, in addition to an uncoated well, were blocked with 6% skim milk for 1 h and washed with PBS containing 0.05% TWEEN 20™ (detergent). Then, 10 μ L of phagemid stock, diluted to 100 μ L with 20 mM Tris (pH 7.5) containing 0.1% BSA and 0.05%TWEEN 20™, was added to each well. After 2 hours the wells were washed and the bound phage eluted with 100 μ L of 0.1 M glycine (pH 2.0), and neutralized with 25 μ L of 1M Tris pH 8.0. An aliquot of this was used to titer the number of phage eluted. The remaining phage eluted from the VEGF-coated well were propagated for use in the next selection cycle. A total of 8 rounds of selection was performed after which time 20 individual clones were selected and sequenced (Sanger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74:5463-5467 (1977)).

[0254] Determination of VEGF Binding Affinities:

[0255] Association (k_{on}) and dissociation (k_{off}) rate constants for binding of humanized A4.6.1 Fab variants to VEGF₁₂₁ were measured by surface plasmon resonance (Karlsson et al. *J. Immun. Methods* 145:229-240 (1991)) on a Pharmacia BIAcore instrument. VEGF₁₂₁ was covalently immobilized on the biosensor chip via primary amino groups. Binding of humanized A4.6.1 Fab variants was measured by flowing solutions of Fab in PBS/0.05% TWEEN 20™ over the chip at a flow rate of 20 μ L/min. Following each binding measurement, residual Fab was stripped from the immobilized ligand by washing with 5 μ L of 50 mM aqueous HCl at 3 μ L/min. Binding profiles were analyzed by nonlinear regression using a simple monovalent binding model (BIAevaluation software v2.0; Pharmacia).

Results

[0256] Construction of Humanized A4.6.1:

[0257] An initial humanized A4.6.1 Fab fragment was constructed (hu2.0, FIGS. 5A and 5B), in which the CDRs from A4.6.1 were grafted onto a human V_LK_LI-V_HIII framework. All other residues in hu2.0 were maintained as the human sequence. Binding of this variant to VEGF was so weak as to be undetectable. Based on the relative affinity of other weakly-binding humanized A4.6.1 variants, the K_D for binding of hu2.0 was estimated at >7 μ M. This contrasts with an affinity of 1.6 nM for a chimeric Fab construct consisting of the intact V_L and V_H domains from murine A4.6.1 and human constant domains. Thus binding of hu2.0 to VEGF was at least 4000-fold reduced relative to the chimera.

[0258] Design of Antibody Library:

[0259] The group of framework changes to the human framework sequence herein is shown in Table 5 and FIG. 6.

TABLE 5

Key Framework Residues Important for Antigen Binding and Targeted for Randomization			
Framework residue	Human VK _L I, V _H III consensus residue	Murine A4.6.1 residue	Randomization ^a
V _L :	4 Met	Met	Met, Leu
	71 Phe	Tyr	Phe, Tyr
V _H :	24 Ala	Ala	Ala, Val, Thr
	37 Val	Val	Val, Ile

TABLE 5-continued

Key Framework Residues Important for Antigen Binding and Targeted for Randomization			
Framework residue	Human VK _L I, V _H III consensus residue	Murine A4.6.1 residue	Randomization ^a
67	Phe	Phe	Phe, Val, Thr, Leu, Ile, Ala
69	Ile	Phe	Ile, Phe
71	Arg	Leu	Arg ^b , Leu ^b
73	Asp	Thr	ASP ^b , Thr ^b
75	Lys	Ala	Lys ^b , Ala ^b
76	Asn	Ser	Asn ^b , Ser ^b
78	Leu	Ala	Leu, Ala, Val, Phe
93	Ala	Ala	Ala, Val, Leu, Ser, Thr
94	Arg	Lys	Arg, Lys

^aAmino acid diversity in phagemid library
^bV_H71, 73, 75, 76 randomized to yield the all-murine (L71/T73/A75/S76) or all-human (R71/D73/K75/N76) V_HIII tetrad

[0260] A concern in designing the humanized A4.6.1 phagemid library was that residues targeted for randomization were widely distributed across the V_L and V_H sequences. Limitations in the length of synthetic oligonucleotides requires that simultaneous randomization of each of these framework positions can only be achieved through the use of multiple oligonucleotides. However, as the total number of oligonucleotides increases, the efficiency of mutagenesis decreases (i.e. the proportion of mutants obtained which incorporate sequence derived from all of the mutagenic oligonucleotides). To circumvent this problem, two features were incorporated into the library construction. The first was to prepare four different mutagenesis templates coding for each of the possible V_L framework combinations. This was simple to do given the limited diversity of the light chain framework (only 4 different sequences), but was beneficial in that it eliminated the need for two oligonucleotides from the mutagenesis strategy. Secondly, two 126-base oligonucleotides were preassembled from smaller synthetic fragments. This made possible randomization of V_H codons 67, 69, 71, 73, 75, 76, 93 and 94 with a single long oligonucleotide, rather than two smaller ones. The final randomization mutagenesis strategy therefore employed only two oligonucleotides simultaneously onto four different templates.

[0261] Selection of Tight Binding Humanized A4.6.1 Fab's:

[0262] Variants from the humanized A4.6.1 Fab phagemid library were selected based on binding to VEGF. Enrichment of functional phagemid, as measured by comparing titers for phage eluted from a VEGF-coated versus uncoated micro-titer plate well, increased up to the seventh round of affinity panning. After one additional round of sorting, 20 clones were sequenced to identify preferred framework residues selected at each position randomized. These results, summarized in Table 6, revealed strong consensus amongst the clones selected. Ten out of the twenty clones had the identical DNA sequence, designated hu2.10. Of the thirteen framework positions randomized, eight substitutions were selected in hu2.10 (V_L 71; V_H 37, 71, 73, 75, 76, 78 and 94). Interestingly, residues V_H 37 (Ile) and 78 (Val) were selected neither as the human_H V III or murine A4.6.1 sequence. This result suggests that some framework positions may benefit

from extending the diversity beyond the target human and parent murine framework sequences.

TABLE 6

Sequences Selected from the Humanized A4.6.1 Phagemid Fab Library													
Variant	Residue substitutions												
	V _L						V _H						
	4	71	24	37	67	69	71	73	75	76	78	93	94
murine A4.6.1	M	Y	A	V	F	F	L	T	A	S	A	A	K
hu2.0 (CDR-graft)	M	F	A	V	F	I	R	N	K	N	L	A	R
Phage-selected clones:													
hu2.1(2)	—	Y	—	I	—	—	—	—	—	—	V	—	K
hu2.2(2)	L	Y	—	I	—	—	—	—	—	—	V	—	K
hu2.6(1)	L	—	—	I	T	—	L	T	A	S	V	—	K
hu2.7(1)	L	—	—	I	—	—	—	—	—	—	V	—	K
hu2.10 (10)	—	Y	—	I	—	—	L	T	A	S	V	—	K

Differences between hu2.0 and murine A4.6.1 antibodies are underlined. The number of identical clones identifies for each phage-selected sequence is indicated in parentheses. Dashes in the sequences of phage-selected clones indicate selection of the human V_LKI-V_HIII framework sequence (i.e. as in hu2.0).

[0263] There were four other unique amino acid sequences among the remaining ten clones analyzed: hu2.1, hu2.2, hu2.6 and hu2.7. All of these clones, in addition to hu2.10, contained identical framework substitutions at positions V_H 37 (Ile), 78 (Val) and 94 (Lys), but retained the human V_HIII consensus sequence at positions 24 and 93. Four clones had lost the light chain coding sequence and did not bind VEGF when tested in a phage ELISA assay (Cunningham et al. *EMBO J.* 13:2508-251 (1994)). Such artifacts can often be minimized by reducing the number of sorting cycles or by propagating libraries on solid media.

[0264] Expression and Binding Affinity of Humanized A4.6.1 Variants:

[0265] Phage-selected variants hu2.1, hu2.2, hu2.6, hu2.7 and hu2.10 were expressed in *E. coli* using shake flasks and Fab fragments were purified from periplasmic extracts by protein G affinity chromatography. Recovered yields of Fab for these five clones ranged from 0.2 (hu2.6) to 1.7 mg/L (hu2.1). The affinity of each of these variants for antigen (VEGF) was measured by surface plasmon resonance on a BIAcore instrument (Table 7). Analysis of this binding data revealed that the consensus clone hu2.10 possessed the highest affinity for VEGF out of the five variants tested. Thus the Fab phagemid library was selectively enriched for the tightest binding clone. The calculated K_D for hu2.10 was 55 nM, at least 125-fold tighter than for hu2.0 which contains no framework changes (K_D>7 μM). The other four selected variants all exhibited weaker binding to VEGF, ranging down to a K_D of 360 nM for the weakest (hu2.7). Interestingly, the K_D for hu2.6, 67 nM, was only marginally weaker than that of hu2.10 and yet only one copy of this clone was found among 20 clones sequenced. This may have due to a lower level of expression and display, as was the case when expressing the soluble Fab of this variant. However, despite the lower expression rate, this variant is useful as a humanized antibody.

TABLE 7

VEGF Binding Affinity of Humanized A4.6.1 Fab Variants				
Variant	k _{on} M ⁻¹ s ⁻¹ /10 ⁴	k _{off} 10 ⁴ s ⁻¹	K _D nM	K _D (A4.6.1) K _D (mut)
A4.6.1 chimera	5.4	0.85	1.6	>4000
hu2.0	ND	ND	>7000**	
Phage selected clones:				
hu2.1	0.70	18	260	170
hu2.2	0.47	16	340	210
hu2.6	0.67	4.5	67	40
hu2.7	0.67	24	360	230
hu2.10	0.63	3.5	55	35
*hu2.10V	2.0	1.8	9.3	5.8

*hu2.10V = hu2.10 with mutation V_LLeu→Val

Estimated errors in the BIAcore binding measurements are +/±25%.

**Too weak to measure; estimate of lower bound

[0266] Additional Improvement of Humanized Variant hu2.1:

[0267] Despite the large improvement in antigen affinity over the initial humanized variant, binding of hu2.10 to VEGF was still 35-fold weaker than a chimeric Fab fragment containing the murine A4.6.1 V_L and V_H domains. This considerable difference suggested that further optimization of the humanized framework might be possible through additional mutations. Of the Vernier residues identified by Foote & Winter *J. Mol. Biol.* 224:487-499 (1992), only residues V_L 46, V_H 2 and V_H 48 differed in the A4.6.1 versus human V_LKI-V_HIII framework (FIGS. 5A and 5B) but were not randomized in our phagemid library. A molecular model of the humanized A4.6.1 Fv fragment showed that VL 46 sits at the V_L-V_H interface and could influence the conformation of CDR-H3. Furthermore, this amino acid is almost always leucine in most V_LK frameworks (Kabat et al., supra), but is valine in A4.6.1. Accordingly, a Leu→Val substitution was made at this position in the background of hu2.10. Analysis of binding kinetics for this new variant, hu2.10V, indicated a further 6-fold improvement in the K_D for VEGF binding, demonstrating the importance of valine at position V_L 46 in antibody A4.6.1. The K_D for hu2.10V (9.3 nM) was thus within 6-fold that of the chimera. In contrast to V_L 46, no improvement in the binding affinity of hu2.10 was observed for replacement of either V_H 2 or V_H 48 with the corresponding residue from murine A4.6.1.

EXAMPLE 3

[0268] In this example, CDR randomization, affinity maturation by monovalent Fab phage display, and cumulative combination of mutations were used to enhance the affinity of a humanized anti-VEGF antibody.

