

CAVELIER

ABOGADOS

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

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-132768-00011-0000

Fecha: 2014-10-22 16:40:39 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE(YII) Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 17

Trámite : 011
Evento : 378
Actuación : 523

JK

Referencia : Expediente No. 12.132.768
Asunto : Solicitud de patente: "FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS ANTI-RECEPTOR DE INTERLEUQUINA-6 (IL-6R)"
Solicitante : REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
Fecha de solicitud : 8 de Agosto de 2012

1. Yo, Luz Clemencia DE PÁEZ, en mi condición de apoderada de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, me refiero al oficio No. 9131 notificado por fijación en lista el 29 de Julio de 2014.

2. Mediante oficio No. 9131 se puso en conocimiento del solicitante el informe que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente. Las observaciones realizadas en el oficio se refieren a la claridad del pliego reivindicatorio y al nivel inventivo de las reivindicaciones 1 a 26 en vista de los documentos D1: US20040197324 y D2: 7582298.

3. Respuesta a las objeciones

De este modo y con el objeto de atender las objeciones arriba mencionadas, se desea presentar las siguientes modificaciones, aclaraciones y argumentos:

"EXCELENCIA LEGAL EN UN MUNDO SIN FRONTERAS"

BOGOTÁ - Edificio Sisk - Carrera 4 No. 72 - 35 - Tel: (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650 - Fax in U.S.A: (1-305) 676 7743 - COLOMBIA
MEDELLÍN - San Fernando Plaza - Carrera 43 A No. 1 - 50 - Torre Protección Oficina 852 - Tel: (57-4) 520 4760 / (57-4) 326 0789 / (57) 317 365 8663 / (57) 318 532 2365 - COLOMBIA

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

3.1 Modificación de una solicitud en trámite

De acuerdo con el artículo 34 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, donde se establece que la modificación de una solicitud es posible en cualquier momento del trámite mientras no implique una ampliación de la solicitud inicial, me permito presentar un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 6 reivindicaciones.

Se han introducido las siguientes modificaciones al capítulo reivindicatorio:

- Se adicionaron las reivindicaciones 4 y 6, mientras que las reivindicaciones originales 1, 7, 23 y 24 fueron modificadas y enumeradas nuevamente. La materia reclamada en el nuevo pliego reivindicatorio tiene completo soporte en el capítulo descriptivo.
- Se eliminaron las reivindicaciones originales 2 a 6, 8 a 22, 25 y 26. Lo anterior no puede ser considerado como un desistimiento de la materia allí revelada y mi representada se reserva el derecho de volver sobre la misma durante el trámite de la presente solicitud de patente.

Por lo anterior, las objeciones formuladas por el Examinador en cuanto a la claridad y concisión del pliego reivindicatorio se ven superadas. En consecuencia, se solicita atentamente tener en cuenta este nuevo pliego reivindicatorio para el nuevo análisis de patentabilidad.

3.2 Argumentos con respecto a la falta de Unidad de Invención

El artículo 25 de la Decisión 486, hace referencia a:

“Artículo 25.-La solicitud de patente sólo podrá comprender una invención o un grupo de invenciones relacionadas entre sí, de manera que conformen un único concepto inventivo”.

Siguiendo la sugerencia realizada por el señor Examinador, el nuevo pliego reivindicatorio sólo se refiere al grupo inventivo número 1. Las reivindicaciones que se referían al tipo de contenedor han sido eliminadas del pliego. De tal manera que, la objeción formula a este respecto se debe tener por superada.

3.3 Argumentos con respecto a la falta de Nivel Inventivo

El artículo 18 de la Decisión 486 señala lo siguiente:

***“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”.*

Una invención se considerará inventiva si la misma no hubiese resultado obvia a partir del arte previo para una persona del oficio normalmente versada en la materia. Esto a su vez implica que el Examinador a cargo de esta evaluación debe colocarse en el momento exacto en el que el inventor buscaba resolver el problema técnico contemplado en la solicitud y para el cual poseía la literatura y el conocimiento disponibles en dicho momento.

