



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-013109- -00000-0000

Fecha: 2014-01-23 15:19:14

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASOR

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 109

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS

ANTI-PCSK9

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

DOMICILIO TARRYTOWN, NEW YORK, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C., _____



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



No. 14-013109- -00000-0000

Fecha: 2014-01-23 15:19:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 109

radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención	☐ Patente de Modelo de Utilidad
		☒ Capítulo I	☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
	Solicitud Internacional No.	PCT/US2012/048574	Fecha 2012/07/27
	Publicación Internacional No.	WO 2013/016648 A3	Fecha 2013/01/31
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN		
FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS ANTI-PCSK9			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
	A61K 039/395, C07K 016/040		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
	APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
	REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.		
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
	DIRECCIÓN	777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, Estados Unidos de América	No. TELÉFONO 3 47 36 11
	CIUDAD	Tarrytown	CORREO ELECTRÓNICO clientes@cavelier.com
	DEPARTAMENTO/ESTADO	New York	NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN
	PAÍS DE RESIDENCIA	Estados Unidos de América	Estado de New York, Estados Unidos de América
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
	APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
	1. WALSH	Scott	Estadounidense
	2. DIX	Daniel	Estadounidense
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
	PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD DIRECCIÓN
	1. Estados Unidos de América	New York	Tarrytown c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, Estados Unidos de América
	2. Estados Unidos de América	New York	Tarrytown c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, Estados Unidos de América
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
	APELLIDOS	NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
	De Páez	Luz Clemencia	C.C . 35.456.344 T.P . 23.555
	DIRECCIÓN	Carrera 4ª No. 72-35	No. TELÉFONO 3 47 36 11
	CIUDAD	BOGOTA	CORREO ELECTRÓNICO cavelier@cavelier.com
	PAÍS	COLOMBIA	No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL

10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
U.S.A.		US	61/512,666	2011/07/28
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>				
☐ SI ☐ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐				
Universidades públicas o privadas ☐				
Entidades sin ánimo de lucro ☐				
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	No. <u>14-006967</u> No. <u>14-006957</u>	Fecha : <u>2014/01/22</u> Fecha : <u>2014/01/22</u>	
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL <i>Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)</i>			
Nombre del Firmante LUZ CLEMENCIA DE PAEZ		Firma <u>LUZ CLEMENCIA DE PAEZ</u> <u>IP# 23555 CSJ</u>		
C.C 35.456.344 de Usaquén		Tarjeta Profesional 23.555		

17 ANEXOS	
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano 1. ☒ Descripción N° de folios: <u>67</u> 2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: <u>56</u> 3. ☐ Dibujos y/o figuras N° folios: 4. ☒ Resumen. 5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso. 6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso. 7. ☐ Arte final 12 x 12. 8. ☐ Anexo formato digital.	Documentación Jurídica 9. ☒ Poder de REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. 10. ☒ Documento que legalmente prueba la cesión de los dos (2) inventores al solicitante o a su causante. 11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso. 12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso. 13. Reducción de tasas Micro, pequeñas o medianas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004. Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar 14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$515.000. 15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. 16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación. 17. ☒ Comprobante de pago por 46 reivindicaciones adicionales a 10 por \$1.426.000.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



WIPO | PCT



(10) International Publication Number

WO 2013/016648 A3

(43) International Publication Date
31 January 2013 (31.01.2013)

(51) International Patent Classification:
A61K 39/395 (2006.01) C07K 16/40 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2012/048574

(22) International Filing Date:
27 July 2012 (27.07.2012)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/512,666 28 July 2011 (28.07.2011) US

(71) Applicant (for all designated States except US): REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): WALSH, Scott [US/—]; c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US). DIX, Daniel; c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US).

(74) Agent: ZAHNER, Joseph, E.; Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

— with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(88) Date of publication of the international search report:
13 June 2013

(54) Title: STABILIZED FORMULATIONS CONTAINING ANTI-PCSK9 ANTIBODIES

(57) Abstract: The present invention provides pharmaceutical formulations comprising a human antibody that specifically binds to human proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). The formulations may contain, in addition to an anti-PCSK9 antibody, at least one amino acid, at least one sugar, or at least one non-ionic surfactant. The pharmaceutical formulations of the present invention exhibit a substantial degree of antibody stability after storage for several months.

WO 2013/016648 A3

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
31 January 2013 (31.01.2013)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2013/016648 A2

(51) International Patent Classification:
A61K 39/395 (2006.01) C07K 16/40 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2012/048574

(22) International Filing Date:
27 July 2012 (27.07.2012)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/512,666 28 July 2011 (28.07.2011) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.** [US/US]; 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **WALSH, Scott** [US/—]; c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US). **DIX, Daniel**; c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US).

(74) Agent: **ZAHNER, Joseph, E.**; Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) Title: STABILIZED FORMULATIONS CONTAINING ANTI-PCSK9 ANTIBODIES

(57) Abstract: The present invention provides pharmaceutical formulations comprising a human antibody that specifically binds to human proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). The formulations may contain, in addition to an anti-PCSK9 antibody, at least one amino acid, at least one sugar, or at least one non-ionic surfactant. The pharmaceutical formulations of the present invention exhibit a substantial degree of antibody stability after storage for several months.

WO 2013/016648 A2

FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS ANTI-PCSK9

CAMPO

La presente invención se refiere al campo de las formulaciones de anticuerpos terapéuticos. Más específicamente, la presente invención se refiere al campo de formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente a la proproteína humana convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9).

LISTADO DE SECUENCIAS

Un archivo de texto compatible ST.25 de un listado de secuencias se presenta al mismo tiempo que la presente memoria descriptiva. El contenido del archivo de texto se incorpora por referencia en la presente memoria. Como parte de la presente memoria descriptiva se incluye una copia en papel del listado de secuencias, que es idéntica en su contenido al archivo de texto compatible ST.25.

ANTECEDENTES

Las macromoléculas terapéuticas (p. ej., anticuerpos) deben formularse de forma que las moléculas sean no solo aptas para administrarlas a los pacientes, sino que además conserven su estabilidad durante su almacenamiento y uso posterior. Por ejemplo, los anticuerpos terapéuticos en solución líquida tienen tendencia a degradarse, agregarse o sufrir modificaciones químicas no deseadas, a menos que la solución se formule adecuadamente. La estabilidad de un anticuerpo en formulación líquida depende no solo de los tipos de excipientes utilizados en la formulación, sino también de las cantidades y proporciones de los excipientes entre sí. Además, aparte de la estabilidad, deben tenerse en cuenta otras consideraciones al preparar una formulación líquida de anticuerpos. Algunos ejemplos de dichas consideraciones adicionales incluyen la viscosidad de la solución y la concentración del anticuerpo que puede incorporarse en una formulación dada y la calidad visual o atractivo de la

formulación. Por tanto, al formular un anticuerpo terapéutico, deberá tenerse mucho cuidado para llegar a una formulación que permanezca estable, que contenga una concentración adecuada del anticuerpo y que posea una viscosidad adecuada, así como otras propiedades que permitan administrar la formulación convenientemente a los pacientes.

Los anticuerpos contra la proteína humana proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) son un ejemplo de macromolécula con importancia terapéutica que requiere una formulación adecuada. Los anticuerpos anti-PCSK9 son clínicamente útiles para el tratamiento o prevención de enfermedades tales como la hipercolesterolemia y otras dislipidemias, así como otras afecciones. Anticuerpos anti-PCSK9 ejemplares se describen, entre otros, en los documentos WO 2008/057457, WO 2008/057458, WO 2008/057459, WO 2008/063382, WO 2008/125623, Patente de Estados Unidos N° 7.572.618, WO 2010/077854, US 2010/0166768 y US 2011/0065902.

Aunque se conocen anticuerpos anti-PCSK9, sigue existiendo en la técnica la necesidad de nuevas formulaciones farmacéuticas que comprendan anticuerpos anti-PCSK9 que sean suficientemente estables y adecuados para su administración a los pacientes.

COMPENDIO

La presente invención satisface la necesidad anteriormente mencionada proporcionando formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente a la proteína humana proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9).

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida, que comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la proteína humana proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9); (ii) un tampón; (iii) un codisolvente orgánico; (iv) un estabilizador y opcionalmente (v) un reductor de la

viscosidad.

En una realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente $50 \pm 7,5$ mg/ml a aproximadamente 200 ± 30 mg/ml. En otra realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente 50 mg/ml $\pm 7,5$ mg/ml. En otra realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$. En otra realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente $150 \text{ mg/ml} \pm 22,5 \text{ mg/ml}$. En otra realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente $175 \text{ mg/ml} \pm 26,25 \text{ mg/ml}$. En otra realización, el anticuerpo se proporciona a una concentración de aproximadamente $200 \text{ mg/ml} \pm 30 \text{ mg/ml}$.

En una realización, el anticuerpo comprende una o más de una secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 1-8. En una realización el anticuerpo comprende (a) una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada 1, 2 y 3 (HCDR1-HCDR2-HCDR3) comprendiendo cada una de ellas una secuencia de SEC ID N°: 2, SEC ID N°: 3 y SEC ID N°: 4, respectivamente y (b) una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende regiones determinantes de complementariedad 1, 2 y 3 (LCDR1-LCDR2-LCDR3) comprendiendo cada una de ellas una secuencia de SEC ID N°: 6, SEC ID N°: 7 y SEC ID N°: 8, respectivamente. En una realización específica, el anticuerpo comprende una HCVR y una LCVR, comprendiendo cada una de ellas la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 1 y SEC ID N°: 5, respectivamente.

En una realización, el pH de la formulación líquida es aproximadamente pH $6,0 \pm 0,5$, pH $6,0 \pm 0,4$, pH $6,0 \pm 0,3$, pH $6,0 \pm 0,2$, pH $6,0 \pm 0,1$, pH $6,0 \pm 0,05$, pH $6,0 \pm 0,01$, o pH 6,0. En una realización específica, el pH de la formulación líquida es aproximadamente pH $6,0 \pm 0,3$. En una realización, el tampón farmacéutico líquido comprende uno o más tampones, que tiene un intervalo efectivo de tampón de aproximadamente pH 5,5 a aproximadamente pH 7,4 o un pKa de aproximadamente

6,0.

En una realización, el tampón es histidina. En una realización, la histidina está a una concentración de $5 \text{ mM} \pm 0,75 \text{ mM}$ a $50 \text{ mM} \pm 7,5 \text{ mM}$. En una realización, la histidina está a una concentración de $10 \text{ mM} \pm 1,5 \text{ mM}$ o aproximadamente 10 mM . En una realización, la histidina está a una concentración de $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ o aproximadamente 20 mM . En una realización, la histidina está a una concentración de $40 \text{ nM} \pm 6 \text{ mM}$ o aproximadamente 40 nM .

En una realización, el codisolvente orgánico es un polímero no iónico que contiene un resto de polioxietileno. En algunas realizaciones, el codisolvente orgánico es uno cualquiera o más de polisorbato 20, poloxámero 188 y polietilenglicol 3350. En una realización específica, el codisolvente orgánico es polisorbato 20.

En una realización, el codisolvente orgánico está a una concentración de aproximadamente $0,005\% \pm 0,00075\%$ a aproximadamente $1\% \pm 0,15\%$ de "peso respecto al volumen" o "p/v", en donde, p. ej., $0,1 \text{ g/ml} = 10\%$ y $0,01 \text{ g/ml} = 1\%$. En una realización, el codisolvente orgánico es polisorbato 20, que está a una concentración de aproximadamente $0,2\% \pm 0,03\%$ p/v. En otra realización, el codisolvente orgánico es polisorbato 20, que está a una concentración de $0,01\% \pm 0,0015\%$ p/v o aproximadamente $0,01\%$ p/v.