[0269] Construction of Humanized Antibody pY1101:

[0270] Phage-displayed antibody vector phMB4-19-1.6 (see FIGS. 8A-E) was used as a parent. In this construct, anti-VEGF is expressed as a Fab fragment with its heavy chain fused to the N-terminus of the truncated g3p. Both the light and heavy chains are under the control of phoA promoter with an upstream stII signal-sequence for secretion into the periplasm. Point mutations outside the CDR regions were made by site-directed mutagenesis to improve affinity

for VEGF with oligonucleotides HL-242, HL-243, HL-245, HL-246, HL-254, HL-256, and HL-257 as shown in Table 8 below:

mixture of A, G, C, and T while S is an equal mixture of G and C) for saturation mutagenesis. VL1 and VH3 were chosen as potential candidates for affinity enhancement

TABLE 8

Oligos for Directed Mutations		
Oligo Number	Substitution/Region Comments	Sequence
HL-242 VL	M4L	5'-GATATCCAGTTGACCCAGTCCCG-3' (SEQ ID NO:29)
HL-243 VL	L46V	5'-GCTCCGAAAGTACTGATTAC-3' (SEQ ID NO:30)
HL-245 VH	CDR-7	5'-CGTCGTTTCACTTTTCTGCAGACACCT CCAGCAACACAGTATACCTGCAGATG-3' (SEQ ID NO:31)
HL-246 VH	R98K	5'-CTATTACTGTGCAAAGTACCCCCAC-3' (SEQ ID NO:32)
HL-254 VL	Y71F	5'-GGGACGGATTTCACCTCTGACCATC-3' (SEQ ID NO:33)
HL-256 VH	137V	5'-GGTATGAACCTGGGTCCGTCAGGCCCC-3' (SEQ ID NO:34)
HL-257 VH	CDR-7 A72L S76K N77S	5'-CGTCGTTTCACTTTTCTTTAGACACCT CCAAAAGCACAGCATACCTGCAGATGAA C-3' (SEQ ID NO:35)

[0271] The resulting variant was termed Y0101 (FIGS. 9A and 9B).

[0272] Construction of the First Generation of Antibody-Phage Libraries:

[0273] To prevent contamination by wild-type sequence, templates with the TAA stop codon at the targeted sites for randomization were prepared and used for constructing libraries by site-directed mutagenesis with oligonucleotides using the degenerate NNS codon (where N is an equal

(FIGS. 9A and B). Within the CDRs, two libraries were constructed from the pY0101 template. VL1 was mutated using stop-template oligonucleotides HL-248 and HL-249 (Table 9) and library oligonucleotides HL-258 and HL-259 (Table 10). Similarly, three libraries were constructed for VH3 using stop template oligonucleotides HL-250, HL-251, and HL-252 (Table 9), and library oligonucleotides HL-260, HL-261, and HL-262 (Table 10). Library construction is summarized in Tables 9 and 10 below.

TABLE 9

Template Oligos for Mutagenesis		
Oligo Number	Region Comments	Sequence
HL-248 VL1		5'-GGGTCACCATCACCTGCTAAGCATAATAATAATAAGCAACTATTTAAACTGG-3' (SEQ ID NO:36)
HL-249 VL1		5'-GCGCAAGTCAGGATATTTAATAATAATAATAATGGTATCAACAGAAACCAGG-3' (SEQ ID NO:37)
HL-250 VH3		5'-GTCTATTACTGTGCAAAGTAATAACACTAATAAGGGAGCAGCCACTGG-3' (SEQ ID NO:38)
HL-251 VH3		5'-GGTACCCCACTATTATTAATAATAATAATGGTATTTGACGTCCTGGGG-3' (SEQ ID NO:39)
HL-252 VH3		5'-CACTATTATGGGAGCAGCCACTAATAATAATAAGTCTGGGTCAAGGAACCCTG-3' (SEQ ID NO:40)
HL-263 VH1		5'-TCCTGTGCAGCTTCTGGCTAATAATCTAATAATAAGGTATGAACGGGTCCG-3' (SEQ ID NO:41)
HL-264 VH2		5'-GAATGGGTTGGATGGATTAACTAATAATAAGGTTAACCGACCTATGCTGCGG-3' (SEQ ID NO:42)
YC-80 VH3		5'-CTGTGCAAAGTACCCGTAATATTAATAATAATAACACTGGTATTTGAC-3' (SEQ ID NO:43)
YC-100 CDR7		5'-CGTTTCACTTTTCTTAAGACTAATCCAAATAACAGCATACCTGCAG-3' (SEQ ID NO:44)
YC-102 VH2		5'-GAATGGGTTGGATGGATTAAATAATAATAAGGTGAACCGACCTATG-3' (SEQ ID NO:45)

[0274]

TABLE 10

Random Oligos for Library Construction		
Oligo Number	Region Comment	Sequence
HL-258	VL1	5'-GGGTCACCATCACCTGCNNSGCANNNSNNSNNSAGCAACTATTTAACTGG-3' (SEQ ID NO:46)
HL-259	VL1	5'-GCGCAAGTCAGGATATTNNSNNSNNSNNSSTGGTATCAACAGAAACCAGG-3' (SEQ ID NO:47)
HL-260	VH3	5'-GTCTATTACTGTGCAAAGNNSNNSCACNNSNNSGGGAGCAGCCACTGG-3' (SEQ ID NO:48)
HL-261	VH3	5'-GGTACCCCCACTATTATNNSNNSNNSNNSSTGGTATTTTCGACGCTCTGGGG-3' (SEQ ID NO:49)
HL-262	VH3	5'-CACTATTATGGGAGCAGCCACNNSNNSNNSNNSGTCTGGGGTCAAGGAACCTG-3' (SEQ ID NO:50)
HL-265	VH1	5'-TCCTGTGCAGCTTCTGCNNSNNSSTTCNNSNNSNNSGGTATGAACTGGGTCCG-3' (SEQ ID NO:51)
HL-266	VH2	5'-GAATGGGTTGGATGGATTAAACNNSNNSNNSGGTNNSCCGACCTATGCTGCGG-3' (SEQ ID NO:52)
YC-81	VH3	5'-CTGTGCAAAGTACCCGNNSTATNNSNNSNNSNNSCACTGGTATTTTCGAC-3' (SEQ ID NO:53)
YC-101	CDR7	5'-CGTTTCACCTTTTCTNNSGACNNSSTCCAAANNSACAGCATACCTGCAG-3' (SEQ ID NO:54)
YC-103	VH2	5'-GAATGGGTTGGATGGATTNNSNNSNNSNNSGGTGAACCGACCTATG-3' (SEQ ID NO:55)

[0275] The products of random mutagenesis reactions were electroporated into XL1-Blue *E.coli* cells (Stratagene) and amplified by growing 15-16 h with M13KO7 helper phage. The complexity of each library, ranging from 2×10⁷ to 1.5×10⁸, was estimated based upon plating of the initial transformation onto carbenicillin plates.

[0276] Initial Affinity Selections:

[0277] For each round of selection, approximately 10⁹-10¹⁰ phage were screened for binding to plates (Nunc Maxisorp 96-well) coated with 2 µg/mL VEGF (recombinant; residue 9-109 version) in 50 mM carbonate buffer, pH 9.6 and blocked with 5% instant milk in 50 mM carbonate buffer, pH 9.6. After 1-2 hour binding at room temperature, in the presence of 0.5% bovine serum albumin and 0.05% TWEEN 20™ in PBS, the phage solution was removed, and the plate was washed ten times with PBS/TWEEN™ (0.05% TWEEN 20™ in PBS buffer). Typically, to select for enhanced affinity variants with slower dissociation rates, the plates were incubated with PBS/TWEEN™ buffer for a period of time which lengthened progressively for each round of selection (from 0 minute for the first round, to 3 h for the ninth round of selection). After the PBS/TWEEN™ buffer was removed, the remained phages were eluted with 0.1 M HCl and immediately neutralized with ½ volume of 1 M Tris, pH 8.0. The eluted phages were propagated by infecting XL1-Blue *E.coli* cells (Stratagene) for the next selection cycle.

[0278] Sequencing data revealed that both VL1 libraries, even after the eighth/ninth round of sorting, remained diverse, tolerating various type of residues at the sites of randomization. In contrast, the VH3 libraries retained only wild type residues or had very conservative substitutions. This suggested that the VL1 was more exposed to solvent and lay outside the binding interface. In contrast, VH3 did not show dramatically different sidechain substitutions, and therefore might be more intimately involved in antigen binding.

[0279] Phage-ELISA Assay of Binding Affinities:

[0280] From each of these libraries, representative clones (those represented by abundant sequences) were assayed for their affinities relative to that of parent clone pY0101 in a phage-ELISA assay. In such an assay, phages were first serially diluted to determine a fractional saturation titer which was then held constant and used to incubate with varying concentrations of VEGF (starting at 200 nM to 0 nM) in solution. The mixture was then transferred onto plate precoated with VEGF (2 µg/mL) and blocked with 5% instant milk, and allowed to equilibrate for 1 hour at room temperature. Thereafter, the phage solution was removed and the remaining bound phages were detected with a solution of rabbit anti-phage antibody mixed with goat anti-rabbit conjugate of horse radish peroxidase. After an hour incubation at room temperature, the plate was developed with a chromogenic substrate, o-phenylenediamine (Sigma). The reaction was stopped with addition of ½ volume of 2.5 M H₂SO₄. Optical density at 492 nm was measured on a spectrophotometric plate reader.

[0281] Although all of the selected clones from these five libraries showed either weaker or similar affinities than that of wild type pY0101 in phage-ELISA assay, one particular variant (pY0192) from library HL-258 displayed an apparent advantage (about 10 fold) in the level of expression or phage display relative to pY0101. This clone contained mutations S24R, S26N, Q27E, D28Q, and 129L in the VL region (FIG. 9A). In addition, this variant was found to have a spurious mutation, M34I, in VH. This variant showed no significant difference in binding affinity to VEGF as compared with the pY0101 variant. To improve the level of Fab-display on phage, and the signal-to-noise ratio for phage-ELISA assays, the corresponding substitutions in pY0192 at VL1 were incorporated into the template background for constructing both CDR Ala-mutants and the second generation of anti-VEGF libraries.

[0282] Ala-Scanning the CDRs of Anti-VEGF:

[0283] To determine the energetics contributed by each of the amino acids in the CDR regions and thus better select

target residues for randomization, the CDR regions were screened by substituting alanine for each residue. Each Ala mutant was constructed using site-directed mutagenesis with a synthetic oligonucleotide encoding for the specific alanine substitution. Where Ala was the wild-type residue, Ser was substituted to test the effect of a sidechain substitution. Phage clones having a single Ala mutation were purified and assayed in phage-ELISA as described above. Results of the Ala-scan demonstrated that Ala-substitution at various positions can have an effect, ranging from 2 to >150 fold reductions, on antigen binding affinity compared to pY0192. In addition, it confirmed a previous observation that VH3, but not VL1, was involved in antigen binding. Results of the CDR Ala-scan are summarized in Table 11 below.