Siguiendo entonces los lineamientos de la Jurisprudencia aplicable al análisis del nivel inventivo de una solicitud de patente, se considera que una anterioridad o una combinación de dos anterioridades puede afectar dicho requerimiento de patentabilidad, si una persona medianamente versada en la materia encuentra enseñanzas o sugerencias claras que, a partir de un conocimiento medio en dicho campo, le permitan llegar de manera obvia a la invención reivindicada. Adicionalmente se considera que una mejora sustancial, un efecto inesperado o una ventaja con respecto al arte previo es un indicio de nivel inventivo, por cuanto aporta un salto tecnológico en la regla técnica.

A este respecto, respetuosamente solicitamos atentamente la reconsideración de las razones por las cuales se objeta el nivel inventivo, con base en la siguiente información:

El señor Examinador concluye que con las enseñanzas de D1 y D2, una persona versada en la materia y que estuviese interesada en formular un anticuerpo anti-IL-6R, habría sido esperado que seleccionara el anticuerpo de D2 para incorporarlo en la formulación estable sugerida por el documento D1, y que por lo tanto se consideraría obvia y sin nivel inventivo. Respetuosamente manifestamos nuestro desacuerdo con lo anterior, teniendo en cuenta que la formulación reclamada produce efectos inesperados, como por ejemplo, la estabilización del anticuerpo anti-IL-6R reclamado, que no hubiese podido ser predicho por una persona versada en la materia.

Ahora bien, la presente invención está dirigida a una formulación estable que comprende de 25 a 200 mg/ml de un anticuerpo anti-IL-6R humano que comprende una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:18 y una región variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:26; histidina en una concentración desde 25 mM hasta 100 mM; arginina en una concentración desde 25 mM hasta 50 mM; sacarosa en una cantidad desde 3% hasta 10% p/v; y polisorbato en una cantidad desde 0.1% hasta 0.2% p/v.

El documento D1 menciona el liofilizado de alta concentración y formulaciones líquidas para anticuerpos y proteínas. Al hacerlo, D1 ofrece varias opciones como combinar componentes para su uso en dichas formulaciones. Por ejemplo, D1 presenta la lista compuesta de citrato, fosfato, succinato, tartrato, fumarato, gluconato, oxalato, lactato, acetato, histidina, tris y otros ácidos orgánicos e inorgánicos y sales como buffers para la formulación líquida. D1 proporciona además listas de agentes de tonicidad, excipientes adicionales y agentes tensioactivos no iónicos o detergentes demasiado numerosos para reproducir. Además, D1 menciona otros posibles ingredientes tales como agentes de carga, antioxidantes y agentes quelantes, así como numerosas sales de metal polivalentes solubles en agua.

Aunque al parecer es útil para cualquier anticuerpo, incluyendo anticuerpos de cualquier a de la multitud de antígenos identificados en el párrafo 14, D1 ejemplifica la formulación de sólo un anticuerpo anti-IgE. Entre las formulaciones evaluadas por el anticuerpo anti-IgE, ninguna incluye la combinación de compuestos como se reclama en la presente solicitud. En el caso de D2, éste menciona un anticuerpo IL-6R, pero no proporciona información específica con respecto a una formulación estable de dicho anticuerpo.

El arte previo es claro en afirmar que las formulaciones de anticuerpos son impredecibles, y que nadie podría confiar en las descripciones del arte previo de formular otro o anticuerpos desconocidos para proporcionar una guía útil en la preparación de una formulación caracterizada por la estabilidad del anticuerpo anti-IL-6R con regiones variables definidas específicamente, como se reivindica. De hecho, el arte previo reconoce que cada anticuerpo tiene unos requisitos de estabilidad únicos derivados de las diferencias en la secuencia amino ácida que estipula la especificidad antigénica (Daugherty et al., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2006) y que un excipiente de formulación que estabilice un anticuerpo específico, puede no ser adecuado para otro, debido a las diferencias en sus secuencias (Wang et al., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2007).