En una realización, el estabilizador es un azúcar. En una realización, el azúcar se selecciona del grupo que consiste en sacarosa, manitol y trehalosa. En una realización específica, el estabilizador es sacarosa.

En una realización, el estabilizador está a una concentración de $1\% \pm 0,15\%$ p/v a $20\% \pm 3\%$ p/v. En una realización específica, el estabilizador es sacarosa a una concentración de $5\% \pm 0,75\%$ p/v o aproximadamente 5% p/v. En otra realización específica, el estabilizador es sacarosa a una concentración de $10\% \pm 1,5\%$ p/v o aproximadamente 10% p/v. En otra realización específica, el estabilizador es sacarosa a una concentración de $12\% \pm 1,8\%$ p/v o aproximadamente 12% p/v.

En una realización, el reductor de la viscosidad es una sal seleccionada del grupo que consiste en clorhidrato de arginina, tiocianato de sodio, tiocianato de amonio, sulfato de amonio, cloruro de amonio, cloruro de calcio, cloruro de cinc y acetato de sodio. En una realización, el reductor de la viscosidad es un clorhidrato de L-arginina.

5 En una realización, el reductor de la viscosidad está a una concentración de 10 mM $\pm$ 1,5 mM a 150 mM $\pm$ 22,5 mM. En una realización, el reductor de la viscosidad es clorhidrato de L-arginina a una concentración de 50 mM $\pm$ 7,5 mM o aproximadamente 50 mM. En una realización, el reductor de la viscosidad es clorhidrato de L-arginina a una concentración de 40 mM $\pm$ 6 mM o aproximadamente 40 mM.

10 En una realización, la viscosidad del líquido o formulación farmacéutica liofilizada reconstituida a 25 °C es menor que o igual a aproximadamente 15 cPoise $\pm$ 10%. En una realización, la viscosidad a 25 °C está entre 1,0 cPoise $\pm$ 10% y 18 cPoise $\pm$ 10%. En una realización, la viscosidad a 25 °C es 1,6 cPoise $\pm$ 10%, 1,7 cPoise $\pm$ 10%, 3,3 cPoise $\pm$ 10%, 3,5 cPoise $\pm$ 10%, 4,8 cPoise $\pm$ 10%, 6,0 cPoise $\pm$ 10%, 7,0 cPoise $\pm$ 10%, 7,1 cPoise $\pm$ 10%, 7,2 cPoise $\pm$ 10%, 7,9 cPoise $\pm$ 10%, 8,9 cPoise $\pm$ 10%, 10,0 cPoise $\pm$ 10%, 10,6 cPoise $\pm$ 10%, 11,4 cPoise $\pm$ 10%, 11,6 cPoise $\pm$ 10%, 11,8 cPoise $\pm$ 10%, 12,4 cPoise $\pm$ 10%, 13,9 cPoise $\pm$ 10%, 14,0 cPoise $\pm$ 10%, 15,5 cPoise $\pm$ 10% o 17,9 cPoise $\pm$ 10%.

20 En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida está entre 100 $\pm$ 15 mOsm/kg y 460 $\pm$ 69 mOsm/kg. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es 103 $\pm$ 15 mOsm/kg o aproximadamente 103 mOsm/kg. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es 195 $\pm$ 29 mOsm/kg o aproximadamente 195 mOsm/kg. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es 220 $\pm$ 33 mOsm/kg o aproximadamente 220 mOsm/kg. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es 330 $\pm$ 50 mOsm/kg o aproximadamente 330 mOsm/kg. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es 435 $\pm$ 65 mOsm/kg.

o aproximadamente 435 mOsm/kg. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es 440 ± 66 mOsm/kg o aproximadamente 440 mOsm/kg. En una realización, la osmolalidad de la formulación farmacéutica líquida es 458 ± 69 mOsm/kg o aproximadamente 458 mOsm/kg.

5 En una realización, al menos el 96% o al menos el 97% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no agregada y no degradada se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de tres meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño. En una realización, al menos el 56% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no básica y no
10 ácida (es decir, el pico principal o la forma con carga principal) se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de tres meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal y como determinó la cromatografía de intercambio iónico.

En una realización, al menos el 96% o al menos el 97% de la forma del anticuerpo
15 anti-PCSK9 no agregada y no degradada se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de tres meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño. En una realización, al menos el 56% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 con carga principal se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de tres meses de
20 almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal y como determinó la cromatografía de intercambio iónico.

En una realización, al menos el 96% o al menos el 97% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no agregada y no degradada se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de tres meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica
25 líquida a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño. En una realización, al menos el 56% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 con carga principal se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de tres meses de

almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a -20 °C, tal y como determinó la cromatografía de intercambio iónico.

En una realización, al menos el 96% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no agregada y no degradada se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de seis meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a 5 °C, tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño. En una realización, al menos el 58% o el 59% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 con carga principal se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de tres meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a 5 °C, tal y como determinó la cromatografía de intercambio iónico.

En una realización, al menos el 94% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no agregada y no degradada se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de seis meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a 25 °C, tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño. En una realización al menos el 45% o el 47% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no básica y no ácida se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de seis meses de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a 25 °C, tal y como determinó la cromatografía de intercambio iónico.

En una realización, al menos el 91% o el 92% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no agregada y no degradada se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de 28 días de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a 45 °C, tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño. En una realización, al menos el 35% o el 37% de la forma del anticuerpo anti-PCSK9 no básica y no ácida se recupera de la formulación farmacéutica líquida después de 28 días de almacenamiento de la formulación farmacéutica líquida a 45 °C, tal y como determinó la cromatografía de intercambio iónico.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida que comprende: (i) de $50 \pm 7,5$ mg/ml a 175 ± 26 mg/ml de un anticuerpo humano que se

une específicamente a la PCSK9 humana; (ii) de 0 mM a 40 ± 6 mM de histidina; (iii) de 0% a $0,2\% \pm 0,03\%$ (p/v) de polisorbato 20; (iv) de 0% a $12\% \pm 1,8\%$ (p/v) de sacarosa y (v) de 0 mM a $50 \pm 7,5$ mM de arginina, a un pH de aproximadamente 5,3 a aproximadamente 6,7. El anticuerpo anti-PCSK9 de este aspecto comprende una
5 región variable de cadena pesada (HCVR) y una región variable de cadena ligera (LCVR) de forma que la combinación HCVR / LCVR comprende regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y ligera (HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3), que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 2-3-4 / SEC ID NO: 6-7-8, respectivamente. En una realización en particular, el anticuerpo anti-PCSK9 comprende una región variable de cadena pesada
10 (HCVR) y una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende una secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 1 y SEC ID NO: 5, respectivamente (en adelante "mAb-316P").

En una realización de este aspecto, la formulación líquida comprende (i) $50 \pm 7,5$
15 mg/ml de mAb-316P; (ii) $10 \pm 1,5$ mM de histidina; (iii) $0,1\% \pm 0,015\%$ (p/v) de polisorbato 20 y (iv) $6\% \pm 0,9\%$ (p/v) de sacarosa, a un pH $6,0 \pm 0,3$. En una realización de esta formulación en particular, la viscosidad es de aproximadamente 1,7 cPoise. En una realización de esta formulación en particular, la osmolalidad es 220 ± 44 mOsm/kg.

En otra realización, la formulación líquida comprende (i) 100 ± 20 mg/ml de mAb-
20 316P; (ii) 20 ± 4 mM de histidina; (iii) $0,2\% \pm 0,04\%$ (p/v) de polisorbato 20 y (iv) $12\% \pm 2,4\%$ (p/v) de sacarosa, a un pH $6,0 \pm 0,3$. En una realización de esta formulación en particular, la viscosidad es aproximadamente 3,5 cPoise. En una realización de esta formulación en particular, la osmolalidad es 440 ± 88 mOsm/kg.

En otra realización, la formulación líquida comprende (i) $150 \pm 22,5$ mg/ml de mAb-
25 316P; (ii) $10 \pm 1,5$ mM de histidina; (iii) $0,2\% \pm 0,03\%$ o $0,01\% \pm 0,0015\%$ (p/v) de polisorbato 20 y (iv) $10\% \pm 1,5\%$ (p/v) de sacarosa, a un pH $6,0 \pm 0,3$. En una realización de esta formulación en particular, la viscosidad es de aproximadamente 6

cPoise. En una realización de esta formulación particular, la osmolalidad es $435 \pm 65,25$ mOsm/kg. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a 45° durante 28 días, $\geq 92\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 35\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a 25° durante seis meses, $\geq 94\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 45\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a 5° durante seis meses, $\geq 96\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 58\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a -20° durante doce meses, $\geq 97\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 56\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a -80° durante doce meses, $\geq 97\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 56\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a -80° durante doce meses, $\geq 97\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 56\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal.

En algunas realizaciones de esta formulación en particular, $\geq 85\%$ del anticuerpo retiene su poder biológico después de 28 días a 45°C , $\geq 82\%$ después de 28 días a 37°C y/o $\geq 98\%$ después de 28 días a 25°C . En algunas realizaciones de esta formulación en particular, $\geq 85\%$ del anticuerpo retiene su poder biológico después de seis meses a -20°C , $\geq 70\%$ después de seis meses a -30°C y/o $\geq 79\%$ después de seis meses a -80°C . En algunas realizaciones de esta formulación en particular, $\geq 81\%$ del anticuerpo retiene su potencia biológica después de ocho ciclos hielo-deshielo y/o $\geq 84\%$ del anticuerpo retiene su actividad biológica después de 120 minutos de agitación.

En otra realización de este aspecto, la formulación líquida comprende (i) $175 \pm$

26,25 mg/ml de mAb-316P; (ii) $10 \pm 1,5$ mM de histidina; (iii) $0,01\% \pm 0,0015\%$ (p/v) de polisorbato 20; (iv) $5\% \pm 0,75\%$ (p/v) de sacarosa y (v) $50 \pm 7,5$ mM de arginina, a un pH $6,0 \pm 0,3$. En una realización de esta formulación en particular, la viscosidad es de aproximadamente 10,6 cPoise. En una realización de esta formulación en particular, la osmolalidad es 330 ± 50 mOsm/kg. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a 45° durante 28 días, $\geq 91\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 38\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a 25° durante seis meses, $\geq 94\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 47\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a 5° durante seis meses, $\geq 96\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 59\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a -20° durante tres meses, $\geq 96\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 56\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a -80° durante tres meses, $\geq 96\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 56\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal. En una realización de esta formulación en particular, después del almacenamiento de la formulación a -80° durante tres meses, $\geq 96\%$ del anticuerpo es nativo y $\geq 56\%$ del anticuerpo está en la forma con carga principal.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica líquida de cualquiera de los aspectos precedentes en un envase. En una realización, el envase es un vial de policarbonato. En otra realización, el envase es un vial de cristal. En una realización, el vial de cristal es un vial de cristal de borosilicato tipo 1 con un tapón de goma butilo cubierto de fluorocarbono. En otra realización, el envase es un microinfusor. En otra realización, el envase es una jeringa. En una realización específica, la jeringa

comprende un émbolo cubierto de fluorocarbono. En una realización específica, la jeringa es una jeringa de cristal de 1 ml de longitud que contiene menos de aproximadamente 500 partes por billón de tungsteno equipada con una aguja 27-G, un tapón de goma butilo cubierto de fluorocarbono y un capuchón con punta de goma sin látex y no citotóxica. En una realización más específica, la jeringa es una jeringa de cristal NUOVA OMPI de 1 ml de longitud equipada con una aguja de pared fina 27-G, un tapón de goma 4023/50 cubierto de FLUROTEC y un capuchón con punta de goma FM 27. En otra realización específica, la jeringa es una jeringa de plástico de 1 ml o 3 ml provista de una aguja 27-G. En una realización más específica, la jeringa de plástico la distribuye BECTON DICKINSON.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende (a) 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% de polisorbato 20, (d) 5% p/v $\pm$ 0,75% de sacarosa y (e) 50 mM $\pm$ 7,5 mM de arginina, en donde (a) el anticuerpo comprende un HCVD con SEC ID N°: 1 y un LCVD con SEC ID N°: 5, (b) más del 90% de los anticuerpos de la formulación tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa, (c) más del 50% de los anticuerpos de la formulación tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5 y (d) del 75% al 90% de los anticuerpos de la formulación están fucosilados.