TABLE 11

Relative VEGF Affinities of Ala-Scan Fab Variants			
Residue VL	IC50(mut) IC50 (wt)	Residue VH	IC50(mut) IC50 (wt)
R24A	1	G26A	2
A25S	1	Y27A	34
N26A	1	T28A	1
E27A	1	F29A	16
Q28A	1	T30A	1
L29A	1	N31A	>150
S30A	2	Y32A	>150
N31A	2	Q33A	6
Y32A	2	I34A	6
L33A	2	N35A	66
N34A	4		
F50A	1	W50A	>150
T51A	1	I51A	4
S52A	1	N52A	>150
S53A	1	T53A	9
L54A	1	Y54A	9
H55A	1	T55A	4
S56A	1	G56A	1
		E57A	2
Q89A	4	P58A	1
Q90A	3	T59A	3
Y91A	14	Y60A	2
S92A	1	A61S	1
T93A	1	A62S	1
V94A	2	D63A	1
P95A	3	F64A	1
W96A	>150	K65A	1
T97A	1	R66A	1
		Y99A	>150
		P100A	38
		H101A	4
		Y102A	4
		Y103A	5
		G104A	2
		S105A	1
		S106A	>150
		H107A	2
		W108A	>150
		Y109A	19
		F110A	25
		D111A	2

[0284] All variants are in the background of pY0192 ("wt"; see FIGS. 9A-B). IC50's were determined in a competitive phage-ELISA assay.

[0285] The largest effects of Ala substitutions are seen in CDRs H1, H2, and H3, including Y27A (34-fold reduction in affinity), N31A, Y32A, W50A, N52A, Y99A, S106A and W108A (each >150-fold reduction); N35A (66-fold reduction), P100A (38-fold reduction) and F110A (25-fold reduction).

tion). In contrast, only one VL substitution had a large impact on binding affinity, W96A (>150-fold reduction). These results point to the three VH CDRs as the main energetic determinants of Fab binding to VEGF, with some contribution from VL3.

[0286] Design of Second-Generation CDR Mutation Libraries:

[0287] Two additional libraries which randomized existing residues in anti-VEGF version Y0192 were designed based upon inspection of the crystal structure. In VH2, residues 52-55 were randomized because they lie within the binding interface with VEGF. An additional region of the Fab, termed "CDR7" (see FIG. 10B), was also targeted for randomization because several residues in this loop, while not contacting VEGF, do have contacts with the VH loops of the antibody. These represented potential sites for affinity improvement through secondary effects upon the interface residues. Residues L72, T74, and S77 were randomized in this CDR7 library.

[0288] Also based upon the crystal structure, one of the original CDR libraries was reconstructed to re-test the potential for affinity maturation in the VH1 CDR. Residues 27, 28, and 30-32 were randomized using the new Y0192 background.

[0289] Second-Generation Selections of Anti-VEGF Libraries:

[0290] Based on Ala-scan results as well as the crystal structure of the antigen-antibody (F(ab)-12) complex, a total of seventeen libraries were constructed using the pY0192 template and stop-template oligonucleotides (which code for a stop codon at the sites targeted for randomization) YC-80, YC-100, YC-102, HL-263, and HL-264 (Table 9 above). The corresponding randomization oligonucleotides (which employ NNS at the sites targeted for randomization) were YC81, YC-101, YC-103, HL-265, and HL-266 (Table 10 above). The resulting transformants yielded libraries with complexities ranging from 6×10^7 to 5×10^8 which suggests that the libraries were comprehensive in covering all possible variants. Phage libraries were sorted for 7-8 rounds using conditions as described in Table 12 below.

TABLE 12

Conditions for Secondary Selections of Fab Variants			
Round of Selection	Incubation Time (hr)	Incubation Solution	Incubation Temp. (° C.)
1	0	0	room temp.
2	1	ELISA buffer	room temp.
3	2	1 μ M VEGF/ELISA	room temp.
4	18	1 μ M VEGF/ELISA	room temp.
5	37	1 μ M VEGF/ELISA	room temp.
6	17 hr @ room temp./ 30 hr @ 37° C.	1 μ M VEGF/ELISA	room temp./ 37° C.
7	63	1 μ M VEGF/ELISA	37° C.
8	121	1 μ M VEGF/ELISA	37° C.

[0291] ELISA buffer contained 0.5% bovine serum albumin and 0.05% TWEEN 20™ in PBS. VEGF was included in the incubation buffer to minimize rebinding of phages to VEGF coated on the surface of the plate. Sorting of these libraries yielded phage enrichments over 7 to 8 rounds of selection.

[0292] Phage-ELISA Assays of Second Generation Clones:

[0293] After eight round of selections, ten to twenty clones from each library were isolated from carbenicillin containing plates harboring *E. coli* (XL1) colonies which had been infected with an eluted phage pool. Colonies were isolated and grown with helper phage to obtain single-stranded DNA for sequencing. CDR substitutions selected for more favorable binding to VEGF were deduced from the DNA sequences of phagemid clones. A sampling of selected clones is shown in Table 13 below.

TABLE 13

Protein Sequences of Anti-VEGF Variants from Second Generation Fab-Phage Libraries	
Variants from library YC-81	
Name	VH3 sequence (residues 99-111)
Y0238-1	YFYYRGTSHWYFD (SEQ ID NO: 56)
Y0238-2	YFYYINKSHWYFD (SEQ ID NO: 57)
Y0238-3	YFYYYGTSHWYFD (SEQ ID NO: 58)
Y0238-4	YFYYYNQSHWYFD (SEQ ID NO: 59)
Y0238-5	YFYYLAKSHWYFD (SEQ ID NO: 60)
Y0238-6	YFYYRDNSHWYFD (SEQ ID NO: 61)
Y0238-7	YFYYWGTSHWYFD (SEQ ID NO: 62)
Y0238-8	YFYYRQNSHWYFD (SEQ ID NO: 63)
Y0238-9	YFYYRQSSHWYFD (SEQ ID NO: 64)
Y0238-10	YFYYRNTSHWYFD (SEQ ID NO: 65)
Y0238-11	YFYYKNTSHWYFD (SEQ ID NO: 66)
Y0238-12	YFYYIERSHWYFD (SEQ ID NO: 67)
Y0228-21	YFYYRNASHWYFD (SEQ ID NO: 68)
Y0228-22	YFYYTTRSHWYFD (SEQ ID NO: 69)
Y0228-23	YFYYEGSSHWYFD (SEQ ID NO: 70)
Y0228-24	YFYYRQRGHWYFD (SEQ ID NO: 71)
Y0228-26	YFYYTGRSHWYFD (SEQ ID NO: 72)
Y0228-27	YFYYTNTSHWYFD (SEQ ID NO: 73)
Y0228-28	YFYYRKGSHWYFD (SEQ ID NO: 74)
Y0228-29	YFYYTGSSHWYFD (SEQ ID NO: 75)
Y0228-30	YFYYRSGSHWYFD (SEQ ID NO: 76)
Y0229-20	YFYYTNRSHWYFD (SEQ ID NO: 77)
Y0229-21	YFYYRNSSHWYFD (SEQ ID NO: 78)
Y0229-22	YFYYKESSHWYFD (SEQ ID NO: 79)
Y0229-23	YFYYRDASHWYFD (SEQ ID NO: 80)
Y0229-24	YFYYRQKGSWYFD (SEQ ID NO: 81)
Y0229-25	YFYYKGGSHWYFD (SEQ ID NO: 82)
Y0229-26	YFYYYGASHWYFD (SEQ ID NO: 83)
Y0229-27	YFYYRGESHWYFD (SEQ ID NO: 84)
Y0229-28	YFYYRSTSHWYFD (SEQ ID NO: 85)

TABLE 13-continued

Variants from library HL-265	
Name	VH1 sequence (residue 26-35)
Y0243-1	GYDFTHYGMN (5/10 clones) (SEQ ID NO: 86)
Y0243-2	GYEFQHYGMN (SEQ ID NO: 87)
Y0243-3	GYEFTHYGMN (SEQ ID NO: 88)
Y0243-4	GYDFGHYGMN (SEQ ID NO: 89)
Y0243-5	GYDFSHYGMN (SEQ ID NO: 90)
Y0243-6	GYEFSHYGMN (SEQ ID NO: 91)
Variants from library YC-101	
Name	VH "CDR7" sequence (residues 70-79)
Y0244-1	FSVDVSKSTA (SEQ ID NO: 92)
Y0244-2	FSLDKSKSTA (SEQ ID NO: 93)
Y0244-3	FSLDVWKSTA (SEQ ID NO: 94)
Y0244-4	FSIDKSKSTA (:95)

[0294] The sequence of the randomized region only is shown as deduced from DNA sequencing.

[0295] When a number of clones were tested along with the parent clone pY0192 in phage-ELISA assay, none showed a distinctive improvement over the parental clone. This could be explained by the time-scale on which the assay was performed (<3 hours).

[0296] In order to quantify improvement in antigen binding over parent clone, several anti-VEGF variants' DNA were transformed into *E. coli* strain 34B8, expressed as Fab, and purified by passing the periplasmic shockate through a protein G column (Pharmacia) as described in Example 2 above.

[0297] CDR Combination Variants:

[0298] To improve VEGF binding affinity further, mutations found by phage display were combined in different CDRs to create multiple-CDR mutants. In particular, the mutations identified in the most affinity-improved phage variants from VH1, VH2, and VH3 libraries were combined (Table 14) in order to test for additivity of their contributions to binding affinity.

TABLE 14

Combination CDR Anti-VEGF Variants			
Name	Parent clone	Mutagenesis oligo/ comments	Sequence
Y0313-1	Y0243-1	YC-115 (VH3; H101Y and S105T)	5'-GCAAAGTACCCGTACTATTATGGGAC GAGCCACTGGTATTTC-3' (SEQ ID NO:96)
Y0317	Y0313-1	YC-108 (revert VL15'-GTCACCATCACCTGCAGCGCAAGTCA back to wild type)	GGATATTAGCAACTATTTAAAC-3' (SEQ ID NO:97)
Y0313-3	Y0238-3	YC-116 (VH3; T105S)	5'-CCGTACTATTATGGGAGCAGCCACTG GTATTTC-3' (SEQ ID NO:98)

[0299] Mutations from the indicated parental vectors were combined with those from the indicated oligonucleotide by site-directed mutagenesis to yield the combination variants listed.

[0300] Version Y0317 is equivalent to Y0313-1 except that the background mutation in VL1 was removed and its sequence reverted back to that in pY0101. The effects of mutating H101Y and S105T were tested by constructing a reversion mutant from Y0238-3.

[0301] BIAcore Analysis:

[0302] The VEGF-binding affinities of Fab fragments were calculated from association and dissociation rate constants measured using a BIAcore-2000™ surface plasmon resonance system (BIAcore, Inc., Piscataway, N.J.). A biosensor chip was activated for covalent coupling of VEGF using N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride (EDC) and N-hydroxysuccinimide (NHS) according to the supplier's (BIAcore, Inc., Piscataway, N.J.) instructions. VEGF was buffered exchanged into 20 mM sodium acetate, pH 4.8 and diluted to approximately 50 µg/mL. An aliquot (35 µL) was injected at a flow rate of 2 µL/min to achieve approximately 700-1400 response units (RU) of coupled protein. Finally, 1 M ethanolamine was injected as a blocking agent.

[0303] For kinetics measurements, two-fold serial dilutions of Fab were injected in PBS/TWEEN™ buffer (0.05% TWEEN 20™ in phosphate buffered saline) at 25° C. at a flow rate of 10 µL/min. On rates and off rates were calculated using standard protocols (Karlsson et al. *J. Immun. Methods* 145:229-240 (1991)). Equilibrium dissociation constants, Kd's from surface plasmon resonance (SPR) measurements were calculated as koff/kon. Data are shown in Table 15 below.