Además, el arte previo deja en evidencia que la aplicabilidad general de las formulaciones de D1 es inconsistente, teniendo en cuenta que se parte de la premisa de que un excipiente de formulación que estabilice un anticuerpo no necesariamente va a estabilizar otro, por lo tanto no hay razón alguna para que una persona versada en la materia escogiera a D1 como punto de partida para identificar excipientes adecuados ni para que predijera que los excipientes que estabilizaban un anticuerpo diferente en D1 podrían ser utilizados para estabilizar el antígeno anti-IL-6R, como se reclama en la presente solicitud.

Es claro que los documentos citados no proporcionan ninguna enseñanza que indique a la persona versada en la materia que los componentes particulares de la formulación, en vez de otros componentes de formulación, estabilizarían el anticuerpo

anti-IL-6R. Así que teniendo en cuenta que de acuerdo con el arte previo cada anticuerpo tiene unos requerimientos de estabilidad únicos, no habría ninguna razón para que la persona versada en la materia hubiese escogido D1 o los componentes de la formulación reclamada, para la guía en la preparación de una formulación del anticuerpo anti-IL-6R. A parte del arte previo, es posible corroborar toda esta información en el anexo de la declaración de uno de los inventores, donde queda claro por medio de experimentos la lógica detrás de la selección de un componente específico en una formulación de un anticuerpo anti-IL-6R con regiones variables como se reclama en la presente solicitud.

Con respecto a la afirmación del Examinador, en cuanto a la obviedad de la presente invención en vista de lo divulgado por los documentos D1 y D2, manifestamos nuevamente nuestro desacuerdo y concluimos que el análisis realizado en la acción oficial No. 9131, se basó en un análisis retrospectivo o también conocido como "hindsight", el cual lo define la "GUÍA PARA EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTE DE INVENCION Y MODELO DE UTILIDAD" de su Despacho, de la siguiente forma:

Análisis ex post facto o retrospectivo o hindsight

Es importante tener en cuenta que una invención reivindicada que, a primera vista, parece evidente, puede ser inventiva. Una vez formulada una nueva idea, a menudo se puede demostrar teóricamente el modo en el que se podría llegar a ella, a partir de algo conocido, a través de una serie de etapas aparentemente fáciles. El examinador de patentes debe evitar el uso de un análisis ex post facto de este tipo.

Es decir, el estado de la técnica se debe examinar sin el beneficio del conocimiento ofrecido retrospectivamente por la invención reivindicada. La indicación o la sugerencia que permita llegar a la invención reivindicada deben proceder del estado de la técnica o de los conocimientos generales de la persona del oficio normalmente versada en la materia, y no basarse en la divulgación del solicitante.

La presente solicitud sí tiene nivel inventivo

En Anexos se encuentra la declaración de uno de los inventores, donde se presentan experimentos adicionales y los efectos desestabilizadores de algunos excipientes de formulación. Los datos soportan el argumento de que algunos excipientes que han sido encontrados en el arte citado con estabilizadores y otros son desestabilizadores, y que sólo con el beneficio del análisis retrospectivo una persona podría haber llegado a la formulación reclamada.

Así que no habría sido obvio para una persona versada en la materia cuáles de los componentes de formulación mencionados en D1 habría sido útil para la formulación del anticuerpo anti-IL-6R. Por lo tanto, es evidente que la selección de D1 como el estado de la técnica más cercana es el resultado de un análisis retrospectivo con conocimiento de la materia de la presente invención.

Por consiguiente, la presente solicitud posee la altura inventiva necesaria para que se le conceda el privilegio solicitado.

3.4 Conclusión

Por todo lo anterior, el documento D1, el documento D2, o su combinación, no resultan anterioridades válidas capaces de afectar el nivel inventivo de la invención de la presente solicitud.

Por lo tanto, consideramos que el Examinador está pasando por alto que una sola diferencia con respecto al estado de la técnica, permite concluir que el objeto reivindicado es nuevo. Además, está excluyendo el hecho de que el inventor en el momento de solucionar el problema técnico de la solicitud tuvo que emplear habilidad inventiva, pues la presente invención no resulta de la mera extrapolación de las enseñanzas del arte previo, como se afirma. Se está desconociendo el mérito investigativo empleado y que está aportando una ventaja al arte previo.

4. Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por el Examinador, se solicita atentamente proceder al otorgamiento de la solicitud de patente. En este sentido, respetuosamente recordamos al Examinador que la patente no podrá ser negada con base en objeciones diferentes a las expuestas en la acción oficial No. 9131, toda vez que al no haber sido trasladadas a mi representada, dicha decisión violaría tanto el tenor literal del artículo 45 de la Decisión 486 como el derecho constitucional al debido proceso. En este evento, y con base en el inciso 2 del artículo 45, respetuosamente solicitamos al Examinador expedir una nueva acción oficial que permita a mi representada contra argumentar las mismas o modificar la solicitud con el fin de cumplir los requisitos de patentabilidad.

5. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 6 reivindicaciones.
- Declaración oficial del inventor Kenneth Graham.

Señor Director,


LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

C.C. 35.456.344 de Usaquén

T.P.A. No. 23.555

COLO-16813-0841-010-0
COLO-16813-0264-002-5
COLO-16813-0264-003-3
CPT\CPT\ID-273568\WPC16813
No. M-2014-273568\CPT

MGM

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

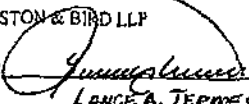
1. Una formulación farmacéutica que comprende: (i) 25 a 200 mg/ml de un anticuerpo humano que se une de modo específico al receptor de interleuquina-6 humana (hIL-6R), en la que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:18 y una región variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:26; (ii) histidina en una concentración desde 25 mM hasta 100 mM; (iii) arginina en una concentración desde 25 mM hasta 50 mM; (iv) sacarosa en una cantidad desde 3% hasta 10% p/v; y polisorbato en una cantidad desde 0.1% hasta 0.2% p/v.
2. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene un pH de 6.
3. Una formulación farmacéutica que comprende: (i) 5 a 200 mg/mL de un anticuerpo humano que se une de modo específico al receptor de interleuquina-6 humana (hIL-6R), en la que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:18 y una región variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:26; (ii) 25 mM de histidina; (iii) 5% p/v de sacarosa; 50 mM de arginina; y (iv) 0.2% p/v de polisorbato 20.
4. La formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la formulación tiene un pH de 6.
5. Una formulación farmacéutica que comprende: (i) 175 mg/mL de un anticuerpo humano que se une de modo específico al receptor de interleuquina-6 humana (hIL-6R), en la que dicho anticuerpo comprende una pareja de secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada y de cadena ligera (HCVR / LCVR) de SEQ ID NO:18/26; (ii) 25 mM de histidina; (iii) sacarosa al 5%; (iv) polisorbato 20 al 0,2%; y (v) 50 mM de arginina.
6. La formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la formulación tiene un pH de 6.

I hereby certify that this correspondence is being filed via
EFS-Web with the United States Patent and Trademark Office
on 3-14-2014.

10

PATENT
Attorney Docket No.: 057766-434715

ALSTON & BIRD LLP

By: 

LANCE A. TERMES

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of:

Daniel B. Dix et al.

Application No.: 12/986,223

Filed: January 7, 2011

For: STABILIZED FORMULATIONS
CONTAINING ANTI-INTERLEUKIN-6
RECEPTOR (IL-6R) ANTIBODIES

Customer No.: 114337

Confirmation No. 5907

Examiner: Yunsoo Kim

Art Unit: 1644

DECLARATION OF KENNETH
GRAHAM UNDER 37 CFR §1.132

Mail Stop Amendment
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Commissioner:

I, Kenneth Graham, state as follows:

(1) I am a co-inventor of the subject matter disclosed in the above-identified application. My current position is Director of Formulation Development at Regeneron Pharmaceuticals, Inc., the assignee of the application. One of my responsibilities is to research and develop formulations for antibody therapeutics. I have a Ph.D. in Bio-Organic Chemistry from the California Institute of Technology and have worked in the biotechnology and pharmaceutical industries for more than 20 years. My curriculum vitae is attached.

(2) I or others acting under my supervision performed the following experiments in attempting to devise a long-term stable formulation for an anti-IL-6R antibody.