En una realización, la formulación farmacéutica consiste en (a) 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9 del párrafo inmediatamente precedente, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% de polisorbato 20, (d) 5% p/v $\pm$ 0,75% de sacarosa y (e) 50 mM $\pm$ 7,5 mM de arginina, en agua.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende (a) 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,2% p/v $\pm$ 0,03% de polisorbato 20, y (d) 10% p/v $\pm$ 1,5% de sacarosa, en donde (i) el anticuerpo comprende un HCVD con SEC ID N°: 1 y un LCVD

con SEC ID N°: 5, (ii) más del 90% de los anticuerpos de la formulación tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa, (iii) más del 50% de los anticuerpos de la formulación tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5, y (iv) del 75% al 90% de los anticuerpos de la formulación están fucosilados.

5 En una realización, la formulación farmacéutica consiste en (a) 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9 del párrafo inmediatamente precedente, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,2% p/v $\pm$ 0,03% de polisorbato 20 y (d) 10% p/v $\pm$ 1,5% de sacarosa, en agua.

10 **En un aspecto,** se proporciona una formulación farmacéutica que comprende (a) 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% de polisorbato 20, y (d) 10% p/v $\pm$ 1,5% de sacarosa, en donde (i) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5, (ii) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa, (iii) más del 50% de los anticuerpos de la formulación tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5 y (iv) del 75% al 90% de los anticuerpos de la formulación están fucosilados.

20 En una realización, la formulación farmacéutica consiste en (a) 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9 del párrafo inmediatamente precedente, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% de polisorbato 20 y (d) 10% p/v $\pm$ 1,5% de sacarosa, en agua.

25 **En un aspecto,** se proporciona una formulación farmacéutica que comprende (a) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) 20 mM $\pm$ 3 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,2% p/v $\pm$ 0,03% de polisorbato 20 y (d) 12% p/v $\pm$ 1,8% de sacarosa, en donde (i) el anticuerpo comprende un HCVD con SEC ID N°: 1 y un LCVD con SEC ID N°: 5, (ii) más del 90% de los anticuerpos de la formulación tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa, (iii) más del 50% de los anticuerpos de la formulación tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5 y (iv) del 75% al 90% de los anticuerpos de

la formulación están fucosilados.

En una realización, la formulación farmacéutica consiste en (a) 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9 del párrafo inmediatamente precedente, (b) 20 mM $\pm$ 3 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,2% p/v $\pm$ 0,03% de polisorbato 20 y (d) 12% p/v $\pm$ 1,8% de sacarosa, en agua.

En un aspecto, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende (a) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml de un anticuerpo, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,1% p/v $\pm$ 0,015% de polisorbato 20 y (d) 6% p/v $\pm$ 0,9% de sacarosa, en donde (i) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5, (ii) más del 90% de los anticuerpos de la formulación tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa, (iii) más del 50% de los anticuerpos de la formulación tienen un punto isoelectrico de aproximadamente 8,5 y (iv) del 75% al 90% de los anticuerpos de la formulación están fucosilados.

En una realización, la formulación farmacéutica consiste en (a) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9 del párrafo inmediatamente precedente, (b) 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) 0,1% p/v $\pm$ 0,015% de polisorbato 20 y (d) 6% p/v $\pm$ 0,9% de sacarosa, en agua.

En un aspecto, se proporciona un método para preparar una composición liofilizada que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 y menos del 0,3% de agua. El método comprende las etapas de (a) combinar en un vial de cristal agua, un anticuerpo anti-PCSK9, histidina, sacarosa y polisorbato 20, (b) a continuación mantener la combinación aproximadamente 5 °C durante aproximadamente 60 minutos, (c) a continuación disminuir la temperatura a una proporción de aproximadamente 0,5 °C por minuto, (d) a continuación mantener la combinación a aproximadamente -45 °C durante aproximadamente 120 minutos, (e) a continuación reducir la presión atmosférica a aproximadamente 100 mTorr, (f) a continuación aumentar la temperatura a una proporción de aproximadamente 0,5 °C por minuto, (g) a continuación mantener la

combinación a aproximadamente -25 °C durante aproximadamente 78 horas, (h) a continuación aumentar la temperatura a una proporción de 0,2 °C por minuto, (i) a continuación mantener a aproximadamente 35 °C durante aproximadamente 6 horas, (j) a continuación disminuir la temperatura a una proporción de aproximadamente 0,5 °C, 5 (k) y mantener la combinación a aproximadamente 25 ° durante aproximadamente 60 minutos, antes de su almacenamiento.

En una realización, el método comprende además las etapas de (l) rellenar el vial de cristal que contiene la combinación de la etapa (k) con gas nitrógeno y (m) cerrar el vial a presión atmosférica de aproximadamente 80%. En una realización, la 10 composición se lleva a 2-8 °C después de la etapa (i), (j) o (k) y antes de la etapa de cierre del vial.

En algunas realizaciones, en la etapa (a) el anticuerpo anti-PCSK9 está a 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml, la histidina está a 10 mM $\pm$ 1,5 mM (pH 6,0), el polisorbato 20 está al 0,1% $\pm$ 0,015%, y la sacarosa está al 6% $\pm$ 0,9%. En una realización, el anticuerpo 15 anti-PCSK9 comprende una HCDR1 de SEC ID N°: 2, una HCDR2 de SEC ID N°: 3, una HCDR3 de SEC ID N°: 4, una LCDR1 de SEC ID N°: 6, una LCDR2 de SEC ID N°: 7 y una LCDR3 de SEC ID N°: 8. mAb-316P. En una realización, el anticuerpo anti-PCSK9 comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5. En una 20 realización, (i) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5, (ii) más del 90% de los anticuerpos de la combinación tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa, (iii) más del 50% de los anticuerpos de la combinación tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5 y (iv) del 75% al 90% de los anticuerpos de la combinación están fucosilados.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que 25 comprende un anticuerpo anti-PCSK9 y menos del 0,3% de agua, producida según el método del aspecto precedente.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica, que comprende la

composición farmacéutica liofilizada del aspecto precedente resuspendida en agua. En una realización, la composición farmacéutica consiste en 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9, 10 mM $\pm$ 1,5 mM de histidina (pH 6,0), 0,1% $\pm$ 0,015% de polisorbato 20 y 6% $\pm$ 0,9% de sacarosa, en agua. En una realización, la composición

5 farmacéutica consiste en 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9, 20 mM $\pm$ 3 mM de histidina (pH 6,0), 0,2% $\pm$ 0,03% de polisorbato 20 y 12% $\pm$ 1,8% de sacarosa, en agua. En otra realización, la composición farmacéutica consiste en 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml de anticuerpo anti-PCSK9, 30 mM $\pm$ 4,5 mM de histidina (pH 6,0), 0,3% $\pm$ 0,045% de polisorbato 20 y 18% $\pm$ 2,7% de sacarosa, en agua. En otra realización

10 adicional la composición farmacéutica consiste en 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9, 35 mM $\pm$ 5,25 mM de histidina (pH 6,0), 0,35% $\pm$ 0,0525% de polisorbato 20 y 21% $\pm$ 3,15% de sacarosa, en agua.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5 y (b) más del 90% de los anticuerpos de la

15 composición tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa, (c) más del 50% de los anticuerpos de la composición tiene un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5 y (d) del 75% al 90% de los anticuerpos de la composición están fucosilados.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica de cualquiera de los aspectos precedentes, en donde dicha composición está contenida en un envase. En

20 una realización, el envase es un vial, el cual, en algunas realizaciones, es un vial de cristal. En otra realización, el envase es una jeringa. En algunas realizaciones, la jeringa es una jeringa de cristal con bajo contenido de tungsteno. En una realización, la jeringa es una jeringa de cristal NUOVA OMPI de 1 ml de longitud equipada con una aguja de pared fina 27-G, un tapón de goma 4023/50 cubierto de FLUROTEC y un

25 capuchón con punta de goma FM 27.

En un aspecto, se proporciona un kit que comprende una composición farmacéutica de cualquiera de los aspectos precedentes, un envase e instrucciones. En

una realización, el envase es una jeringa precargada. En una realización en particular, la jeringa es una jeringa de cristal NUOVA OMPI de 1 ml de longitud equipada con una aguja de pared fina 27-G, un tapón de goma 4023/50 cubierto de FLUROTEC y un capuchón con punta de goma FM 27.

5 Otras realizaciones de la presente invención resultarán obvias tras la revisión de la descripción detallada a continuación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir la presente invención, deberá entenderse que esta invención no se limita a los métodos particulares y condiciones experimentales descritas, ya que
10 dichos métodos y condiciones pueden variar. Deberá entenderse además que la terminología empleada en esta memoria se utiliza únicamente con el fin de describir realizaciones en particular y no pretender ser limitativa, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de otra forma, todos los términos técnicos y específicos
15 empleados en esta memoria tienen el mismo significado que generalmente le daría un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. Tal y como se emplea en la presente memoria, el término “aproximadamente”, cuando se usa en referencia a un valor numérico o intervalo de valores citados en particular, significa que el valor puede variar respecto al valor citado en no más del 1%. Por ejemplo, tal y como ya se
20 ha empleado en esta memoria, la expresión “aproximadamente 100” incluye 99 y 101 y todos los valores entre ellos (p. ej., 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque algunos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en esta memoria pueden utilizarse en la práctica o análisis de la presente invención, los métodos y materiales preferidos se describen a continuación. Todas las publicaciones
25 mencionadas en esta memoria se incorporan en la misma por referencia para describirla en su totalidad.

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Tal y como se utiliza en esta memoria, la expresión “formulación farmacéutica” significa una combinación de al menos un principio activo (p. ej., una molécula pequeña, macromolécula, compuesto, etc. que es capaz de ejercer un efecto biológico en un ser humano o en un animal no humano) y al menos un principio inactivo que, al combinarse con el principio activo o uno o más de los principios inactivos adicionales, es apta para su administración terapéutica a un ser humano o a un animal no humano. El término “formulación”, tal y como se emplea en esta memoria, significa “formulación farmacéutica”, a menos que se indique específicamente lo contrario. La presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden al menos un polipéptido terapéutico. Según ciertas realizaciones de la presente invención, el polipéptido terapéutico es un anticuerpo, o un fragmento del mismo que se une a un antígeno, que se une específicamente a la proteína humana proproteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9 (PCSK9). Más específicamente, la presente invención incluye formulaciones farmacéuticas que comprenden: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la PCSK9 humana (ii) un tampón de histidina; (iii) un codisolvente orgánico que es un tensioactivo no iónico; (iv) un estabilizador térmico que es un carbohidrato y, opcionalmente, (v) un reductor de la viscosidad que es una sal. A continuación se describen en detalle componentes y formulaciones específicas a modo de ejemplo que se incluyen en la presente invención.