TABLE 15

Kinetics of Fab-VEGF binding from BIAcore™ measurements				
Variant	Kon (10 ⁴ /M/s)	koff (10 ⁻⁴ /s)	Kd (nM)	Kd (wt)/ Kd (mut)
Y0244-1	3.4	2.7	8	3.6
Y0244-4	5.2	1.7	3.3	0.9
Y0243-1	6.7	0.45	0.7	4.1
Y0238-3	1.7	≤0.04*	≤0.2*	≥14*
Y0238-7	1.5	≤0.06*	≤0.4*	≥7.3*
Y0238-10	1.6	0.09	0.6	4.8
Y0238-5	0.8	0.08	0.9	3.2
Y0238-1	2.6	0.09	0.4	7.3
Y0313-1	3.5	≤0.054*	≤0.15*	≥20*
Y0313-3	1.2	0.081	0.65	4.5

*The dissociation rate observed probably reflects an upper limit for the true dissociation rate in these experiments, since the off-rate is approaching the limit of detection by BIAcore.

[0304] The BIAcore™ data in Table 15 show that several variants had improved affinity over Y0192. For example, a CDRH1 variant, Y0243-1, showed 4.1 fold enhanced affinity, arising from mutations T28D and N31 H. Variant Y0238-3 showed at least a 14 fold improvement in binding affinity over Y0192. Both CDRH3 mutations contribute to the improved affinity of Y0238-3 because reversion of T105 to S (variant Y0313-3) reduces the affinity of Y0238-3 from 0.1 5nM to 0.65 nM (see Table 15). The greater affinity

enhancement relative to Y0192 was seen for Y0313-1, which contained CDRH3 mutations combined with CDRH1 mutations.

[0305] Cell-Based Assay of VEGF Inhibition:

[0306] Several versions of the A4.6.1 anti-VEGF antibody were tested for their ability to antagonize VEGF (recombinant; version 1-165) in induction of the growth of HuVECs (human umbilical vein endothelial cells). The 96-well plates were seeded with 1000 HuVECs per well and fasted in assay medium (F12:DMEM 50:50 supplemented with 1.5% dialyzed fetal bovine serum) for 24 h. The concentration of VEGF used for inducing the cells was determined by first titrating for the amount of VEGF that can stimulate 80% of maximal DNA synthesis. Fresh assay medium containing fixed amounts of VEGF (0.2 nM final concentration), and increasing concentrations of anti-VEGF Fab or Mab were then added. After 40 h of incubation, DNA synthesis was measured by incorporation of tritiated thymidine. Cells were pulsed with 0.5 µCi per well of [3H]-thymidine for 24 h and harvested for counting, using a TopCount gamma counter.

[0307] The results (FIG. 11) show that the full-length IgG form of F(ab)-12 was significantly more potent in inhibiting VEGF activity than the Fab form (here, Y0192 was used). However, both variants Y0238-3 and Y0313-1 showed even more potent inhibition of VEGF activity than either the Y0192 Fab or F(ab)-12 Mab. Comparing the Fab forms, variant Y0313-1 appeared >30-fold more potent than the wild-type Fab. It should be noted that the amount of VEGF (0.2 nM) used in this assay is potentially limiting for determination of an accurate IC50 for the mutant. For example, if the binding affinity (Kd) of the mutant is in fact <0.2 nM, the IC50 in this experiment will appear higher than under conditions of lower VEGF concentration. The result therefore supports the conclusion that the affinity-improved variant is at least 30-fold improved in affinity for VEGF, and that it effectively blocks VEGF activity in vitro. Since the variant Y0317 differs from Y0313-1 only in the reversion of the VL1 sequence to wild-type (FIG. 10A), it is predicted that Y0317 will have similar activity to Y0313-1.

[0308] Variant Y0317 (Fab) and humanized variant F(ab)-12 from Example 1 (full length and Fab) were compared for their ability to inhibit bovine capillary endothelial cell proliferation in response to a near maximally effective concentration of VEGF using the assay described in Example 1. As illustrated in FIG. 12, Y0317 was markedly more effective at inhibiting bovine capillary endothelial cell proliferation than the full length and Fab forms of F(ab)-12 in this assay. The Y0317 affinity matured Fab demonstrated an ED50 value in this assay which was at least about 20 fold lower than F(ab)-12 Fab.

What is claimed is:

1. A humanized anti-VEGF antibody which binds human VEGF with a K_d value of no more than about 1×10⁻⁸M.
2. A humanized anti-VEGF antibody which binds human VEGF with a K_d value of no more than about 5×10⁻⁹M.
3. A humanized anti-VEGF antibody which has an ED50 value of no more than about 5 nM for inhibiting VEGF-induced proliferation of endothelial cells in vitro.
4. A humanized anti-VEGF antibody which inhibits VEGF-induced angiogenesis in vivo.

5. The humanized anti-VEGF antibody of claim 4 wherein 5 mg/kg of the antibody inhibits at least about 50% of tumor growth in an A673 in vivo tumor model.

6. The humanized anti-VEGF antibody of claim 1 having a heavy chain variable domain comprising the following hypervariable region amino acid sequences: CDRH1 (GYX₁FTX₂YGMN, wherein X₁ is T or D and X₂ is N or H; SEQ ID NO:128), CDRH2 (WINTYTGEPTYAADFQR; SEQ ID NO:2) and CDRH3 (YPX₁YYGX₂SHWYFDV, wherein X₁ is Y or H and X₂ is S or T; SEQ ID NO:129).

7. The humanized anti-VEGF antibody of claim 6 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:7.

8. The humanized anti-VEGF antibody of claim 6 having a heavy chain variable domain comprising the following hypervariable region amino acid sequences: CDRH1 (GYTFTNYGMN; SEQ ID NO:1), CDRH2 (WINTYTGEPTYAADFQR; SEQ ID NO:2) and CDRH3 (YPHYGGSSHWFYFDV; SEQ ID NO:3).

9. The humanized anti-VEGF antibody of claim 1 having a light chain variable domain comprising the following hypervariable region amino acid sequences: CDRL1 (SASQDISNYLN; SEQ ID NO:4), CDRL2 (FTSSLHS; SEQ ID NO:5) and CDRL3 (QQYSTVPWT; SEQ ID NO:6).

10. The humanized anti-VEGF antibody of claim 9 comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:8.

11. The humanized anti-VEGF antibody of claim 1 having a heavy chain variable domain comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:7 and a light chain variable domain comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:8.

12. An anti-VEGF antibody light chain variable domain comprising the amino acid sequence: DIQX₁TQSPSSLSASVGDRTITCSA SQDISNYLNWYQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQYSTVPWTF-GQGTKVEIKR (SEQ ID NO:124), wherein X₁ is M or L.

13. An anti-VEGF antibody heavy chain variable domain comprising the amino acid sequence: EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGYX₁FTX₂YGMNW VRQAPGK-GLEWVGWINTYTGEPT YAADFQRRTF-SLDTSKSTAY

LQMNSLRAEDTAVYYCAKYPX₃YYGX₄ SHWYFDVWGQGTILV TVSS (SEQ ID NO:125), wherein X₁ is T or D; X₂ is N or H; X₃ is Y or H and X₄ is S or T.

14. A variant of a parent anti-VEGF antibody, wherein said variant binds human VEGF and comprises an amino acid substitution in a hypervariable region of a heavy chain variable domain of said parent antibody.

15. The variant of claim 14 wherein said parent antibody is a human or humanized antibody.

16. The variant of claim 14 which binds human VEGF with a K_d value of no more than about 1×10⁻⁸M.

17. The variant of claim 14 which binds human VEGF with a K_d value of no more than about 5×10⁻⁹M.

18. The variant of claim 14 wherein the substitution is in CDRH1 of the heavy chain variable domain.

19. The variant of claim 14 wherein the substitution is in CDRH3 of the heavy chain variable domain.

20. The variant of claim 14 which has amino acid substitutions in both CDRH1 and CDRH3.

21. The variant of claim 14 which binds human VEGF with a K_d value less than that of said parent antibody.

22. The variant of claim 14 which has an ED50 value for inhibiting VEGF-induced proliferation of endothelial cells in vitro which is at least about 10 fold lower than that of said parent antibody.

23. The variant of claim 18 wherein the CDRH1 comprises the amino acid sequence: GYDFTHYGMN (SEQ ID NO:126)

24. The variant of claim 19 wherein the CDRH3 comprises the amino acid sequence: YPYYGTSHWYFDV (SEQ ID NO:127).

25. The variant of claim 14 wherein the heavy chain variable domain comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:116.

26. The variant of claim 25 further comprising the light chain variable domain amino acid sequence of SEQ ID NO:124.

27. The variant of claim 26 comprising the light chain variable domain amino acid sequence of SEQ ID NO:115.

28. The humanized anti-VEGF antibody of claim 1 which is a full length antibody.

29. The humanized anti-VEGF antibody of claim 28 which is a human IgG.

30. The humanized anti-VEGF antibody of claim 1 which is an antibody fragment.

31. The antibody fragment of claim 30 which is a Fab.

32. A composition comprising the humanized anti-VEGF antibody of claim 1 and a pharmaceutically acceptable carrier.

33. A composition comprising the variant anti-VEGF antibody of claim 14 and a pharmaceutically acceptable carrier.

34. Isolated nucleic acid encoding the antibody of claim 1.

35. A vector comprising the nucleic acid of claim 34.

36. A host cell comprising the vector of claim 35.

37. A process of producing a humanized anti-VEGF antibody comprising culturing the host cell of claim 36 so that the nucleic acid is expressed.

38. The process of claim 37 further comprising recovering the humanized anti-VEGF antibody from the host cell culture.

39. A method for inhibiting VEGF-induced angiogenesis in a mammal comprising administering a therapeutically effective amount of the humanized anti-VEGF antibody of claim 1 to the mammal.

40. The method of claim 39 wherein the mammal is a human.

41. The method of claim 39 wherein the mammal has a tumor.

42. The method of claim 39 wherein the mammal has a retinal disorder.

* * * * *



PODER ESPECIAL

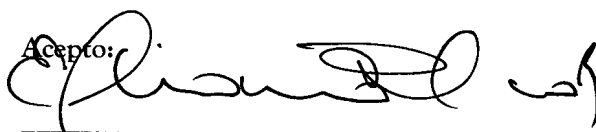
Yo, **WALTER TANAKA TATEKAWA**, mayor de edad y vecino de la ciudad de Barranquilla (Colombia), identificado como aparece al pie de mi firma, quien en el presente documento actúa en calidad de Representante Legal de la sociedad **PROCAPS S.A.** sociedad legalmente constituida y domiciliada en la ciudad de Barranquilla (Colombia), por el presente documento otorgo a la doctora **ELIANA ISAURA MORENO BOHORQUEZ**, abogada en ejercicio, identificada como aparece al pie de su firma, con tarjeta profesional No. 83823 del C.S. de la J., poder especial, amplio y suficiente, para formular oposiciones u observaciones a la solicitud de patente No. 11 179.622, titulada "ANTICUERPOS ANTI-VEGF Y SUS USOS", cuyo titular es **ABBOTT BIOTHERAPEUTICS CORP.** publicada en la gaceta No. 648 del 16 de julio de 2012.

Nuestro apoderado queda facultado, de manera expresa, para realizar todo tipo de actos necesarios para llevar a cabo el trámite de la oposición, incluyendo, sin limitación, preparar y presentar solicitudes, hacer declaraciones, pagar tasas, contribuciones e impuestos, recabar los títulos o certificados. Asimismo quedan autorizados para impugnar administrativamente todo lo que fuere resuelto en el expediente a que se hace expresa referencia en el presente poder, con todas las facultades generales y específicas que fuera requerido para ella.