(3) An experiment was performed to evaluate the effect of pH on the stress stability of 10 mg/ml sarilumab (an anti-IL-6R antibody) in liquid formulations containing one of the following buffers, each at a concentration of 10 mM: acetate (pH 5.0 and 5.5), citrate (pH 5.0, 5.5 and 6.0), histidine (pH 7.0, 7.5 and 8.0), phosphate (pH 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, and 8.0), and

Tris (pH 7.5 and 8.0). Thermal stability was considered to be the most important criteria when selecting buffer and pH. The thermal stability of sarilumab was assessed by incubating the formulations at 45°C for 21 days (results are shown in Table 1). Maximum protein stability was observed, as determined by both SE-HPLC and CEX-HPLC, when sarilumab was formulated at pH 6.0. Significant loss of native protein was observed in formulations containing the highlighted buffers: Tris (pH 8.0, 7.5), phosphate (pH 8.0), histidine (pH 8.0, 7.5, 7.0), and acetate (pH 5.0). The % HMW species formed after incubation for 21 days at 45°C was 2.3% (93.0% native) for sarilumab formulated in pH 6.0 citrate and 2.6% (93.3% native) for sarilumab formulated in pH 6.0 phosphate. No significant difference in the stability of sarilumab was observed when the protein was formulated with either phosphate or citrate at pH 6.0. Subsequent studies revealed that a 50 mg/mL sarilumab formulation in histidine at pH 6.0 provided additional stability relative to the phosphate-buffering system.

Table 1: Effect of Buffer and pH on the Stability of 10 mg/mL sarilumab
Incubated at 45°C for 21 Days
(10 mM Buffer, 0.2% polysorbate 20, 150 mM NaCl, and 10 mg/mL sarilumab)

pH/Buffer	Color and Appearance	Turbidity (Increase in OD at 405 nm)	% sarilumab Recovered by SE-HPLC	Purity by SE-HPLC			Charged Variants by CEX-HPLC		
				% HMW	% Native	% LMW	% Acidic	% Main	% Basic
Starting Material	Pass	0.00	100	1.2	96.9	1.9	29.0	52.7	18.2
pH 8.0, Tris	Pass	0.00	103	5.7	77.6	16.7	NP	NP	NP
pH 7.5, Tris	Pass	0.00	102	4.2	83.8	12.0	NP	NP	NP
pH 8.0, Phosphate	Pass	0.01	102	4.9	89.6	5.5	84.4	7.8	7.8
pH 7.5, Phosphate	Pass	0.00	102	4.2	91.3	4.5	77.3	13.4	8.7
pH 7.0, Phosphate	Pass	0.00	100	3.3	93.0	3.8	68.5	18.6	12.9
pH 6.5, Phosphate	Pass	0.00	103	3.2	92.8	4.1	58.2	24.8	15.7
pH 6.0, Phosphate	Pass	0.00	101	2.6	93.3	4.0	NP	NP	NP
pH 8.0, Histidine	Pass	0.05	103	17.2	75.4	7.5	88.0	6.1	5.8
pH 7.5, Histidine	Pass	0.05	104	18.4	75.4	6.3	85.0	6.1	8.9
pH 7.0, Histidine	Pass	0.05	103	19.7	74.9	5.4	81.8	7.6	10.5
pH 6.0, Citrate	Pass	0.00	101	2.3	93.0	4.7	52.9	29.6	17.1

pH 5.5, Citrate	Pass	0.00	101	2.5	92.5	5.0	52.8	24.8	22.4
pH 5.0, Citrate*	Pass	0.01	102	3.8	90.3	5.9	48.0	21.8	30.2
pH 5.5, Acetate	Pass	0.00	102	3.5	90.9	5.6	53.5	24.5	22.0
pH 5.0, Acetate	Pass	0.01	105	5.7	88.7	5.6	49.7	21.2	29.1

SE-HPLC and CEX-HPLC 'Starting Material' results are the average values of the starting material for all 12 formulations
NP = Not performed

(4) Additional experiments were performed to evaluate the effect of pH on the agitation stress stability of sarilumab in liquid formulations containing various buffers, as shown in Table 2. The formulations containing the highlighted buffers: Tris (pH 8.0), phosphate (pH 6.5), histidine (pH 7.5), histidine (pH 7.0), citrate (pH 5.5), acetate (pH 5.5), and acetate (pH 5.0), all exhibited significant loss of protein recovery.