ANTICUERPOS QUE SE UNEN ESPECÍFICAMENTE A LA PCSK9

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender un anticuerpo humano, o un fragmento del mismo que se une a un antígeno, que se une específicamente a la PCSK9 humana. Tal y como se emplea en esta memoria, el término “PCSK9” significa una proproteína humana convertasa que pertenece a la subfamilia de la proteinasa K de la familia de la subtilasa secretora. Las pruebas sugieren que la PCSK9 aumenta los niveles de LDL del plasma al unirse al receptor de

la partícula de lipoproteína de baja densidad y promover su degradación. Una secuencia de aminoácido PCSK9 humano ejemplar se describe en SEC ID N°: 9. Los anticuerpos contra la PCSK9 humana se describen en las solicitudes de publicación de patente US 2010/0166768, US 2011/0065902 y WO 2010/077854.

5 El término "anticuerpo" tal y como se emplea en esta memoria, generalmente se refiere a moléculas de inmunoglobulina que comprende cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como sus multímeros (p. ej., IgM); sin embargo, las moléculas de inmunoglobulina que consisten solo en cadenas pesadas (es decir, que no tienen

10 cadenas ligeras) se incluyen también en la definición del término "anticuerpo". Cada una de las cadenas pesadas comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en esta memoria como HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada

15 en esta memoria como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones de marco (FR). Cada V_H y V_L está compuesta

20 de tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

A menos que se indique específicamente lo contrario, se deberá entender que el término "anticuerpo", tal y como se emplea en esta memoria, incluye moléculas de anticuerpo completas así como fragmentos de los mismos que se unen a antígenos. El

25 término "porción que se une a un antígeno" o "fragmento que se une a un antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo" o "fragmento de anticuerpo") tal y como se emplea en esta memoria, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la habilidad de unirse específicamente a la PCSK9 humana o a un

epítopo de la misma.

Un "anticuerpo aislado", tal y como se emplea en esta memoria, pretende hacer referencia a un anticuerpo que está substancialmente libre de otros anticuerpos que tienen otras especificidades antigénicas diferentes (p. ej., un anticuerpo aislado que se une específicamente a la PCSK9 humana está substancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos diferentes a la PCSK9 humana).

La expresión "se une específicamente", o similar, significa que un anticuerpo o fragmento del mismo se une a un antígeno que forma un compuesto con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica puede estar caracterizada por una constante de disociación de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M o mayor. Los métodos para determinar si dos moléculas se unen específicamente son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, diálisis de equilibrio, resonancia de plasmón superficial, y similares. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la PCSK9 humana puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, como las moléculas de PCSK9 de otras especies (ortólogos). En el contexto de la presente invención, se considera que los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) que se unen a la PCSK9 humana y a uno o más antígenos adicionales se "unen específicamente" a la PCSK9 humana. Además, un anticuerpo aislado puede estar substancialmente libre de otros materiales celulares o productos químicos.

Los anticuerpos anti PCSK9 humana ejemplares que pueden incluirse en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención están establecidos en las publicaciones de solicitud de patente US 2010/0166768, US 2011/0065902 y WO 2010/077854, cuyas descripciones se incorporan por referencia en su totalidad.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, el anticuerpo mAb-316P anti-PCSK9 humana es una IgG1 humana que comprende una región variable de cadena pesada que es del subtipoIGHV3-23 y una región variable de cadena ligera que es del subtipoIGKV4-1 (véase Barbie y Lefranc, The Human Immunoglobulin Kappa Variable

(IGKV) Genes and Joining (IGKJ) Segments, Exp. Clin. Immunogenet. 1998; 15: 171-183; y Scaviner, D. et al., Protein Displays of the Human Immunoglobulin Heavy, Kappa and Lambda Variable and Joining Regions, Exp. Clin. Immunogenet., 1999; 16: 234-240).

5 En algunas realizaciones, el mAb-316P anti-PCSK9 humana comprende al menos una sustitución de aminoácido, que resulta en un cambio de carga en una superficie expuesta del anticuerpo relativo a la secuencia de línea germinal IGKV4-1. La secuencia de línea germinal IGKV4-1, y los números de designación de la posición del aminoácido presentados en esta memoria van acordes con el sistema de información

10 internacional de ImMunoGeneTics (IMGT), según se describe en Lefranc, M.-P., et al., IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system®, Nucl. Acids Res, 37, D1006-D1012 (2009). En algunas realizaciones, la superficie expuesta comprende una región determinante de complementariedad (CDR). En algunas realizaciones, la sustitución o sustituciones de aminoácidos se seleccionan del grupo que consiste en un

15 aminoácido básico sustituido por un aminoácido polar no cargado dentro de la CDR1 (p. ej., en la posición 32) de la IGKV4-1. Se esperaría que las permutaciones únicas en la distribución de la carga de un anticuerpo, especialmente en una interfaz ambiental (como, p. ej., en una CDR), crearan condiciones impredecibles a la hora de mantener o avanzar la estabilidad del anticuerpo en solución.

20 En algunas realizaciones, el anticuerpo mAb-316P anti-PCSK9 humana comprende al menos una sustitución de aminoácido, lo que crea un cambio de carga dentro de una región marco de una región variable del anticuerpo relativa a la secuencia de línea germinal IGHV3-23 o la secuencia de línea germinal IGKV4-1. En algunas realizaciones, la sustitución o sustituciones de aminoácidos se seleccionan del grupo

25 que consiste en (a) un aminoácido hidrófobo sustituido por un aminoácido polar en la región marco 3 (FR3) (p. ej., en la posición 77) de la IGHV3-23, y (b) un aminoácido polar sustituido por un aminoácido básico en la región marco 2 (FR2) (por ejemplo, en la posición 51) de la IGKV4-1. Se esperaría que los cambios en cuanto a la capacidad

de plegamiento de la cadena peptídica, especialmente dentro de una región marco, que afecta a la interfaz de la CDR con el disolvente, crearan condiciones impredecibles a la hora de mantener o avanzar la estabilidad del anticuerpo en solución.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, el anticuerpo anti-PCSK9 humana, o fragmento del mismo que se une a un antígeno, comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 de SEC ID N°: 2, una HCDR2 de SEC ID N°: 3 y una HCDR3 de SEC ID N°: 4. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 humana, o fragmento del mismo que se une a un antígeno, comprende un HCVD de SEC ID N°: 1.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, el anti-PCSK9 humana, o fragmento del mismo que se une a un antígeno, comprende una región determinante de complementariedad de cadena (kappa) ligera (LCDR) 1 de SEC ID N°: 6, una LCDR2 de SEC ID N°: 7 y una LCDR3 de SEC ID N°: 8. En ciertas realizaciones el anticuerpo anti-PCSK9 humana, o fragmento del mismo que se une a un antígeno, comprende un LCVD de SEC ID N°: 5.

Se hace referencia al anticuerpo ejemplar no limitativo utilizado en los Ejemplos de la presente memoria como "mAb-316P". También se hace referencia a este anticuerpo en el documento US 7.608.693 como H4H098P. El mAb-316P (H4H098P) comprende un par de secuencias de aminoácidos que tienen HCVR/LCVR de SEC ID N°: 1/5 y dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3 representados por las SEC ID Nos: 2-3-4 / SEC ID Nos: 6-7-8.

La cantidad de anticuerpo, o de fragmentos de unión a antígeno del mismo, contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede variar dependiendo de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como de las circunstancias y fines particulares para los que se pretenda utilizar las formulaciones. En ciertas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas son formulaciones líquidas que pueden contener $50 \pm 7,5$ mg/ml a $250 \pm 37,5$ mg/ml del

anticuerpo; 60 ± 9 mg/ml a 240 ± 36 mg/ml del anticuerpo; $70 \pm 10,5$ mg/ml a $230 \pm 34,5$ mg/ml del anticuerpo; 80 ± 12 mg/ml a 220 ± 33 mg/ml del anticuerpo; $90 \pm 13,5$ mg/ml a $210 \pm 31,5$ mg/ml del anticuerpo; 100 ± 15 mg/ml a 200 ± 30 mg/ml del anticuerpo; $110 \pm 16,5$ mg/ml a $190 \pm 28,5$ mg/ml del anticuerpo; 120 ± 18 mg/ml a 180 ± 27 mg/ml del anticuerpo; $130 \pm 19,5$ mg/ml a $170 \pm 25,5$ mg/ml del anticuerpo; 140 ± 21 mg/ml a 160 ± 24 mg/ml del anticuerpo; $150 \pm 22,5$ mg/ml del anticuerpo; o $175 \pm 26,25$ mg/ml. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden comprender aproximadamente 50 mg/ml; aproximadamente 60 mg/ml; aproximadamente 65 mg/ml; aproximadamente 70 mg/ml; aproximadamente 75 mg/ml; aproximadamente 80 mg/ml; aproximadamente 85 mg/ml; aproximadamente 90 mg/ml; aproximadamente 95 mg/ml; aproximadamente 100 mg/ml; aproximadamente 105 mg/ml; aproximadamente 110 mg/ml; aproximadamente 115 mg/ml; aproximadamente 120 mg/ml; aproximadamente 125 mg/ml; aproximadamente 130 mg/ml; aproximadamente 135 mg/ml; aproximadamente 140 mg/ml; aproximadamente 145 mg/ml; aproximadamente 150 mg/ml; aproximadamente 155 mg/ml; aproximadamente 160 mg/ml; aproximadamente 165 mg/ml; aproximadamente 170 mg/ml; aproximadamente 175 mg/ml; aproximadamente 180 mg/ml; aproximadamente 185 mg/ml; aproximadamente 190 mg/ml; aproximadamente 195 mg/ml; aproximadamente 200 mg/ml; aproximadamente 205 mg/ml; aproximadamente 210 mg/ml; aproximadamente 215 mg/ml; aproximadamente 220 mg/ml; aproximadamente 225 mg/ml; aproximadamente 230 mg/ml; aproximadamente 235 mg/ml; aproximadamente 240 mg/ml; aproximadamente 245 mg/ml o aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo o de un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la PCSK9 humana.

25 EXCIPIENTES y pH

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención comprenden uno o más excipientes. El término "excipiente", tal y como se usa en la presente memoria, significa

cualquier agente no terapéutico añadido a la formulación para proporcionar consistencia, viscosidad o efecto estabilizador deseado.

En ciertas realizaciones, la formulación farmacéutica de la invención comprende al menos un codisolvente orgánico de un tipo y en una cantidad que estabiliza el anticuerpo PCSK9 humano en condiciones de manipulación brusca o agitación, tal y como, p. ej. agitación vorticial. En algunas realizaciones, "estabiliza" significa la prevención de la formación de más del 3% de anticuerpo agregado de la cantidad total del anticuerpo (desde el punto de vista de su molaridad) durante una manipulación brusca. En algunas realizaciones, una manipulación brusca es una agitación vorticial de una solución que contiene el anticuerpo y el codisolvente orgánico durante aproximadamente 60 minutos o aproximadamente 120 minutos.