De la misma manera, además de las facultades que le confiere la naturaleza del presente mandato, se encuentran facultados para recibir, desistir, transigir, sustituir, y reasumir el presente poder, incoar acciones, interponer recursos y demás facultades conferidas por la ley.

Dado y Firmado en Barranquilla (Colombia) a los tres días del mes de Octubre de 2012.

APROBADO
03 OCT. 2012
PROCAPS S.A.
C.C. N° 16'251.923
NIT: 890.106.527-5
Representante Legal

Acepto:

ELIANA ISAURA MORENO BOHÓRQUEZ
C.C. 51.975.664
T.P. 83823 del C.S.J

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012 Hr:11:09:36

***** Pag. 1
CAMARA DE COMERCIO
DE BARRANQUILLA
03*****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----

NIT: 890.1062527-5.-----

EL SUSCRITO SECRETARIO DE LA CAMARA DE COMERCIO DE BARRANQUILLA, CON FUNDAMENTO EN LAS INSCRIPCIONES DEL REGISTRO MERCANTIL:

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 1,190 del 22 de Julio de 1976, otorgada en la Notaria Tercera de Barranquilla, inscrito(as) en esta Cámara de Comercio, el 28 de Julio de 1976 bajo el No. 6,070 del libro respectivo, fue constituida la sociedad----- limitada denominada "PRODUCTORA DE CAPSULAS DE GELATINAS LIMITADA "PROCAPS LIMITADA".-----

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 1,307 del 28 de Junio de 1979, otorgada en la Notaria Tercera de Barranquilla, inscrito(as) en esta Cámara de Comercio, el 23 de Julio de 1979 bajo el No. 10,039 del libro respectivo, la sociedad antes mencionada----- se transformo en sociedad anonima bajo la denominacion social de "PRODUCTORA DE CAPSULAS DE GELATINA S.A." "PROCAPS S.A.".-----

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 3,810 del 31 de Dic/bre de 1980, otorgada en la Notaria Primera de Barranquilla, inscrito(as) en esta Cámara de Comercio, el 30 de Enero de 1981 bajo el No. 12,705 del libro respectivo, la sociedad antes mencionada----- se transformo en sociedad de responsabilidad limitada bajo al razon social de "PRODUCTORA DE CAPSULAS DE GELATINA LIMITADA "PROCAPS LI - MITADA".-----

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 3,755 del 10 de Nov/bre de 1983, otorgada en la Notaria Unica de Soledad, inscrito(as) en esta Cámara de Comercio, el 22 de Nov/bre de 1983 bajo el No. 17,922 del libro respectivo, la sociedad antes mencionada----- se transformo en sociedad anonima bajo la denominacion social de "PRODUCTORA DE CAPSULAS DE GELATINA S.A." "PROCAPS S.A.".-----

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 3,615 del 06 de Dic/bre de 1996, otorgada en la Notaria 2a. de Barranquilla, inscrito(as) en esta Cámara de Comercio, el 20 de Dic/bre de 1996 bajo el No. 67,218 del

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

libro respectivo, la sociedad antes mencionada
cambio de razon social, por la denominacion LABORATORIOS PROCAPS S.A.

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 3,775 del 18 de Dic/bre de 1996, otorgada en la Notaria 2a. de Barranquilla, inscrito(as) en esta Cámara de Comercio, el 23 de Enero de 1997 bajo el No. 67,704 del libro respectivo, la sociedad antes mencionada
cambio de razon social, por la denominacion PROCAPS S.A.

C E R T I F I C A

Que dicha sociedad ha sido reformada por las siguientes escrituras y/o documentos privados:

Numero	aaaa/mm/dd	Notaria	No. Insc o Reg	aaaa/mm/dd
39	1979/01/18	Notaria 3a. de Barranquilla.	9,452	1979/01/24
992	1981/04/30	Notaria 1a. de Barranquilla.	13,112	1981/05/06
1,464	1982/08/27	Notaria Unica de Soledad	15,533	1982/09/08
2,744	1983/08/18	Notaria Unica de Soledad	17,416	1983/08/26
3,826	1984/07/16	Notaria Unica de Soledad	19,554	1984/07/27
3,835	1985/08/26	Notaria Unica de Soledad	22,230	1985/09/04
2,260	1986/09/10	Notaria Unica de Soledad.	24,995	1986/09/15
1,849	1989/07/11	Notaria 2a. de Barranquilla	33,909	1989/07/13
444	1990/02/21	Notaria 2a. de Barranquilla.	36,101	1990/03/16
3,090	1991/12/17	Notaria 2a. de Barranquilla	43,993	1992/01/28
269	1993/02/01	Notaria 2a. de Barranquilla	48,428	1993/02/16
2,342	1993/07/28	Notaria 2a. de Barranquilla	50,582	1993/08/10
3,652	1993/11/09	Notaria 2a. de Barranquilla	51,798	1993/11/22
3,615	1996/12/06	Notaria 2a. de Barranquilla	67,218	1996/12/20
89	1997/01/16	Notaria 2a. de Barranquilla	67,704	1997/01/23
2,070	1997/07/17	Notaria 2a. de Barranquilla	70,627	1997/07/31
2,281	1997/08/04	Notaria 2a. de Barranquilla	70,813	1997/08/14
765	1999/04/22	Notaria 3a. de Barranquilla.	80,628	1999/04/23
459	2001/02/21	Notaria 2a. de Barranquilla	91,502	2001/02/23
2,608	2001/10/05	Notaria 2a. de Barranquilla	95,771	2001/11/08
1,730	2004/07/29	Notaria 2. de Barranquilla	112,999	2004/08/26
416	2005/03/03	Notaria 2. de Barranquilla	116,364	2005/03/10
1,613	2005/07/28	Notaria 2. de Barranquilla	119,322	2005/08/18
710	2009/05/05	Notaria 3 a. de Barranquilla	150,130	2009/06/30
1,054	2009/06/25	Notaria 3 a. de Barranquilla	150,130	2009/06/30

C E R T I F I C A

Que de acuerdo con la(s) escritura(s) o el(los) documento(s) arriba citado(s), la sociedad se rige por las siguientes disposiciones:

DENOMINACION O RAZON SOCIAL:

PROCAPS S.A.

SIGLA: PROCAPS.

DOMICILIO PRINCIPAL: Barranquilla.

NIT No: 890.106.527-5.

MATRICULA MERCANTIL: 24,802.

***** C O N T I N U A *****

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012 Hr:11:09:36

***** Pag. 2
CAMARA DE COMERCIO
DE BARRANQUILLA
03*****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----

NIT: 890.106.527-5.

C E R T I F I C A

Dirección Comercial:

CL 80 No 78 B - 201 en Barranquilla.

Dirección

Electrónica:

jcelis@procaps.com.co

Telefono: 3719278.

Dirección Judicial:

CL 80 No 78 B - 201 en Barranquilla.

Dirección

Electrónica:

jcelis@procaps.com.co

Telefono: 3719278.

C E R T I F I C A

DURACION: Que la sociedad no se halla disuelta y su término de
duración se fija hasta el
18 de Agosto de 2073.

C E R T I F I C A

CAMARA DE COMERCIO DE BARRANQUILLA

OBJETO SOCIAL: El objeto principal de la sociedad sera: a) La fabricación, importación y comercialización de alimentos procesados y suplementos dietarios. b) La fabricación de capsulas y otros productos similares a partir de materiales tales como gelatinas u otros de distinta naturaleza, que puedan ser utilizados como envases o recipientes de productos y sustancias quimicas, farmaceuticas, alimenticias y cosmeticas, para uso y consumo humano y veterinario. c) La investigacion, desarrollo y fabricacion de toda clase de productos y sustancias quimicas, farmaceuticas, alimenticias y cosmeticas para uso y consumo humano, animal y vegetal. d) La compra y venta de materias primas, insumos y productos intermedios necesarios para los procesos de fabricacion de sustancias quimicas, farmaceuticas, alimenticias y cosmeticas, asi como la comercializacion interna y externa de los productos terminados. e) La compra, venta, importacion, exportacion y distribucion de toda clase de elementos instrumentales y equipos medicos, quirurgicos, odontologicos y hospitalarios para la salud humana y animal. f) La compra, venta, exportacion, fabricacion, importacion, distribucion de dulces, confites, galletas y todo tipo de golosinas o alimentos para el consumo humano. g) Actuar como representante o agente de personas naturales y juridicas, nacionales y extranjeras en la realizacion de operaciones o transacciones relacionadas con la industria farmaceutica y en especial con cualquiera de las actividades descritas en los literales a) b), c), d) y e) antes descritos. h) Prestar los

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

servicios de asesorias y consultoria en las areas administrativas, de mercadeo, analisis clinico, asistencia tecnica, investigacion, costos y produccion, exportaciones, importaciones, ventas, relacionadas con iguales o similares actividades a las que constituyen el objeto de PROCAPS S.A., asi como los de publicidad y promocion de productos quimicos, alimenticios, cosmeticos y farmaceuticos para uso humano, animal o industrial. i) Adquirir, operar, administrar y explotar, a cualquier titulo, empresa o establecimientos dedicados a la investigacion, desarrollo, fabricacion o comercializacion de productos quimicos, farmaceuticos, alimenticios, hospitalarios o cosmeticos. En desarrollo de su objeto principal, la sociedad podra tomar interes social como accionista, socio o fundador de empresas que tengan igual o similar objeto, comprar, vender, importar y exportar maquinarias, insumos y repuestos requeridos para el desarrollo de sus actividades; tomar dinero en prestamo, financiar y garantizar las operaciones comerciales que celebre con terceros relativas a su objeto; celebrar y ejecutar todo tipo de actos y contratos necesarios para desarrollar sus operaciones; girar, aceptar, otorgar y protestar todo tipo de titulos valores e instrumentos negociables, comprar, vender y constituir gravámenes sobre bienes muebles e inmuebles, designar representantes apoderados en el pais y en el exterior y, en general, realizar cualquier acto o negocio que sea necesario o conveniente para el desarrollo de su objeto social y para la mejor proteccion de sus intereses corporativos o la de sus socios. La sociedad podra garantizar el cumplimiento de sus obligaciones adquiridas por terceros o por sus socios, para lo cual podra inclusive constituir gravámenes reales sobre sus bienes de cualquier naturaleza.

C E R T I F I C A

CAPITAL	Nro Acciones	Valor Acción
Autorizado		
\$*****2,000,000,000 *****	2,000,000 *****	1,000 *****
Suscrito		
\$*****1,298,000,000 *****	1,298,000 *****	1,000 *****
Pagado		
\$*****1,298,000,000 *****	1,298,000 *****	1,000 *****

C E R T I F I C A

ADMINISTRACION: La direccion y administracion de la sociedad correspondera a la Asamblea General de Accionistas, a la Junta Directiva, al Presidente, al Vicepresidente y a un Gerente General. Corresponde a la Junta Directiva las siguientes funciones y atribuciones entre otras: Autorizar cualquier acto o contrato cuya cuantia sea superior al equivalente en pesos Colombianos a doscientos cincuenta mil dolares de los Estados Unidos de America (US\$250.000), liquidados a la tasa de cambio representativa del mercado vigente el dia en que se surta la transacion. Cuando se trate de operaciones en virtud de las cuales la sociedad garantice obligaciones de terceros o de los socios, se requerira que la operacion sea aprobada con el voto de

***** C O N T I N U A *****

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012

Hr:11:09:36



PROCAPS S.A.