Table 2: Effect of Buffer and pH on the Stability of 10 mg/mL sarilumab
When Vortexed for 120 Minutes
(10 mM Buffer, 0.2% polysorbate 20, 150 mM NaCl and 10 mg/mL sarilumab)

pH/Buffer	Color and Appearance	Turbidity (Increase in OD at 405 nm)	% sarilumab Recovered by SE-HPLC	Purity by SE-HPLC			Charged Variants by CEX-HPLC		
				% HMW	% Native	% LMW	% Acidic	% Main	% Basic
Starting Material	Pass	0.00	100	1.2	96.9	1.9	Not performed		
pH 8.0, Tris	Pass	0.00	88	1.7	96.5	1.8			
pH 7.5, Tris	Pass	0.00	97	1.6	96.6	1.8			
pH 8.0, Phosphate	Pass	0.01	97	1.7	95.8	2.4			
pH 7.5, Phosphate	Pass	0.00	95	1.5	96.4	2.0			
pH 7.0, Phosphate	Pass	0.00	100	1.5	96.6	2.0			
pH 6.5, Phosphate	Pass	0.00	83	1.3	96.5	2.2			
pH 6.0, Phosphate	Pass	0.00	101	1.2	96.7	2.0			
pH 8.0, Histidine	Pass	0.00	98	1.2	96.3	2.4			
pH 7.5, Histidine	Pass	0.00	74	1.1	96.7	2.1			
pH 7.0, Histidine	Pass	0.00	89	1.1	96.6	2.3			
pH 6.0, Citrate	Pass	0.00	97	1.2	96.5	2.3			

pH 5.5, Citrate	Pass	0.00	75	1.1	96.6	2.3			
pH 5.0, Citrate	Pass	0.00	92	1.1	96.5	2.4			
pH 5.5, Acetate	Pass	0.00	83	1.4	96.7	1.8			
pH 5.0, Acetate	Pass	0.00	83	1.4	96.4	2.2			

SE-HPLC and CEX-HPLC 'Starting Material' results are the average values of the starting material for all 12 formulations

(5) An experiment was performed to evaluate the effects of various organic cosolvents on a formulation containing 10 mg/ml sarilumab in 20 mM phosphate buffer at pH 7.0. Both thermal stability and agitation stress were evaluated, and the results are shown in Table 3. The addition of organic cosolvents to the sarilumab formulation either prevented (polysorbate 20 and polysorbate 80) or accelerated (polyethylene glycol [PEG] 3350 and PEG 300) the loss of protein as measured by SE-HPLC (shown in Tables 3 and 4). Both PEG containing formulations (highlighted) resulted in less than 20% recovery of protein following agitation stress (Table 4), indicating a destabilizing effect on sarilumab. Polysorbate 20 and 80 also improved the stability of sarilumab to freeze/thaw stress compared to no cosolvent or the use of PEG300 or PEG3350 (not shown), whereas formulations containing PEG300 or PEG3350 resulted in significant losses of protein after multiple freeze/thaw cycles.

Table 3: Effect of Organic Cosolvents on the Stability of 10 mg/mL sarilumab
Incubated at 37°C for 12 days plus 45°C for 8 Days
(20 mM phosphate, pH 7.0, 10 mg/mL sarilumab, plus Organic Cosolvent)

pH/Buffer	Color and Appearance	Turbidity (Increase in OD at 405 nm)	pH	% sarilumab Recovered by RP-HPLC	Purity by SE-HPLC			Charged Variants by CEX-HPLC		
					% HMW	% Native	% LMW	% Acidic	% Main	% Basic
Starting Material (no vortexing)	Pass	0.00	7.2	100	1.2	96.6	2.2	Not Performed		
No Cosolvent	Fail	0.00	7.3	104	3.3	92.9	3.9			
0.2% Polysorbate 20	Pass	0.00	7.3	102	3.8	92.2	4.1			
0.2% Polysorbate 80	Pass	0.00	7.3	100	3.5	92.3	4.1			
3% PEG 3350	Fail	0.00	7.3	19	0.2	92.6	7.6			