En ciertas realizaciones, el codisolvente orgánico es un tensioactivo no iónico, tal y como un alquil poli(óxido de etileno). Algunos tensioactivos no iónicos específicos que pueden incluirse en las formulaciones de la presente invención incluyen, p. ej., polisorbato tal como polisorbato 20, polisorbato 28, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81 y polisorbato 85; poloxámeros como el poloxámero 181, poloxámero 188, poloxámero 407 o polietilenglicol (PEG). El polisorbato 20 también se conoce como TWEEN 20, monolaurato de sorbitán y monolaurato de polioxietilensorbitán. El poloxámero 188 también se conoce como PLURONIC F68.

La cantidad de tensioactivo no iónico contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención puede variar dependiendo de las propiedades específicas deseadas de las formulaciones, así como de las circunstancias y fines particulares para los que se pretende utilizar las formulaciones. En ciertas realizaciones, las formulaciones pueden contener $0,01\% \pm 0,0015\%$ a $0,2\% \pm 0,03\%$ de tensioactivo. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden comprender aproximadamente 0,0085%; aproximadamente 0,01%; aproximadamente 0,02%; aproximadamente 0,03%; aproximadamente 0,04%; aproximadamente 0,05%;

aproximadamente 0,06%; aproximadamente 0,07%; aproximadamente 0,08%;
aproximadamente 0,09%; aproximadamente 0,1%; aproximadamente 0,11%;
aproximadamente 0,12%; aproximadamente 0,13%; aproximadamente 0,14%;
aproximadamente 0,15%; aproximadamente 0,16%; aproximadamente 0,17%;
5 aproximadamente 0,18%; aproximadamente 0,19%; aproximadamente 0,20%;
aproximadamente 0,21%; aproximadamente 0,22% o aproximadamente 0,23% de
polisorbato 20 o poloxámero 188.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden
comprender uno o más estabilizadores de un tipo y en una cantidad que estabilicen el
10 anticuerpo PCSK9 humano en condiciones de estrés térmico. En algunas realizaciones,
“estabiliza” significa que mantiene más de aproximadamente el 91% del anticuerpo en
su conformación nativa cuando la solución que contiene el anticuerpo y el estabilizador
térmico se mantiene a aproximadamente 45 °C durante hasta aproximadamente 28
días. En algunas realizaciones, a lo que se refiere “estabiliza”, es en donde menos de
15 aproximadamente el 6% del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el
anticuerpo y el estabilizador térmico se mantiene a aproximadamente 45 °C durante
hasta aproximadamente 28 días. Tal y como se emplea en esta memoria, “nativo”
significa la forma principal del anticuerpo por exclusión de tamaño, que generalmente
es un monómero intacto del anticuerpo.

20 En ciertas realizaciones, el estabilizador térmico es un azúcar o alcohol de azúcar
seleccionado de sacarosa, trehalosa y manitol, o cualquier combinación de los mismos,
cuyas cantidades contenidas en la formulación pueden variar dependiendo de las
circunstancias y fines específicos para los que se utilice la formulación. En ciertas
realizaciones, las formulaciones pueden contener de aproximadamente el 3% a
25 aproximadamente el 14% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente el 4% a
aproximadamente el 13% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente el 5 % a
aproximadamente el 12% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente el 6% a
aproximadamente el 11% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente el 7% a

aproximadamente el 10% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente el 8% a aproximadamente el 9% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente del 4% a aproximadamente el 6% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 7% de azúcar o alcohol de azúcar; de aproximadamente el 9% a
5 aproximadamente el 11% de azúcar o alcohol de azúcar o de aproximadamente el 11% a aproximadamente el 13% de azúcar o alcohol de azúcar. Por ejemplo las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender $4\% \pm 0,6\%$; $5\% \pm 0,75\%$; $6\% \pm 0,9\%$; $7\% \pm 1,05\%$; $8\% \pm 1,2\%$; $9\% \pm 1,35\%$; $10\% \pm 1,5\%$; $11\% \pm 1,65\%$; $12\% \pm 1,8\%$; $13\% \pm 1,95\%$ o aproximadamente $14\% \pm 2,1\%$ de azúcar o alcohol
10 de azúcar (por ejemplo, sacarosa, trehalosa o manitol).

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender un tampón o sistema tampón, que sirve para mantener un pH estable y para ayudar a estabilizar el anticuerpo PCSK9 humano. En algunas realizaciones, a lo que se refiere "estabiliza" es donde menos del $4,5\% \pm 0,5\%$ o menos del $6,0 \pm 0,5\%$ del
15 anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantienen a aproximadamente $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta aproximadamente 28 días. En algunas realizaciones, a lo que se refiere "estabiliza" es donde menos del $3\% \pm 0,5\%$ o menos del $2,6\% \pm 0,5\%$ del anticuerpo se agrega cuando la solución que contiene el anticuerpo del tampón se mantiene a aproximadamente $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta aproximadamente
20 28 días. En algunas realizaciones, a lo que se refiere "estabiliza" es donde al menos el $91\% \pm 0,5\%$ o al menos el $92\% \pm 0,5\%$ del anticuerpo está en su conformación nativa tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantienen a aproximadamente $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante hasta aproximadamente 28 días. En algunas realizaciones, a lo que se refiere
25 "estabiliza" es donde al menos el $94\% \pm 0,5\%$ o al menos el $95\% \pm 0,5\%$ del anticuerpo está en su conformación nativa tal y como determinó la cromatografía de exclusión por tamaño cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantiene a

aproximadamente 37 °C durante hasta aproximadamente 28 días. "Nativo" o "conformación nativa", significa la fracción del anticuerpo que no está agregada o degradada. Esto viene generalmente determinado por un ensayo que mide el tamaño relativo de la entidad anticuerpo, tal y como realiza el ensayo de cromatografía de exclusión por tamaño. El anticuerpo no agregado y no degradado se eluye a una fracción que es igual al anticuerpo nativo y es generalmente la fracción de elución principal. El anticuerpo agregado se eluye a una fracción que indica un tamaño mayor que el anticuerpo nativo. El anticuerpo degradado se eluye a una fracción que indica un tamaño menor que el anticuerpo nativo.

- 10 En algunas realizaciones, a lo que se refiere "estabiliza" es donde al menos el 38% $\pm 0,5\%$ o al menos el 29% $\pm 0,5\%$ del anticuerpo está en su forma de carga principal, tal y como determinó la cromatografía de intercambio catiónico, cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantienen a aproximadamente 45 °C durante hasta aproximadamente 28 días. En algunas realizaciones, a lo que se refiere
- 15 "estabiliza" es donde al menos el 46% $\pm 0,5\%$ o al menos el 39% $\pm 0,5\%$ del anticuerpo está en su forma de carga principal, tal y como determinó la cromatografía de intercambio catiónico, cuando la solución que contiene el anticuerpo y el tampón se mantienen aproximadamente a 37 °C durante hasta aproximadamente 28 días. "Carga principal" o "forma de carga principal", significa la fracción del anticuerpo que se eluye
- 20 de una resina de intercambio iónico en el pico principal, que generalmente está flanqueado por picos más "básicos" a un lado y picos más "ácidos" al otro lado.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden tener un pH de aproximadamente 5,2 a aproximadamente 6,4. Por ejemplo, las formulaciones de la presente invención pueden tener un pH de aproximadamente 5,5; aproximadamente

25 5,6; aproximadamente 5,7; aproximadamente 5,8; aproximadamente 5,9; aproximadamente 6,0; aproximadamente 6,1; aproximadamente 6,2; aproximadamente 6,3; aproximadamente 6,4; o aproximadamente 6,5. En algunas realizaciones, el pH es

$6,0 \pm 0,4$; $6,0 \pm 0,3$; $6,0 \pm 0,2$; $6,0 \pm 0,1$; aproximadamente 6,0; o 6,0.

En algunas realizaciones, el tampón o sistema tampón comprende al menos un tampón que tiene un intervalo de tampón que se solapa completamente o en parte con el intervalo del pH 5,5 – 7,4. En una realización, el tampón tiene un pKa de
5 aproximadamente $6,0 \pm 0,5$. En ciertas realizaciones, el tampón comprende un tampón de histidina. En ciertas realizaciones, la histidina está presente a una concentración de $5 \text{ mM} \pm 0,75 \text{ mM}$ a $15 \text{ mM} \pm 2,25 \text{ mM}$; $6 \text{ mM} \pm 0,9 \text{ mM}$ a $14 \text{ mM} \pm 2,1 \text{ mM}$; $7 \text{ mM} \pm 1,05 \text{ mM}$ a $13 \text{ mM} \pm 1,95 \text{ mM}$; $8 \text{ mM} \pm 1,2 \text{ mM}$ a $12 \text{ mM} \pm 1,8 \text{ mM}$; $9 \text{ mM} \pm 1,35 \text{ mM}$ a $11 \text{ mM} \pm 1,65 \text{ mM}$; $10 \text{ mM} \pm 1,5 \text{ mM}$; o aproximadamente 10 mM. En ciertas realizaciones,
10 el sistema tampón comprende histidina a $10 \text{ mM} \pm 1,5 \text{ mM}$, a un pH de $6,0 \pm 0,3$.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender uno o más excipientes que sirven para mantener una viscosidad reducida o para rebajar la viscosidad de las formulaciones que contienen una elevada concentración de la sustancia farmacológica con anticuerpo anti-PCSK9 (p. ej., en
15 general $> 150 \text{ mg/ml}$ del anticuerpo). En algunas realizaciones, la formulación comprende arginina en una cantidad suficiente para mantener la viscosidad de la formulación líquida a menos de $20 \pm 3 \text{ cPoise}$, menos de $15 \pm 2,25 \text{ cPoise}$, o menos de $11 \pm 1,65 \text{ cPoise}$. En algunas realizaciones, la formulación comprende arginina en una cantidad suficiente para mantener la viscosidad a un nivel igual o inferior a $10,6 \pm 1,59$
20 cPoise. En ciertas realizaciones, la formulación farmacéutica de la presente invención contiene arginina preferiblemente como hidrocloreuro de L-arginina, a una concentración de $10 \text{ mM} \pm 1,5 \text{ mM}$ a $90 \text{ mM} \pm 13,5 \text{ mM}$, $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ a $80 \text{ mM} \pm 12 \text{ mM}$, $30 \text{ mM} \pm 4,5 \text{ mM}$ a $70 \text{ mM} \pm 10,5$, $40 \text{ mM} \pm 6 \text{ mM}$ a $60 \pm 9 \text{ mM}$ o $50 \text{ mM} \pm 7,5 \text{ mM}$.

FORMULACIONES EJEMPLARES

25 Según un aspecto de la presente invención la formulación farmacéutica es una formulación líquida de baja viscosidad, generalmente fisiológicamente isotónica, que

comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a la PCSK9 humana (p. ej., mAb-316P), a una concentración de 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml, 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml, 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml o 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml; (ii) un sistema tampón que proporciona suficiente tampón a aproximadamente un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) un azúcar que
5 sirve, entre otras cosas, como estabilizador térmico; (iv) un codisolvente orgánico, que protege la integridad estructural del anticuerpo; y (v) una sal de un aminoácido, que mantiene la viscosidad adecuada para ser inyectada en un volumen conveniente para su administración por vía subcutánea.

Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo
10 humano IgG1 que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende una región variable de cadena pesada de tipo IGHV3-23 sustituida y una región variable de cadena ligera de tipo IGLV4-1 sustituida (p. ej., mAb-316P) a una concentración de 50 $\pm$ 7,5 mg/ml a aproximadamente 175 $\pm$ 26,25 mg/ml; (ii) un sistema tampón que comprende histidina que actúa como tampón de forma efectiva a aproximadamente un
15 pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa; (iv) un detergente no iónico, tal y como un polisorbato; y opcionalmente (v) una sal de arginina.

Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende una HCDR1 de SEC ID N °: 2, una HCDR2 de SEC ID N °: 3, una HCDR3 de SEC ID N °: 4,
20 una LCDR1 de SEC ID N °: 6, una LCDR2 de SEC ID N °: 7 y una LCDR3 de SEC ID N °: 8, a una concentración de 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml; (ii) histidina al 10 mM $\pm$ 1,5 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa al 5% p/v $\pm$ 0,75% p/v; (iv) polisorbato 20 a 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v y (v) hidrocloreto de L-arginina a 50 mM $\pm$ 7,5 mM.

25 Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende una HCDR1 de SEC ID N °: 2, una HCDR2 de SEC ID N °: 3, una HCDR3 de SEC ID N °: 4,

una LCDR1 de SEC ID N °: 6, una LCDR2 de SEC ID N °: 7 y una LCDR3 de SEC ID N °: 8, a una concentración de aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml; (ii) histidina a 10 mM $\pm$ 1,5 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa a 10% p/v $\pm$ 1,5% p/v y (iv) polisorbato 20 a 0,2% p/v $\pm$ 0,03% p/v o 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v.

5 Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende una HCDR1 de SEC ID N °: 2, una HCDR2 de SEC ID N °: 3, una HCDR3 de SEC ID N °: 4, una LCDR1 de SEC ID N °: 6, una LCDR2 de SEC ID N °: 7 y una LCDR3 de SEC ID N °: 8, a una concentración de aproximadamente 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml; (ii) histidina a
10 aproximadamente 20 mM $\pm$ 3 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa a 12% p/v $\pm$ 1,8% p/v y (iv) polisorbato 20 a 0,2% p/v $\pm$ 0,03% p/v o 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v.

Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano IgG1 que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende una
15 HCDR1 de SEC ID N °: 2, una HCDR2 de SEC ID N °: 3, una HCDR3 de SEC ID N °: 4, una LCDR1 de SEC ID N °: 6, una LCDR2 de SEC ID N °: 7 y una LCDR3 de SEC ID N °: 8, a una concentración de aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml; (ii) histidina a 10 mM $\pm$ 1,5 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa al 6% p/v $\pm$ 0,9% p/v y (iv) polisorbato 20 a 0,1% p/v $\pm$ 0,015% p/v o 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v.

20 Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende un dominio variable de cadena pesada de SEC ID N °: 1 y un dominio variable de cadena ligera de SEC ID N °: 5, a una concentración de 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml; (ii) histidina a 10 mM $\pm$ 1,5 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa al 5% p/v $\pm$
25 0,75% p/v; (iv) polisorbato 20 a 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v e (v) hidrocloreuro de L-arginina a 50 mM $\pm$ 7,5 mM.

Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo

IgG1 humano que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende un domino variable de cadena pesada de SEC ID N °: 1 y un dominio variable de cadena ligera de SEC ID N °: 5, a una concentración de 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml; (ii) histidina a 10 mM $\pm$ 1,5 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa al 10% p/v $\pm$ 1,5% p/v y (iv) polisorbato 20 a 0,2% p/v $\pm$ 0,03% p/v o 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v.

Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende un domino variable de cadena pesada de SEC ID N °: 1 y un dominio variable de cadena ligera de SEC ID N °: 5, a una concentración de aproximadamente 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml; (ii) histidina a aproximadamente 20 mM $\pm$ 3 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa al 12% p/v $\pm$ 1,8% p/v; y (iv) polisorbato 20 a 0,2% p/v $\pm$ 0,03% p/v o 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v.

Según una realización, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo IgG1 humano que se une específicamente a la PCSK9 humana y que comprende un domino variable de cadena pesada de SEC ID N °: 1 y un dominio variable de cadena ligera de SEC ID N °: 5, a una concentración de aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml; (ii) histidina a 10 mM $\pm$ 1,5 mM, que actúa como tampón a un pH 6,0 $\pm$ 0,3; (iii) sacarosa al 6% p/v $\pm$ 0,9% p/v y (iv) polisorbato 20 a 0,1% p/v $\pm$ 0,015% p/v o 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% p/v.

Ejemplos adicionales no limitativos de formulaciones farmacéuticas incluidas en la presente invención se presentan en otra parte de la presente memoria, incluidos los Ejemplos de trabajo presentados a continuación.

ESTABILIDAD Y VISCOSIDAD DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención normalmente muestran niveles de estabilidad elevados. El término “estable”, tal y como se emplea en esta memoria en referencia a las formulaciones farmacéuticas, significa que los anticuerpos

dentro de las formulaciones farmacéuticas retienen un grado aceptable de estructura química o función biológica después de su almacenamiento en condiciones definidas. Una formulación puede permanecer estable incluso si el anticuerpo que contiene no mantiene el 100% de su estructura química o función biológica después del almacenamiento durante un periodo de tiempo definido. En ciertas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente el 90%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98% o aproximadamente 99% de la estructura o función de un anticuerpo después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido puede considerarse como "estable".

10 La estabilidad puede medirse, entre otros métodos, determinando el porcentaje de anticuerpo nativo que permanece en la formulación después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido a una temperatura definida. El porcentaje de anticuerpo nativo puede determinarse, entre otros métodos, por cromatografía de exclusión por tamaño (p. ej., cromatografía líquida de alto rendimiento y exclusión por tamaño [SE-HPLC]), de forma que nativo significa no agregado y no degradado. Un "grado de estabilidad aceptable", tal y como se emplea en esta memoria, significa que al menos el 90% de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido a una temperatura dada. En ciertas realizaciones, al menos aproximadamente el 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, el 99% o 100% de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo determinado a una temperatura definida. La cantidad de tiempo definida después de la cual se mide la estabilidad puede ser al menos 14 días, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura definida a la que la formulación farmacéutica puede almacenarse cuando se evalúa la estabilidad puede

ser cualquier temperatura desde aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, p. ej., almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4 °-8°C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, más de aproximadamente el 94%, 95%, 96%, 97% o 98% del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 25 °C, más de aproximadamente el 94%, 95%, 96%, 97% o 98% del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 45 °C más de aproximadamente el 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% o 98% del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -20 °C, más de aproximadamente el 96%, 97% o 98% del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -30 °C, más de aproximadamente el 96%, 97% o 98% del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -80 °C, más de aproximadamente el 96%, 97% o 98% del anticuerpo nativo se detecta por SE-HPLC.

La estabilidad puede medirse, entre otros métodos, determinando el porcentaje de anticuerpo que se forma en un agregado dentro de la formulación después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido a una temperatura definida, donde la estabilidad es inversamente proporcional al porcentaje de agregado que se forma. El porcentaje de anticuerpo agregado se puede determinar, entre otros métodos, por cromatografía de exclusión por tamaño (p. ej., cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión por tamaño [SE-HPLC]). Un "grado de estabilidad aceptable",

tal y como se emplea en esta memoria, significa que como máximo el 6% del anticuerpo está en forma agregada detectado en la formulación después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido a una temperatura dada. En ciertas realizaciones un grado de estabilidad aceptable significa que puede detectarse un máximo de aproximadamente 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% de anticuerpo en un agregado en la formulación después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido a una temperatura dada. La cantidad de tiempo definida después de la cual se mide la estabilidad puede ser de al menos 2 semanas, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura a la cual la formulación farmacéutica se puede almacenar al evaluar la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, p. ej., almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 37 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de 6 meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente el 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo se detecta en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de seis meses de almacenamiento a 25 °C, menos de aproximadamente el 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo se detecta en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 45 °C, menos de aproximadamente el 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo se detecta en forma agregada. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -20 °C, -30 °C o -80 °C menos de aproximadamente el 3%, 2%, 1%,

0,5% o 0,1% del anticuerpo se detecta en forma agregada.

La estabilidad puede medirse, entre otros métodos, determinando el porcentaje de anticuerpo que migra en una fracción más ácida durante el intercambio iónico ("forma ácida") que en la fracción principal del anticuerpo ("forma con carga principal"), en donde la estabilidad es inversamente proporcional a la fracción del anticuerpo en la forma ácida. Aunque sin desear ligarse a una teoría, la desamidación del anticuerpo puede provocar que el anticuerpo se cargue más negativamente y así se vuelva más ácido en relación al anticuerpo no desamidado (véase, p. ej. Robinson, N., Protein Deamidation, *PNAS*, April 16, 2002, 99(8): 5283-5288). El porcentaje de anticuerpo "acidificado" puede determinarse, entre otros métodos, por cromatografía de intercambio iónico (p. ej., cromatografía líquida de alto rendimiento e intercambio catiónico [CEX-HPLC]). Un "grado de estabilidad aceptable", tal como se expresa en la presente memoria, significa que como máximo un 49% del anticuerpo que se detecta en la formulación está en una forma más ácida después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido y a una temperatura definida. En ciertas realizaciones un grado de estabilidad aceptable significa que como máximo aproximadamente del 49%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo puede detectarse en una forma ácida en la formulación después de su almacenamiento durante un periodo de tiempo definido a una temperatura dada. La cantidad de tiempo definida después de la cual se mide la estabilidad puede ser al menos de 2 semanas, al menos 28 días, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses o más. La temperatura a la que la formulación farmacéutica puede almacenarse al evaluar la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, p. ej., almacenamiento a aproximadamente -80 °C, aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 4 °-8°C,

aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, una formulación farmacéutica puede considerarse estable si después de tres meses de almacenamiento a -80 °C, -30 °C o -20 °C menos de aproximadamente el 30%, 29%, 28%, 27%, 26%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo está en una forma más ácida. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de seis meses de almacenamiento a 5 °C, menos de aproximadamente el 32%, 31%, 30%, 29%, 28%, 27%, 26%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo está en una forma más ácida. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de seis meses de almacenamiento a 25 °C, menos de aproximadamente el 43%, 42%, 41%, 40%, 39%, 38%, 37%, 36%, 35%, 34%, 33%, 32%, 31%, 30%, 29%, 28%, 27%, 26%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo está en una forma más ácida. Una formulación farmacéutica también puede considerarse estable si después de 28 días de almacenamiento a 45 °C, menos de aproximadamente el 49%, 48%, 47%, 46%, 45%, 44%, 43%, 42%, 41%, 40%, 39%, 38%, 37%, 36%, 35%, 34%, 33%, 32%, 31%, 30%, 29%, 28%, 27%, 26%, 25%, 24%, 23%, 22%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o 0,1% del anticuerpo puede detectarse en una forma más ácida.

Para evaluar la estabilidad de las formulaciones de la presente invención pueden utilizarse otros métodos, tales como p. ej., la calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar la estabilidad térmica, la agitación controlada para determinar la estabilidad mecánica y la absorbancia a aproximadamente 350 nm o aproximadamente 405 nm para determinar la turbidez de la solución. Por ejemplo, una formulación de la presente invención puede considerarse estable si, después de 6 meses o más de almacenamiento de aproximadamente 5 °C a aproximadamente 25 °C, el cambio de la

DO₄₀₅ de la formulación es menor de aproximadamente 0,05 (p. ej., 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, o menos) de la DO₄₀₅ de la formulación a tiempo cero.