PROCAPS S.A.-----
NIT: 890.106.527-5.

por lo menos 2/3 partes de los integrantes de la Junta Directiva. La sociedad tendra un Presidente, quien ejercera la representacion legal de la sociedad y tendra las siguientes atribuciones, entre otras: Ejecutar las decisiones de la Asamblea General de Accionistas y de la Junta Directiva. Ejercer la Representacion Legal de la sociedad en todos los actos y contratos que se requieran para el desarrollo del objeto social, de conformidad con lo previsto en las leyes y en los presentes estatutos. Constituir apoderados judiciales y extrajudiciales, recibir notificaciones, absolver interrogatorios de parte, confesar obligaciones de la sociedad, transigir, desistir y allanar a la sociedad en cualquier asunto judicial. Aprobar y celebrar en nombre de la sociedad todo acto o contrato cuya cuantia sea igual o inferior al equivalente en pesos colombianos a doscientos cincuenta mil dolares de los Estados Unidos de America (US\$250.000), liquidados a la tasa de cambio representativa del mercado vigente el dia en que se surta la transaccion o celebracion del acto. Las demas funciones que le correspondan como Representante Legal por disposicion de la ley, de estos estatutos o de la Junta Directiva. El Presidente tendra un suplente, designado por la Junta Directiva, quien reemplazara al Presidente en sus faltas temporales, absolutas o meramente accidentales, con entidades facultades y sin que sea necesario para ello acreditar la ausencia del principal. La sociedad tendra un Vicepresidente designado por la Junta Directiva, quien tambien ejercera la representacion legal de la sociedad, pudiendo ejercerla conjunta o separadamente con el Presidente. El vicepresidente tendra las siguientes facultades entre otras: Ejecutar dentro de su competencia las decisiones de la Asamblea General de Accionistas, de la Junta Directiva y del Presidente. Ejercer la representacion legal de la sociedad en todos los actos y contratos que se requieran para el desarrollo del objeto social de conformidad con lo previsto en las leyes y en los presentes estatutos. Constituir apoderados judiciales y extrajudiciales, recibir notificaciones, absolver interrogatorios de parte, confesar obligaciones de la sociedad, transigir, desistir y allanar a la sociedad en cualquier asunto judicial. Aprobar y celebrar en nombre de la sociedad todo acto o contrato cuya cuantia sea igual o inferior al equivalente en pesos colombianos a ciento cincuenta mil dolares de los Estados Unidos de America (US\$150.000), liquidados a la tasa de cambio representativa del mercado vigente el dia en que se surta la aprobacion o celebracion del acto, siempre que no se trate de enajenar bienes inmuebles o cualquier otro activo fijo de la sociedad, inclusive de naturaleza muebles, acciones, cuotas o partes de interes inversiones y todo tipo de derechos de la sociedad, o de constituir gravámenes sobre cualquiera de los anteriores, facultades que radican exclusiva y privativamente en

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

cabeza del Presidente. Las demas funciones que le corresponda como Representante legal por disposicion de la ley, de estos estatutos o de la Junta Directiva. El Vicepresidente tendra (1) suplente, designado por la Junta Directiva, quien lo reemplazara conjunta o separadamente en sus faltas temporales, absolutas o meramente accidentales, con identicas facultades y sin que sea necesario para ello acreditar la ausencia del principal. La sociedad tendra un (1) Gerente General, con su respectivo Suplente, designados por la Junta Directiva. El Suplente reemplazara al Gerente General, en sus faltas temporales, absolutas o meramente accidentales, quien junto con el gerente general, llevaran la representacion legal de la sociedad, con identicas facultades, pudiendolas ejercer conjunta o separadamente con el Presidente y Vicepresidente, con identicas facultades que el Gerente General y sin que sea necesario para ello acreditar la ausencia del titular. El Gerente General tendra las siguientes facultades entre otras: Ejercer la representacion legal de la sociedad, en todos los actos y contratos que se requieran para el desarrollo del objeto social, de conformidad con lo previsto en las leyes y en los presentes estatutos. Aprobar y celebrar en nombre de la sociedad todo acto o contrato cuya cuantia sea igual o inferior al equivalente en pesos Colombianos a Cincuenta Mil dolares de los Estados Unidos de America (US\$50.000), liquidados a la tasa de cambio representativa del mercado vigente el dia en que se surta la aprobacion o celebracion del acto, siempre que no se trate de enajenar a cualquier titulo bienes inmuebles o cualquier otro activo fijo de la sociedad, inclusive de naturaleza mueble, acciones, cuotas o partes de interes, inversiones y todo tipo de derechos de la sociedad o de constituir gravámenes sobre cualquiera de las anteriores facultades que radican exclusiva y privativamente en cabeza del Presidente.

C E R T I F I C A

Que según Acta No. 116 del 27 de Junio de 1997 correspondiente a la Asamblea de Accionistas en Barranquilla, de la sociedad:

PROCAPS S.A.

cuya parte pertinente se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 15 de Agosto de 1997 bajo el No. 70,838 del libro respectivo, y según Acta No. 127 del 22 de Marzo de 2000 correspondiente a la Asamblea de Accionistas en Barranquilla, de la sociedad:

PROCAPS S.A.

cuya parte pertinente se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 29 de Mayo de 2000 bajo el No. 87,250 del libro respectivo, fueron hechos los siguientes nombramientos:

CLASE: JUNTA DIRECTIVA

Principales

- | | |
|---------------------------|-------------------|
| 1. Minski Gontovnik Ruben | CC.*****7,463,982 |
| 2. Minski Gontovnik Meyer | CC.*****7,461,324 |
| 3. Minski Gontovnik Jose | CC.*****8,671,834 |

Suplentes

***** C O N T I N U A *****

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012 Hr:11:09:36

***** Pag. 4
CAMARA DE COMERCIO
DE BARRANQUILLA
03*****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----
NIT: 890.106527-5.

1. Minski Zirberblum Elliot
2. Minski Deitel Daniel
3. Minski Sharon

CC.*****72,219,541

PA.***990,212,082,805

C E R T I F I C A

Que según Acta No. 116 del 27 de Junio de 1997 correspondiente a la Asamblea de Accionistas en Barranquilla, de la sociedad: PROCAPS S.A. cuya parte pertinente se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 15 de Agosto de 1997 bajo el No. 70,838 del libro respectivo, fueron hechos los siguientes nombramientos:

Cargo/Nombre
Presidente.

Minski Gontovnik Ruben

Identificación

CC.*****7463982



Que según Acta No. 406 del 02 de Sep/bre de 2004 correspondiente a la Junta Directiva en Barranquilla, de la sociedad: PROCAPS S.A. cuya parte pertinente se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 09 de Sep/bre de 2004 bajo el No. 113,263 del libro respectivo, fueron hechos los siguientes nombramientos:

Cargo/Nombre

Suplente del Gerente.

Tanaka Tatekawa Walter

Identificación

CC.*****16251923

C E R T I F I C A

Que según Acta No. 658 del 07 de Dic/bre de 2011 correspondiente a la Junta Directiva en Barranquilla, de la sociedad: PROCAPS S.A. cuya parte pertinente se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 09 de Dic/bre de 2011 bajo el No. 176,066 del libro respectivo, fueron hechos los siguientes nombramientos:

Cargo/Nombre

Gerente General.

Otero Arteaga Javier Ernesto

Vicepresidente

Minski Gontovnik Jose

Suplente del Presidente

Minski Gontovnik Meyer

Suplente del vicepresidente

Carvajalino Pagano Marcela

Identificación

CC.*****91263993

CC.*****8671834

CC.*****7461324

CC.*****22579748

C E R T I F I C A

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

Que según Acta No. 159 del 16 de Enero de 2012 correspondiente a la Asamblea de Accionistas en Barranquilla, de la sociedad: PROCAPS S.A. cuya parte pertinente se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 23 de Enero de 2012 bajo el No. 237,199 del libro respectivo, fueron hechos los siguientes nombramientos:

Cargo/Nombre	Identificación
Revisor Fiscal Principal	
Rodriguez Rey Jose Luis	CC.*****72,001,912

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 2,784 del 07 de Dic/bre de 2007, otorgada en la Notaria 2 a. de Barranquilla cuya parte pertinente se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 20 de Dic/bre de 2007 bajo el No. 3,492 del libro respectivo, y las inscripciones 3.492-1, 3.493, 3.494, 3.495, 3.496, 3.497, 3.498, 3.499, 3.500, 3.501, 3.502, 3.503, 3.504, 3.505, 3.506, 3.507, Consta que RUBEN MINSKI GONTOVNIK, C.C. No. 7.463.982, obrando como Presidente y Representante Legal de la sociedad C.I. NATURMEGA S.A., que obrando en su condicion de Presidente y Representante Legal de la sociedad PROCAPS S.A., el presidente debidamente facultado por los Estatutos Sociales y por el Maximo Organo Social, otorga los siguientes poderes: Otorgar poder general, amplio y suficiente a los doctores JOSEFINA DEL CARMEN MIELES BUELVAS CC.No.33.138.497; a MARCELA CARVAJALINO PAGANO CC.No.22.579.748; CRISTINA VIOLI FRANCESCHINI CC.No.22.463.716, con las facultades que se transcriben a continuación: a.- Para que representen a la sociedad PROCAPS S.A. ante todo tipo de autoridades administrativas y jurisdiccionales en asuntos de naturaleza civil, laboral, comercial, penal, aduanera, cambiaria, tributaria, policiva, administrativa y fiscal. b.- Contestar y presentar demandas, requerimientos, recursos, pedir y aportar pruebas, recibir, notificarse, ejercer la accion de tutela, tramitar incidente de desacato, comparecer en los procesos que cursen contra la sociedad, allanarse en nombre de la sociedad en los asuntos que sean necesarios, transigir, desistir, sustituir, renunciar y reasumir el poder. c.- La facultad expresa de conciliar, por tanto pueden llegar a acuerdos conciliatorios, transaccionales, judiciales o extrajudiciales o extrajudiciales, cualquiera que sea su cuantía, para lo cual las apoderadas deben aportar la autorizacion simple y escrita del Representante legal de la sociedad. d.- Podran presentar solicitudes de devolucion y/o compensacion de impuestos, ventas y rentas, recibir los pagos por las devoluciones y adelantar todo tramite o proceso administrativo ante la DIAN, de tal forma que en ningun momento quede sin representacion legal de la sociedad. PODERES ESPECIALES: a.- Se confiere poder especial amplio y suficiente a las personas que se determinan seguidamente, que conforman el grupo A y B, para, para que conjuntamente suscriban contratos de suministros de mercancías y servicios con entidades oficiales, hasta la suma de OCHOCIENTOS MIL DOLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA (US800.000.00), liquidados a la tasa representativa del mercado vigente en el día que se realice la respectiva transaccion. Grupo A. WALTER NANKA

***** C O N T I N U A *****



CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----
NIT: 890.106.527-5.