20% PEG 300	Fail	0.54	7.0	65	19.2	76.9	4.0			
20% Propylene Glycol	Fail	0.00	7.5	104	3.0	93.2	3.9			
0.2% Polysorbate 20, 50 mM NaCl	Pass	0.00	7.2	101	3.3	92.8	3.9			
0.2% Polysorbate 20, 100 mM NaCl	Pass	0.00	7.1	100	3.1	93.3	3.7			
0.2% Polysorbate 20, 150 mM NaCl	Pass	0.00	7.1	101	2.8	93.6	3.6			

SE-HPLC and CEX-HPLC 'Starting Material' results are the average values of the starting material for all 9 formulations

Table 4: Effect of Organic Cosolvents on the Stability of 10mg/mL sarilumab
Following Agitation by Vortex for 120 Minutes
(20 mM phosphate, pH 7.0, 10 mg/mL sarilumab, plus Organic Cosolvent)

pH/Buffer	Color and Appearance	Turbidity (Increase in OD at 405 nm)	pH	% sarilumab Recovered by SE-HPLC	Purity by SE-HPLC			Charged Variants by CEX-HPLC		
					% HMW	% Native	% LMW	% Acidic	% Main	% Basic
Starting Material (no vortexing)	Pass	0.00	7.2	100	1.2	96.6	2.2	Not Performed		
No Cosolvent	Fail	0.32	7.2	87	1.4	96.6	2.0			
0.2% Polysorbate 20	Pass	0.02	7.2	100	1.8	96.4	1.8			
0.2% Polysorbate 80	Pass	0.00	7.2	99	1.5	96.5	2.0			
3% PEG 3350	Pass	0.01	7.3	17	0.5	96.1	3.4			
20% PEG 300	Fail	0.00	7.4	5	3.3	88.6	8.1			
20% Propylene Glycol	Pass	0.01	7.4	127	1.2	97.1	1.7			
0.2% Polysorbate 20, 50 mM NaCl	Pass	0.00	7.1	102	1.1	97.1	1.8			
0.2% Polysorbate 20, 100 mM NaCl	Pass	0.00	7.0	101	0.9	97.2	1.9			

Appl. No. 12/986,223
Declaration of Kenneth Graham

PATENT

0.2% Polysorbate 20, 150 mM NaCl	Pass	0.00	7.0	101	0.9	96.9	2.2			
----------------------------------	------	------	-----	-----	-----	------	-----	--	--	--

SE-HPLC and CEX-HPLC 'Starting Material' results are the average values of the starting material for all 9 formulations

(6) An experiment was performed to evaluate various stabilizers such as sugars, amino acids, and inorganic salts for their ability to increase the thermal stability of 30 mg/mL sarilumab. A summary of the thermal stabilizers that were examined is presented in Table 5. The formulation containing 20% sucrose as a single stabilizing agent had the least degradation of sarilumab following incubation of the protein at elevated temperature as determined by SE-HPLC. Incubation at stress temperatures (37°C for 4 days plus 45°C for 8 days) resulted in a 1.8% increase in HMW species and a 3.1% loss of native sarilumab. Formulation of sarilumab with 10% mannitol was also observed to inhibit the degradation of sarilumab when incubated at 45°C. However, sarilumab was less stable to freezing and thawing stresses when formulated with mannitol versus sucrose, as shown in Table 6. No significant change in purity or recovery was observed in the presence of 20% sucrose, but when sarilumab was formulated with 10% mannitol, a 2.9% increase in HMW species and a 3.1% loss of native was observed after 8 freeze/thaw cycles. Each individual stabilizer tested (highlighted in Tables 5 and 6), except sucrose, resulted in increased aggregate formation at elevated temperature or under freeze/thaw conditions, indicating a destabilizing effect on sarilumab.