La medición de la actividad biológica o afinidad de unión del anticuerpo a su diana también puede utilizarse para evaluar la estabilidad. Por ejemplo, una formulación de la presente invención puede considerarse estable si después de almacenamiento a, p. ej., 5 °C, 25 °C, 45 °C, etc. durante un periodo de tiempo definido (p. ej. 1 a 12 meses), el anticuerpo anti-PCSK9 contenido dentro de la formulación se une a PCSK9 con una afinidad que es al menos el 90%, 95% o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicho almacenamiento. La afinidad de unión puede determinarse, p. ej., por ELISA o por resonancia de plasmón. La actividad biológica puede determinarse por un ensayo de actividad de PCSK9, tal como, p. ej., poner en contacto una célula que exprese PCSK9 con la formulación que comprende el anticuerpo anti PCSK9. La unión del anticuerpo con dicha célula puede medirse directamente, tal como, p. ej., mediante análisis FACS. Alternativamente, la actividad aguas abajo del sistema PCSK9 puede medirse en presencia del anticuerpo y compararse con la actividad del sistema PCSK9 en ausencia del anticuerpo. En algunas realizaciones, PCSK9 puede ser endógeno a la célula. En otras realizaciones, PCSK9 puede expresarse de forma ectópica en la célula.

Otros métodos para evaluar la estabilidad de un anticuerpo en formulación se demuestran en los ejemplos presentados a continuación.

Las formulaciones farmacéuticas líquidas de la presente invención pueden, en ciertas realizaciones, mostrar niveles de viscosidad bajos a moderados. La “viscosidad” tal y como se emplea en esta memoria puede ser “viscosidad cinemática” o viscosidad absoluta”. La “viscosidad cinemática” es una medida del flujo resistivo de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos del mismo volumen se colocan en viscosímetros de igual capilaridad y se permite que fluyan por gravedad, un fluido viscoso tarda más tiempo que un fluido menos viscoso en fluir a través de la capilaridad. Por ejemplo, si un fluido tarda 200 segundos en completar su flujo y otro fluido tarda 400 segundos, el segundo fluido es dos veces más viscoso que el primero

en una escala de viscosidad cinemática. La “viscosidad absoluta”, a veces denominada viscosidad dinámica o simple, es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido (Viscosidad Absoluta = Viscosidad Cinemática x Densidad). La dimensión de la viscosidad cinemática es L^2/T donde L es una longitud y T es un tiempo.

5 Comúnmente, la viscosidad cinemática se expresa en centistokes (cSt). La unidad del SI de la viscosidad cinemática es mm^2/s , que es un 1 cSt. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad SI de viscosidad absoluta es el miliPascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s.

Tal y como se emplea en esta memoria, un nivel de viscosidad bajo, en referencia a
10 una formulación fluida de la presente invención, mostrará una viscosidad absoluta de menos de aproximadamente 15 cPoise (cP). Por ejemplo, se estimará que una formulación fluida de la invención tiene “baja viscosidad”, si, cuando se mide utilizando técnicas estándar de medición de la viscosidad, la formulación muestra una viscosidad absoluta de aproximadamente 15 cP, aproximadamente 14 cP, aproximadamente 13
15 cP, aproximadamente 12 cP, aproximadamente 11 cP, aproximadamente 10 cP, aproximadamente 9 cP, aproximadamente 8 cP o menos. Tal y como se usa en la presente memoria, un nivel de viscosidad moderado, en referencia a una formulación fluida de la presente invención, mostrará una viscosidad absoluta de entre aproximadamente 35 cP y aproximadamente 15 cP. Por ejemplo, estimará que una
20 formulación fluida de la invención tiene una “viscosidad moderada”, si al medirla utilizando técnicas estándar de medición de la viscosidad, la formulación muestra una viscosidad absoluta de aproximadamente 34 cP, aproximadamente 33 cP, aproximadamente 32 cP, aproximadamente 31 cP, aproximadamente 30 cP, aproximadamente 29 cP, aproximadamente 28 cP, aproximadamente 27 cP,
25 aproximadamente 26 cP, aproximadamente 25 cP, aproximadamente 24 cP, aproximadamente 23 cP, aproximadamente 22 cP, aproximadamente 21 cP, aproximadamente 20 cP, aproximadamente 19 cP, 18 cP, aproximadamente 17 cP, aproximadamente 16 cP, o aproximadamente 15.1 cP.

Tal y como se ilustra en los ejemplos a continuación, los presentes inventores han realizado el sorprendente descubrimiento de que pueden obtenerse formulaciones líquidas con una viscosidad de baja a moderada que comprenden concentraciones elevadas de un anticuerpo anti-PCSK9 humana (p. ej., de aproximadamente 100 mg/ml hasta al menos 200 mg/ml) formulando el anticuerpo con arginina de aproximadamente 25 mM a aproximadamente 100 mM. Además, también se descubrió que incluso podía disminuirse aún más la viscosidad de la formulación ajustando el contenido de sacarosa a menos de aproximadamente el 10%.

ENVASES Y MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluirse dentro de cualquier envase adecuado para el almacenamiento de medicinas y otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden incluirse en un envase de plástico o de cristal esterilizado y sellado que tenga un volumen definido tal y como un vial, ampolla, jeringa, cartucho o botella. Pueden utilizarse diferentes tipos de viales para contener las formulaciones de la presente invención incluyendo p. ej., viales de cristal o de plástico transparentes y opacos (p. ej., color ámbar). De igual forma, puede utilizarse cualquier tipo de jeringa para contener o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluirse en jeringas de "contenido normal de tungsteno" o en jeringas de "bajo contenido de tungsteno". Tal y como apreciarán los expertos habituales en la técnica, el proceso para elaborar jeringas de cristal generalmente implica la utilización de una varilla de tungsteno caliente con el objetivo de perforar el cristal y crear así un orificio por el que pueden introducirse y extraerse los líquidos de la jeringa. Este proceso resulta en la deposición de cantidades traza de tungsteno en la superficie interior de la jeringa. Pueden realizarse etapas posteriores de lavado y otras etapas de procesado para reducir la cantidad de tungsteno en la jeringa. Tal y como se emplea en esta memoria,

la expresión "contenido normal de tungsteno" significa que la jeringa contiene una cantidad mayor o igual a 500 partes por billón (ppb) de tungsteno. La expresión "bajo contenido de tungsteno" significa que la jeringa contiene menos de 500 ppb de tungsteno. Por ejemplo, una jeringa de bajo contenido de tungsteno, según la presente invención, puede contener menos de aproximadamente 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 o menos ppb de tungsteno.

Los émbolos de goma utilizados en las jeringas y los tapones de goma utilizados para cerrar la entrada de los viales, pueden cubrirse para impedir la contaminación del contenido medicinal de la jeringa o vial, o para conservar su estabilidad. Así, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, según ciertas realizaciones, pueden incluirse en una jeringa que comprenda un émbolo cubierto o en un vial que esté sellado con un tapón de goma cubierto. Por ejemplo, el émbolo o tapón puede estar cubierto de una película de fluorocarbono. Algunos ejemplos de tapones o émbolos cubiertos adecuados para utilizar con viales y jeringas que contienen formaciones farmacéuticas de la presente invención se mencionan, p. ej., en las Patentes de Estados Unidos Nos 4.997.423; 5.908.686; 6.286.699; 6.645.635; y 7.226.554, cuyos contenidos se incorporan en su totalidad por referencia en la presente memoria. Algunos ejemplos en particular de tapones y émbolos de goma cubiertos que pueden utilizarse en el contexto de la presente invención están disponibles comercialmente con el nombre comercial "FluroTec®", disponible en West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA). FluroTec® es un ejemplo de cobertura de fluorocarbono utilizada para minimizar o impedir que el producto farmacológico se adhiera a las superficies de goma.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, las formulaciones farmacéuticas pueden incluirse en una jeringa de bajo contenido de tungsteno que comprenda un émbolo cubierto de fluorocarbono.

Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente por vía

parenteral, tal y como por inyección (p. ej., subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o por administración percutánea, mucosa, nasal, pulmonar u oral.

Pueden utilizarse numerosos dispositivos de administración como plumas o autoinyectores reutilizables para administrar por vía subcutánea las formulaciones

5 farmacéuticas de la presente invención. Algunos ejemplos incluyen, pero sin limitación, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, Reino Unido), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™
10 (Novo Nordisk, Copenague, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Alemania). Algunos ejemplos de dispositivos de administración tales como plumas o autoinyectores desechables con aplicación en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente invención
15 incluyen, pero sin limitación, la pluma SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), el FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y el KWIKPEN™ (Eli Lilly), el Autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L. P.) y la Pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL).

El uso de un microinfusor para administrar las formulaciones farmacéuticas de la
20 presente invención también se contempla en la presente memoria. Tal y como se emplea en esta memoria, el término "microinfusor" significa un dispositivo de administración subcutánea diseñado para administrar lentamente grandes volúmenes (p. ej., hasta aproximadamente 2,5 ml o más) de una formulación terapéutica durante un periodo de tiempo prolongado (p. ej., aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30 o más
25 minutos). Véase p. ej., el documento U.S. 6.629.949; US 6.659.982 y Meehan *et al.*, *J. Controlled Release* 46: 107-116 (1996). Los microinfusores son especialmente útiles para administrar grandes dosis de proteínas terapéuticas incluidas en soluciones de alta concentración (p. ej., aproximadamente 100, 125, 150, 175, 200 o más mg/ml) o

viscosas.

En una realización, la formulación líquida farmacéutica que contiene aproximadamente 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9 se administra por vía subcutánea en un volumen de aproximadamente 1,14 ml $\pm$ 0,17 ml en una jeringa precargada. En una realización, la jeringa es una jeringa de cristal de 1 ml de longitud cargada con una aguja de pared fina de calibre 27, un émbolo de goma cubierto de fluorocarbono y una tapa de aguja de goma. En una realización, la jeringa es una jeringa de cristal OMPI de 1 ml de longitud provista de una aguja de calibre 27, un capuchón de goma FM27 para la aguja y un émbolo de goma 4023/50 cubierto de FLUROTEC®.

En una realización, la formulación farmacéutica líquida que contiene aproximadamente 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9 se administra por vía subcutánea en un volumen de aproximadamente 1 ml $\pm$ 0,15 ml en una jeringa precargada. En una realización, la jeringa es una jeringa de cristal de 1 ml de longitud cargada con una aguja de pared fina de calibre 27, un tapón de goma cubierto de fluorocarbono y un capuchón de goma para la aguja. En una realización, la jeringa es una jeringa de cristal OMPI de 1 ml de longitud provista de una aguja de calibre 27, un capuchón de goma FM27 para la aguja y un émbolo de goma 4023/50 cubierto de FLUROTEC®.

USOS TERAPÉUTICOS DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención son útiles, entre otros usos, para el tratamiento, la prevención o mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de PCSK9, incluyendo las enfermedades y los trastornos mediados por PCSK9. Algunas enfermedades y trastornos ejemplares, no limitativos, que pueden tratarse o evitarse por medio de la administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen diversas dislipidemias, tales como, p. ej., hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar, hiperlipidemia, hiperlipidemia

47

familiar, disbetalipoproteinemia, disbetalipoproteinemia familiar, hipertrigliceridemia e hipertrigliceridemia familiar.

EJEMPLOS

Para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción completa de cómo
5 elaborar y utilizar los métodos y composiciones de la invención Se presentan los
siguientes ejemplos y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores
consideran su invención. Se han realizado esfuerzos para asegurar la exactitud con
respecto a los números utilizados (p. ej, cantidades, temperatura, etc.) pero deberían
explicarse algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo
10 contrario, las partes son partes por mol, el peso molecular es peso molecular medio, la
temperatura de da en grados Centígrados y la presión es igual o cercana a la presión
atmosférica.