TATEKAWA CC.No.16.251.923, CLAUDIA TANGARIFE CASTILLO -----
CC.No.41.660.293, CARMEN ALICIA FLOREZ CC.No.22.434.044, IVAN -----
VILLAREAL CAMACHO CC.No.91.201.749, CARMEN ALICIA HERRERA -----
DIAZGRANADOS CC.No.22.377.540, DAVID ANTONIO CHARRIS GIRALDO -----
CC.No.19.341.274, RICARDO DORADO HURTADO CC.No.79.715.772, JAIME -----
FORERO LLINAS CC.No.19.300.593. b.- Se confiere poder especial -----
amplio y suficiente al señor WILLIAM ALBERTO BARROS CERRA -----
CC.No.8.715.941, para que en nombre y representacion de PROCAPS -----
S.A., suscriban declaraciones cambiarias, aduaneras y tributarias a -----
que este obligada la sociedad, en el giro normal de sus negocios y -----
operaciones sociales, por tanto quedan facultados para firmarlas, -----
como tambien los demas documentos relacionados con ellas, -----
notificarse, aportar y solicitar las pruebas que sean necesarias. -----
c.-Otorgar poder especial amplio y suficiente al señor MARLON -----
TATIS PAREDES CC.No.72.176.874 y al señor WILLIAM ALBERTO BARROS -----
CERRA CC.No.8.715.941, para que en nombre y representacion de -----
PROCANPS S.A., suscriban las declaraciones, reportes y cualquier -----
documento relacionado con los tramites o registros de Comercio -----
Exterior y o cualquier entidad del Estado que haga sus veces: d) -----
Otorgar poder especial amplio y suficiente a la doctora CARMEN -----
ALICIA HERRERA DIAZGRANADOS CC.No.22.377.540 y al doctor WALTER -----
TANAKA TATEKAWA, CC.No.16.251.923, para que en nombre y -----
representacion de PROCAPS S.A.; endosen los titulos valores de la -----
sociedad hasta por la suma de UN MIL MILLONES DE PESOS -----
(1.000.000.000.00) M.L. CUARTO: EI representante legal de la -----
sociedad PROCAPS S.A.; doctor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, manifiesta -----
que la presente reforma fue aprobada por la Asamblea General -----
Extraordinaria de Accionista de PROCAPS S.A., con observancia de -----
las disposiciones legales y estatutarias.-----

C E R T I F I C A

Que por Escritura Pública No. 1,933 del 16 de Sep/bre de 2008, -----
otorgada en la Notaria 2 a. de Barranquilla cuya parte pertinente -----
se inscribió en esta Cámara de Comercio, el 06 de Octubre de 2008 -----
bajo el No. 3,748 del libro respectivo,-----
Consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, C.C. No. 7.463.982, que -----
comparece en su condicion de Presidente y Representante Legal de la -----
Sociedad PROCAPS S.A., confiere por medio de este instrumento -----
publico Poder especial Amplio y Suficiente a la doctora MILENA -----
ESCAFFI PARDO, C.C. No. 32.758.420, para que en nombre y -----
representacion de PROCAPS S.A., suscriba declaraciones cambiarias, -----
aduaneras y tributarias a que este obligada la sociedad en el giro -----
normal de sus negocios y operaciones sociales, por tanto queda -----
facultada para firmar, como tambien los demas documentos -----

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

relacionados con ellas, notificarse, aportar y solicitar las pruebas que sean necesarias.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 09 de Abril de 2010, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 20 de Abril de 2010 bajo el Nro 4,201 del libro respectivo, Consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, C.C. No. 7.463.982, quien obra en el caracter de Presidente y/o Representante legal de la sociedad PROCAPS S.A., que por medio de este instrumento publico, otorga Poder Especial Amplio y Suficiente a la Doctora MONICA DE HART DE OCHOA, identificada con C.C. No. 32.676.025, para que en nombre y representacion de la sociedad, Endose las Facturas Nacionales e Internacionales hasta por la suma de UN MIL MILLONES DE PESOS (\$1.000.000.000.00)M.L. La doctora Monica de Hart de Ochoa, queda facultada para realizar todo acto o tramite necesario para el cabal cumplimiento del presente mandato.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 10 de Junio de 2010, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 13 de Julio de 2010 bajo el Nro 4,228 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, cc. No. 7.463.982 en su condicion de Presidente y representante legal de PROCAPS S.A., confiere poder especial, amplio y suficiente al señor RICARDO DORADO HURTADO cc. No. 79.715.772 para que represente a la sociedad, ante el INVIMA, Fondo Nacional de Estupefacientes, LEICA, con el fin que gestione, tramite o presente las diferentes solicitudes y peticiones de la empresa, segun la competencia de estas entidades. Por lo anterior, el Señor RICARDO DORADO HURTADO, queda facultado para presentar, gestionar, tramitar y firmar las diferentes solicitudes y peticiones de la empresa, segun la competencia de estas entidades, como tambien presentar y firmar todo los documentos relacionados con estas solicitudes, notificarse de cualquier acto administrativo que expidan, aportar y solicitar las pruebas que sean necesarias, desistir, y en general a realizar todo tramite o acto necesario de tal forma que la sociedad en ningun momento quede sin representacion legal ante estas entidades, en cumplimiento fiel al mandato otorgado.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 03 de Agosto de 2010, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 24 de Agosto de 2010 bajo el Nro 4,258 del libro respectivo, consta que RUBEN MINSKI GONTOVNIK, varón, mayor de edad, de ésta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía No.7.463.982, expedida en Barranquilla, en mi condición de Representante legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S. A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, todo lo cual demuestro con el certificado de existencia y representación legal

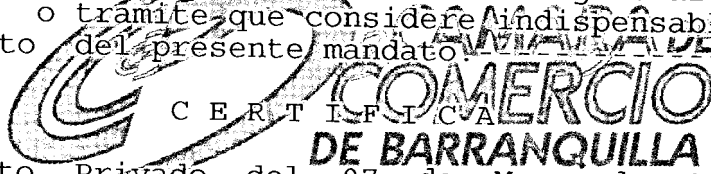
***** C O N T I N U A *****



CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----
NIT: 890.106527-5.

expedido por la Cámara de Comercio de Barranquilla, que adjunto a este escrito, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente al señor MARIO LÓPEZ LEON, varón, mayor de edad, de esta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía No.72.311.558, expedida en Puerto Colombia (Atlántico), para que en nombre y representación de la sociedad, realice los siguientes actos: 1. Endosar las Facturas Nacionales e Internacionales de esas compañías hasta por la suma de UN MIL MILLONES DE PESOS (\$1.000.000.000.00) Moneda Legal. 2. Suscribir Declaraciones Cambiarias, Aduaneras y Tributarias a las que esta obligada la sociedad en el giro ordinario de sus negocios, quedando facultado para notificarse, aportar y solicitar pruebas relacionados con las declaraciones Cambiarias. El señor MARIO LÓPEZ LEON, queda facultado para notificarse, aportar y solicitar pruebas, presentar escritos en caso que resulte necesario en general a realizar todo acto, diligencia o trámite que considere indispensable para el cabal cumplimiento del presente mandato.



Que por Documento Privado del 07 de Mayo de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 01 de Junio de 2012 bajo el Nro 4,813 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, identificado con C.C.7.463.982 de Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a MONICA DE HART DE OCHOA, identificada con C.C.32.676.025, para que en nombre y representación de la sociedad, realice operaciones de carácter Financiero con la firma conjunta de un(1)miembro del Grupo A y un(1)miembro del Grupo B o dos(2)miembros del Grupo A, sin perjuicios de las facultades otorgadas anteriormente a algunos de los funcionarios e inscritas en la Cámara de Comercio de esta ciudad, como determino:

GRUPO A -----
1. Monica De Hart De Ochoa -----
C.c. No. 32.676.025 -----

2. Javier Otero Arteaga -----
C.C. No. 91.263.993 -----
3. Gethel Moreno Romero -----
C.C. No.32.689.958 -----

GRUPO B -----
Marcela carvajalino Pagano -----
C.C. 22.579.748 -----

***** CONTINUA *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

Walter Tanaka Tatekawa

C.C. 16.251.923

Alain Cortesi Brunner

Cedula Extranjeria 215404

a) Transferencias Bancarias entre cuentas de titularidad de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 5000.000.00. b) Venta de cartera de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 500.000.00. c) Suscripción de Contratos de Leasing, hasta por la suma de \$500.000.000.00.m.l.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 07 de Mayo de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 01 de Junio de 2012 bajo el Nro 4,814 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, identificado con C.C.7.463.982 de Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a JAVIER OTERO ARTEAGA, identificado con C.C.91.263.993, para que en nombre y representación de la sociedad, realice operaciones de carácter Financiero con la firma conjunta de un(1)miembro del Grupo A y un(1)miembro del Grupo B o dos(2)miembros del Grupo A, sin perjuicios de las facultades otorgadas anteriormente a algunos de los funcionarios e inscritas en la Cámara de Comercio de esta ciudad, como determino:

GRUPO A

1. Monica De Hart De Ochoa

C.c. No. 32.676.025

2. Javier Otero Arteaga

C.C. No. 91.263.993

3. Gethel Moreno Romero

C.C. No.32.689.958

GRUPO B

Marcela carvajalino Pagano

C.C. 22.579.748

Walter Tanaka Tatekawa

C.C. 16.251.923

Alain Cortesi Brunner

Cedula Extranjeria 215404

a) Transferencias Bancarias entre cuentas de titularidad de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 5000.000.00. b) Venta de cartera de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 500.000.00. c) Suscripción de Contratos de Leasing, hasta por la suma de \$500.000.000.00.m.l.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 07 de Mayo de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 01 de Junio de 2012 bajo el Nro 4,815 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, identificado con C.C.7.463.982 de Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las

***** C O N T I N U A *****

03-12028148 024802 PROCAPS S.A.

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012

Hr:11:09:36



***** Pag. 7
 CAMARA DE COMERCIO
 DE BARRANQUILLA
 03*****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----

NIT: 890.106.527-5.-----

facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, me permito -----
 manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a
 GETHEL MORENO ROMERO, identificada con C.C.32.689.958, para que ----
 en nombre y representación de la sociedad, realice operaciones de
 carácter Financiero con la firma conjunta de un(1)miembro del Grupo
 A y un(1)miembro del Grupo B o dos(2)miembros del Grupo A, sin ----
 perjuicios de las facultades otorgadas anteriormente a algunos de
 los funcionarios e inscritas en la Cámara de Comercio de esta ----
 ciudad, como determino:-----

GRUPO A -----

1. Monica De Hart De Ochoa -----

C.C. No. 32.676.025 -----

2. Javier Otero Arteaga -----

C.C. No. 91.263.993 -----

3. Gethel Moreno Romero -----

C.C. No.32.689.958 -----

GRUPO B -----

Marcela carvajalino Pagano -----

C.C. 22.579.748 -----

Walter Tanaka Tatekawa -----

C.C. 16.251.923 -----

Alain Cortesi Brunner -----

Cedula Extranjeria 215404 -----

a) Transferencias Bancarias entre cuentas de titularidad de PROCAPS
 S.A., hasta por la suma de USD 5000.000.00. b) Venta de cartera de
 PROCAPS S.A. hasta por la suma de USD 500.000.00. c) Suscripción de
 Contratos de Leasing, hasta por la suma de \$500.000.000.00.m.l.-----

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 07 de Mayo de 2012, otorgado en
 Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 01 de Junio de
 2012 bajo el Nro 4,816 del libro respectivo,-----
 consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, identificado con -----
 C.C.7.463.982 de Barranquilla, en mi condición de Representante ---
 Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las
 facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, me permito -----
 manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a
 MARCELA CARVAJALINO PAGANO, identificada con C.C.22.579.748, para
 que en nombre y representación de la sociedad, realice operaciones
 de carácter Financiero con la firma conjunta de un(1)miembro del
 Grupo A y un(1)miembro del Grupo B o dos(2)miembros del Grupo A, sin
 perjuicios de las facultades otorgadas anteriormente a algunos de
 los funcionarios e inscritas en la Cámara de Comercio de esta ----
 ciudad, como determino:-----