Table 5: Effect of Thermal Stabilizer on the Stability of 30 mg/mL sarilumab
Incubated at 37°C for 4 days Plus 45°C for 8 Days
(20 mM phosphate, pH 7.0, 30 mg/mL sarilumab, 0.2% polysorbate 20, plus Thermal Stabilizer)

pH/Buffer	Color and Appearance	Turbidity (Increase in OD at 405 nm)	pH	% sarilumab Recovered by RP-HPLC	Purity by SE-HPLC			Charged Variants by CEX-HPLC		
					% HMW	% Native	% LMW	% Acidic	% Main	% Basic
Starting Material (no vialing)	Pass	0.00	7.0	100	1.5	96.7	1.8	Not performed		
No Stabilizer	Pass	0.00	7.2	101	4.4	92.2	3.4			
100 mM NaCl	Pass	0.03	7.0	101	5.2	81.6	13.2			
20% Sucrose	Pass	0.00	7.0	99	3.3	93.6	3.1			
10% Mannitol	Pass	0.00	7.1	101	3.9	93.2	3.0			

20% Sorbitol	Pass	0.04	6.9	104	10.2	86.5	3.3			
1% Glycine	Pass	0.05	7.0	98	14.3	81.8	3.9			
1% Arginine	Fail	0.03	9.6	91	31.9	47.9	20.4			
1% Lysine	Pass	0.02	7.0	101	6.0	89.8	4.2			
100 mM NaCl + 20% sucrose	Pass	0.00	6.8	101	2.6	94.5	2.8			

SE-HPLC and CEX-HPLC 'Starting Material' results are the average values of the starting material for all 9 formulations

Table 6: Effect of Thermal Stabilizer on the Stability of 30 mg/mL sarilumab
After 8 Freeze/Thaw Cycles
(20 mM phosphate, pH 7.0, 30 mg/mL sarilumab, 0.2% polysorbate 20, plus Thermal Stabilizer)

pH/Buffer	Color and Appearance	Turbidity (Increase in OD at 405 nm)	pH	% sarilumab Recovered by RP-HPLC	Purity by SE-HPLC			Charged Variants by CEX-HPLC		
					% HMW	% Native	% LMW	% Acidic	% Main	% Basic
Starting Material ⁽¹⁾ (no vortering)	Pass	0.00	7.0	100	1.5	96.7	1.8	Not performed		
No Stabilizer	Pass	0.00	7.2	98	1.5	96.7	1.8			
100 mM NaCl	Pass	0.00	7.0	100	1.3	96.8	1.9			
20% Sucrose	Pass	0.00	7.0	97	1.1	96.8	2.1			
10% Mannitol	Pass	0.00	7.1	100	4.4	93.6	2.0			
20% Sorbitol	Pass	0.00	7.0	101	1.2	96.9	2.0			
1% Glycine	Pass	0.01	7.1	100	1.1	96.8	2.1			
1% Arginine	Pass	0.01	9.7	99	1.2	96.6	2.2			
1% Lysine	Pass	0.00	7.0	100	1.0	97.3	1.7			
100 mM NaCl + 20% sucrose	Pass	0.00	6.9	99	1.0	97.3	1.7			

SE-HPLC and CEX-HPLC 'Starting Material' results are the average values of the starting material for all 9 formulations

(7) A further experiment (data not shown) demonstrated that the use of arginine in the form of a hydrochloride salt maintained the pH at about 6, and improved thermal stability of sarilumab formulations. The addition of arginine in the form of a free amino acid, as shown in Tables 5 and 6, resulted in an increase in pH to about 9.7.

(8) The experiments described above along with those described in the application are illustrative of our rationale for determining to formulate sarilumab with histidine, arginine, sucrose and polysorbate 20 at a pH of about 6. Before performing these experiments, I would not have known which buffers, pHs and excipients would be stabilizing or destabilizing with sarilumab.

(9) I further declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code, and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issuing thereon.

Respectfully submitted,

Date:

13 March 2014

Kenneth S. Graham

Kenneth S. Graham

ALSTON & BIRD LLP
Bank of America Plaza
101 South Tryon Street, Suite 4000
Charlotte, NC 28280-4000
LAT
LEGAL02/34719508v1