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

GRUPO A

1. Monica De Hart De Ochoa

C.c. No. 32.676.025

2. Javier Otero Arteaga

C.C. No. 91.263.993

3. Gethel Moreno Romero

C.C. No.32.689.958

GRUPO B

Marcela carvajalino Pagano

C.C. 22.579.748

Walter Tanaka Tatekawa

C.C. 16.251.923

Alain Cortesi Brunner

Cedula Extranjeria 215404

a) Transferencias Bancarias entre cuentas de titularidad de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 5000.000.00. b) Venta de cartera de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 500.000.00. c) Suscripción de Contratos de Leasing, hasta por la suma de \$500.000.000.00.m.l.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 07 de Mayo de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 01 de Junio de 2012 bajo el Nro 4,817 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, identificado con C.C.7.463.982 de Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a WALTER TANAKA TATEKAWA, identificado con C.C.16.251.923, para que en nombre y representación de la sociedad, realice operaciones de carácter Financiero con la firma conjunta de un(1)miembro del Grupo A y un(1)miembro del Grupo B o dos(2)miembros del Grupo A, sin perjuicios de las facultades otorgadas anteriormente a algunos de los funcionarios e inscritas en la Cámara de Comercio de esta ciudad, como determino:

GRUPO A

1. Monica De Hart De Ochoa

C.c. No. 32.676.025

2. Javier Otero Arteaga

C.C. No. 91.263.993

3. Gethel Moreno Romero

C.C. No.32.689.958

GRUPO B

Marcela carvajalino Pagano

C.C. 22.579.748

Walter Tanaka Tatekawa

C.C. 16.251.923

Alain Cortesi Brunner

Cedula Extranjeria 215404

a) Transferencias Bancarias entre cuentas de titularidad de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 5000.000.00. b) Venta de cartera de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 500.000.00. c) Suscripción de

***** C O N T I N U A *****

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012 Hr:11:09:36



***** Pag. 8
 CAMARA DE COMERCIO
 DE BARRANQUILLA
 03*****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----

NIT: 890.106527-5.-----

Contratos de Leasing, hasta por la suma de \$500.000.000.00.m.1.-----

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 07 de Mayo de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 01 de Junio de 2012 bajo el Nro 4,818 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, identificado con C.C.7.463.982 de Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a ALAIN CORTESI BRUNNER, identificado con C.C.215404, para que en nombre y representación de la sociedad, realice operaciones de carácter Financiero con la firma conjunta de un(1)miembro del Grupo A y un(1)miembro del Grupo B o dos(2)miembros del Grupo A, sin perjuicio de las facultades otorgadas anteriormente a algunos de los funcionarios e inscritas en la Cámara de Comercio de esta ciudad, como determino:-----

GRUPO A

1. Monica De Hart De Ochoa-----

C.c. No. 32.676.025-----

2. Javier Otero Arteaga-----

C.C. No. 91.263.993-----

3. Gethel Moreno Romero-----

C.C. No.32.689.958-----

GRUPO B

Marcela carvajalino Pagano-----

C.C. 22.579.748-----

Walter Tanaka Tatekawa-----

C.C. 165251.923-----

Alain Cortesi Brunner-----

Cedula Extranjeria 215404-----

a) Transferencias Bancarias entre cuentas de titularidad de PROCAPS S.A., hasta por la suma de USD 5000.000.00. b) Venta de cartera de PROCAPS S.A. hasta por la suma de USD 500.000.00. c) Suscripción de Contratos de Leasing, hasta por la suma de \$500.000.000.00.m.1.-----

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 01 de Agosto de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 17 de Agosto de 2012 bajo el Nro 4,909 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, varón, mayor de edad, de esta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía-----

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

No.7.463.982, expedida en Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, todo lo cual consta en el Certificado de Existencia y Representación Legal de la Cámara de Comercio de Barranquilla, que reposa en sus archivos e inscrito en su debida oportunidad, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a las, personas que se relacionan a continuación funcionarios de la empresa, para que en nombre y representación de la sociedad, suscriban en forma Conjunta, Contratos de Suministro de Mercancías y Servicios con Entidades Oficiales; hasta por la suma de OCHOCIENTOS MIL DOLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA (USD800.000.00). La conformación de estos dos nuevos Grupos A y B, reemplazaran a los funcionanos integrantes de los Grupds A y B, que actualmente ss encuentran inscritos en la Cámara de Comereio de Barranquilla, con las mismas facultades anteriormente determinada, como relaciono seguidamente: Del grupo A: 1. RODRIGO PIERNAGORDA SÁENZ C.C. No. 80.268.687, expedida en Bogotá.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 01 de Agosto de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 17 de Agosto de 2012 bajo el Nro 4,910 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, varón, mayor de edad, de ésta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía No.7.463.982, expedida en Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, todo lo cual consta en el Certificado de Existencia y Representación Legal de la Cámara de Comercio de Barranquilla, que reposa en sus archivos e inscrito en su debida oportunidad, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a las, personas que se relacionan a continuación funcionarios de la empresa, para que en nombre y representación de la sociedad, suscriban en forma Conjunta, Contratos de Suministro de Mercancías y Servicios con Entidades Oficiales; hasta por la suma de OCHOCIENTOS MIL DOLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA (USD800.000.00). La conformación de estos dos nuevos Grupos A y B, reemplazaran a los funcionanos integrantes de los Grupds A y B, que actualmente ss encuentran inscritos en la Cámara de Comereio de Barranquilla, con las mismas facultades anteriormente determinada, como relaciono seguidamente: Del grupo A: 2. RICARDO DORADO HURTADO C.C. No.79.715.772, expedida en Bogotá.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 01 de Agosto de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 17 de Agosto de 2012 bajo el Nro 4,911 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, varón, mayor de edad, de ésta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía

***** C O N T I N U A *****

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012 Hr:11:09:36

***** Pag. 9
C A M A R A D E C O M E R C I O
D E B A R R A N Q U I L L A
03*****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----

NIT: 890.1063527-5.-----

No.7.463.982, expedida en Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, todo lo cual consta en el Certificado de Existencia y Representación Legal de la Cámara de Comercio de Barranquilla, que reposa en sus archivos e inscrito en su debida oportunidad, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a las personas que se relacionan a continuación funcionarios de la empresa, para que en nombre y representación de la sociedad, suscriban en forma Conjunta, Contratos de Suministro de Mercancías y Servicios con Entidades Oficiales; hasta por la suma de OCHOCIENTOS MIL DOLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA (USD800.000.00). La conformación de estos dos nuevos Grupos A y B, reemplazarán a los funcionarios integrantes de los Grupos A y B, que actualmente se encuentran inscritos en la Cámara de Comercio de Barranquilla, con las mismas facultades anteriormente determinada, como relaciono seguidamente. Del grupo A: 3. DAVID LECLERCO LARRARTE C.C. No. 79.154.988 expedida en Bogotá.-----

C E R T I F I C A
D E B A R R A N Q U I L L A

Que por Documento Privado del 01 de Agosto de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 17 de Agosto de 2012 bajo el Nro 4,912 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, varón, mayor de edad, de ésta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía No.7.463.982, expedida en Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, todo lo cual consta en el Certificado de Existencia y Representación Legal de la Cámara de Comercio de Barranquilla, que reposa en sus archivos e inscrito en su debida oportunidad, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a las personas que se relacionan a continuación funcionarios de la empresa, para que en nombre y representación de la sociedad, suscriban en forma Conjunta, Contratos de Suministro de Mercancías y Servicios con Entidades Oficiales; hasta por la suma de OCHOCIENTOS MIL DOLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA (USD800.000.00). La conformación de estos dos nuevos Grupos A y B, reemplazarán a los funcionarios integrantes de los Grupos A y B, que actualmente se encuentran inscritos en la Cámara de Comercio de Barranquilla, con las mismas facultades anteriormente determinada, como relaciono seguidamente. Del grupo B: 1. SANDRA BIBIANA MALLUNGO BENITEZ C.C. No. 51.853.314, expedida

***** C O N T I N U A *****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.

NIT: 890.106.527-5.

en Bogotá.

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 01 de Agosto de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 17 de Agosto de 2012 bajo el Nro 4,913 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, varón, mayor de edad, de ésta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía No.7.463.982, expedida en Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, todo lo cual consta en el Certificado de Existencia y Representación Legal de la Cámara de Comercio de Barranquilla, que reposa en sus archivos e inscrito en su debida oportunidad, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a las personas que se relacionan a continuación funcionarios de la empresa, para que en nombre y representación de la sociedad, suscriban en forma Conjunta, Contratos de Suministro de Mercancías y Servicios con Entidades Oficiales; hasta por la suma de OCHOCIENTOS MIL DOLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA (USD800.000.00). La conformación de estos dos nuevos Grupos A y B, reemplazarán a los funcionanos integrantes de los Grups A y B, que actualmente ss encuentran inscritos en la Cámara de Comereio de Barranquilla, con las mismas facultades anteriormente determinada, como relaciono seguidamente: Del grupo B: 2. EDGAR BELTRAN ESTUPIÑAN C.C. No. 79.521.456, expedida en Bogotá.

DE BARRANQUILLA

C E R T I F I C A

Que por Documento Privado del 01 de Agosto de 2012, otorgado en Barranquilla inscrito en esta Cámara de Comercio, el 17 de Agosto de 2012 bajo el Nro 4,913 del libro respectivo, consta que el señor RUBEN MINSKI GONTOVNIK, varón, mayor de edad, de ésta vecindad, identificado con la cédula de ciudadanía No.7.463.982, expedida en Barranquilla, en mi condición de Representante Legal y/o Presidente de la sociedad PROCAPS S.A., conforme a las facultades otorgadas por los Estatutos Sociales, todo lo cual consta en el Certificado de Existencia y Representación Legal de la Cámara de Comercio de Barranquilla, que reposa en sus archivos e inscrito en su debida oportunidad, me permito manifestarles que confiero poder especial, amplio y suficiente a las personas que se relacionan a continuación funcionarios de la empresa, para que en nombre y representación de la sociedad, suscriban en forma Conjunta, Contratos de Suministro de Mercancías y Servicios con Entidades Oficiales; hasta por la suma de OCHOCIENTOS MIL DOLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA (USD800.000.00). La conformación de estos dos nuevos Grupos A y B, reemplazarán a los funcionanos integrantes de los Grups A y B, que actualmente ss encuentran inscritos en la Cámara de Comereio de Barranquilla, con las mismas facultades anteriormente determinada, como relaciono seguidamente: Del grupo

***** C O N T I N U A *****

Barranquilla, 01 de Octubre de 2012 Hr:11:09:36



***** Pag. 10
CAMARA DE COMERCIO
DE BARRANQUILLA
03*****

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O DE INSCRIPCION DE DOCUMENTOS.

PROCAPS S.A.-----
NIT: 890.106.527-5.

B: 3. LILIANA BENAVIDES BUITRAGO C.C. No. 52.250.516, expedida en Bogotá.-----

C E R T I F I C A

Que en esta Cámara de Comercio no aparecen inscripciones posteriores de documentos referentes a reforma, disolución, liquidación o nombramientos de representantes legales de la expresada sociedad.

C E R T I F I C A

Que su última Renovación fue el: 22 de Marzo de 2012.

La información sobre embargos de establecimiento se suministra en Certificados de Matrícula, la de contratos sujetos a registro, en Certificados Especiales.



De conformidad con lo establecido en el Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso y de la Ley 962 de 2005, los Actos Administrativos de Registro aquí certificados quedan en firme Diez (10) días hábiles después de la fecha de inscripción, siempre que no sean objeto de recursos.

m. l. p. a. s.