Las actividades iniciales del desarrollo de la formulación incluyeron el examen de
codisolventes orgánicos, estabilizadores térmicos y tampones en formulaciones líquidas
15 y liofilizadas de mAb-316P (anticuerpos anti-PCSK9 de la invención) para identificar los
excipientes que son compatibles con la proteína y aumentar su estabilidad, a la vez que
se mantiene una osmolalidad casi fisiológica y una baja viscosidad para su inyección
intravenosa y subcutánea. Las condiciones del tampón se examinaron igualmente para
determinar el pH óptimo para una máxima estabilidad de la proteína.

20 EJEMPLO 1: Desarrollo de la FORMULACIÓN ANTI-PCSK1 MAB-316P

Se examinaron varios tampones, codisolventes orgánicos y estabilizadores térmicos
para identificar los excipientes que aumentan la estabilidad del anticuerpo PCSK9. Las
condiciones de tampón se examinaron igualmente para determinar el pH óptimo para
una máxima estabilidad del anticuerpo. Los resultados generados de estos estudios se
25 utilizaron para desarrollar una formulación líquida estable, así como una formulación
liofilizada estable adecuada para uso clínico, tanto para su administración intravenosa

(IV) como subcutánea (SC). Para el producto farmacológico liofilizado, se desarrolló una única formulación de doble uso que podía reconstituirse con agua estéril para inyección (WFI, *Water For Injection*) a una concentración de 50 mg/ml para administración IV o 100 mg/ml para administración SC. Una vez reconstituida a 50 mg/ml, el producto farmacológico puede diluirse además en una bolsa IV que contiene 0,9% de cloruro de sodio para su administración IV. Para la formulación líquida, el mAb-316P se formuló a 175 ± 27 mg/ml y 150 ± 23 mg/ml. En una realización, el mAb-316P 175 ± 27 mg/ml se formuló en $10 \pm 1,5$ mM de histidina (pH $6,0 \pm 0,3$), $0,01\% \pm 0,0015\%$ de polisorbato 20, $5\% \pm 0,75\%$ de sacarosa. En una 10 realización, se formuló 150 ± 23 mg/ml de mAb-316P en $10 \pm 1,5$ mM de histidina (pH $6,0 \pm 0,3$), $0,2\% \pm 0,03\%$ o $0,01\% \pm 0,0015\%$ de polisorbato 20, $10\% \pm 1,5\%$ de sacarosa.

EJEMPLO 2: TAMPÓN y pH para MAB-316P ANTI-PCSK1

El efecto del pH y del tipo de tampón sobre la estabilidad de los anticuerpos PCSK9 se examinó en formulaciones líquidas. Se incubaron 2 mg/ml de mAb-316P anti-PCSK9 a 45 °C en 10 mM cada uno de los tampones de acetato (pH 5,0-5,5), citrato (pH 5,5-6,0), succinato (pH 6,0), histidina (pH 6,0), fosfato (pH 6,0-7,5) o Tris (pH 8,0) para evaluar el efecto del tampón y del pH sobre la estabilidad térmica de la proteína (Tabla 1). Para este experimento, se mantuvieron todas las formulaciones líquidas como 0,35 20 ml en un vial de cristal de borosilicato Tipo 1 de 2 ml de capacidad con un tapón de goma de butilo 4432/50 cubierto de FLUROTEC®. La cantidad total de mAb-316P recuperada se determinó utilizando cromatografía de fase inversa. El porcentaje de la forma nativa en relación a la forma agregada de mAb-316P se determinó utilizando cromatografía de exclusión por tamaño. El porcentaje de especies ácidas y básicas de mAb-316P se determinó utilizando cromatografía de intercambio catiónico. Se observó 25 la máxima estabilidad de la proteína, tal y como determinó tanto la cromatografía de exclusión por tamaño (SE) y la cromatografía de intercambio catiónico (CEX), cuando

se formuló el mAb-316P anti-PCSK9 en 10 mM de tampón de histidina a un pH 6,0.

El pH óptimo para el mAb-316P se determinó entonces incubando 10 mg/ml del mAb-316P a 45 °C en tampón de histidina entre un pH 5,5 y un pH 6,5. Se observó la mayor estabilidad de la proteína, tal y como determinó el SE y el CEX, cuando se formuló el mAb-316P en histidina tamponada a un pH 6,0 (Tabla 2). Estos análisis también revelaron que las rutas principales de degradación de la proteína eran la formación de agregados, productos de escisión y variantes de carga. En base a estos resultados, se eligió tampón de histidina 10 mM a pH 6,0 para desarrollar una formulación líquida y liofilizada de mAb-316P.

Los resultados de los estudios del desarrollo de la formulación indicaron que en condiciones básicas ($\text{pH} \geq 6,5$), el mAb-316P anti-PCSK9 en solución puede experimentar reacciones de desaminación. En cambio, a un $\text{pH} \leq 5,5$, se observó una mayor tasa de formación de variantes de peso molecular del mAb-316P. En base a estos datos, el pH del tampón utilizado para la formulación del mAb-316P se mantuvo entre pH 5,7 y pH 6,3. La estabilidad acelerada del mAb-316P es similar a lo largo de este intervalo de pH.

EJEMPLO 3: SELECCIÓN DE PROTECTORES CONTRA EL ESTRÉS POR AGITACIÓN

Se analizaron diversos codisolventes individualmente para evaluar su habilidad para minimizar la formación de partículas en mezclas que contenían mAb-316P debido al estrés por agitación. Los análisis de turbidez de la sustancia farmacológica agitada demostraron un aumento de la densidad óptica (DO) a 405 nm cuando una solución que contenía mAb-316P (0,35 ml de 25 mg/ml de mAb-316P, 10 mM de histidina, pH $6,0 \pm 0,2$ en un vial de cristal de borosilicato Tipo 1 de 2 ml de capacidad con un tapón de goma de butilo 4432/50 cubierto de FLUROTEC®) se sometió a agitación vorticial durante 120 minutos (Tabla 3). La formulación con cualquiera de los codisolventes evaluados parece haber impedido el aumento de turbidez inducido por agitación. Sin

embargo, el PEG 300 al 20%, el PEG 300 al 10% y el propilenglicol al 20% disminuyeron significativamente la estabilidad térmica del mAb-316P tal y como determinó la SE (Tabla 4; mismas condiciones de concentración, tampón y envase del mAb-316P que en el estudio anterior con agitación vorticial). Las formulaciones con

5 polisorbato 20, polisorbato 80, Pluronic F68 y PEG 3350 no tuvieron efectos significativos sobre la estabilidad térmica del mAb-316P tal y como determinó por SE y CEX, haciendo que estos codisolventes resulten adecuados para formular el mAb-316P anti-PCSK9. El polisorbato 20 se eligió como codisolvente orgánico para el desarrollo tanto de la formulación líquida como la liofilizada del mAb-316P ya que demostró tener

10 buenas características de estabilidad en el estudio tanto de agitación como térmico del mAb-316P.

EJEMPLO 4: SELECCIÓN DE PROTECTORES CONTRA EL ESTRÉS TÉRMICO

De manera individual, se analizaron diversos excipientes, seleccionados de una lista variada que contenía azúcares, aminoácidos y sales inorgánicas, para aumentar

15 de una forma óptima la estabilidad térmica del mAb-316P. En la Tabla 5 se presenta un resumen de algunos de los estabilizadores térmicos examinados. Para estos experimentos, los excipientes “estabilizadores térmicos” se incluyeron en una solución de 20 mg/ml de mAb-316P en 10 mM de histidina (0,35 ml en un vial de cristal de borosilicato Tipo 1 de 2 ml de capacidad con un tapón de goma de butilo 4432/50

20 cubierto de FLUROTEC®). Las formulaciones que contenían sacarosa, sorbitol, manitol y trehalosa tuvieron la menor cantidad de degradación de mAb-316P tal y como determinó el análisis por SE. Sin embargo, las formulaciones que contenían sorbitol mostraron un sorprendente aumento en la turbidez en comparación con las formulaciones que contenían sacarosa, trehalosa y manitol (Tabla 5). Aunque se

25 observó que la sacarosa, la trehalosa y el manitol no tuvieron ningún efecto en la formación de variantes de carga del mAb-316P anti-PCSK9, se observó que el manitol desestabilizaba la proteína durante ciclos múltiples de congelación-descongelación. Por

tanto, el mAb-316P tiene una estabilidad similar cuando se formula con sacarosa o trehalosa.

EJEMPLO 5: FORMULACIÓN LIOFILIZADA

- Se desarrolló una formulación liofilizada para aumentar la estabilidad del mAb-316P anti-PCSK9, en concreto con respecto a las variantes de carga y para aumentar la concentración máxima administrable de mAb-316P. Se combinaron diversos lioprotectores con 0,7 ml de 50 mg/ml de mAb-316P, histidina 10 mM en un vial de cristal de borosilicato Tipo 1 de 2 ml de capacidad con un tapón de goma de butilo 4432/50 cubierto de FLUROTEC®, liofilizado y examinado para determinar su habilidad para estabilizar un mAb-316P liofilizado al ser incubado a 50 °C. Antes del análisis, la torta liofilizada se reconstituyó a 100 mg/ml de mAb-316P. Las dos formulaciones liofilizadas con mayor estabilidad tal y como determinó la SE y CEX contenían: 1) 6% de sacarosa o 2) 2% de sacarosa más 2% de arginina. Se eligió 6% de sacarosa para la formulación del producto farmacológico mAb-316P. Por tanto, el producto farmacológico liofilizado mAb-316P anti-PCSK9 se produjo por liofilización en una formulación tampón optimizada y acuosa que contenía 10 mM de histidina, pH 6,0 ± 0,1, 0,1% (p/v) de polisorbato 20, 6% (p/v) de sacarosa y 50 mg/ml de mAb-316P anti-PCSK9. El almacenamiento y la estabilidad frente al estrés de esta formulación liofilizada se presentan en la Tabla 7.
- El ciclo de liofilización del mAb-316P anti-pPCSK9 se desarrolló en base a la medición de Tg' (temperatura de transición vítrea por congelación) de la formulación, que se midió utilizando calorimetría diferencial de barrido modulada subambiente (mDSC). La temperatura del producto no deberá sobrepasar la Tg' durante el primer secado, cuya temperatura se determinó que sería -27,9 °C.
- El mAb-316P liofilizado se produjo cargando 5,3 ml de la formulación 50 mg/ml de mAb-316P, histidina 10 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,1%, sacarosa al 6% en viales de cristal Tipo 1 de 20 ml y liofilizando según las etapas siguientes:

- 1. Temperatura de almacenamiento necesaria 5-25 °C
durante la carga:
- 2. Mantenimiento inicial a: 5 °C durante 60 minutos
- 3. Pendiente (tiempo) para congelación 0,5 °C/min (100 minutos)
- 4. Mantenimiento a: -45 °C durante 120 minutos
- 5. Punto de vacío fijado 100 mTorr
- 6. Pendiente (tiempo) de calentamiento hasta primer 0,5 °C/min (40 minutos)
secado:
- 7. Temperatura de almacenamiento del primer -25 °C
secado:
- 8. Duración del primer secado: 78 horas
- 9. Intervalo de rampa (tiempo) para el calentado 0,2 °C/min. (300 minutos)
hasta el segundo secado:
- 10. Temperatura del estante del segundo secado: 35 °C
- 11. Duración del segundo secado: 6 horas
- 12. Pendiente (tiempo) para enfriamiento: 0,5 °C/min (20 minutos)
- 13. Mantenido a: 25 °C durante 60 minutos*
- 14. Rellenado con gas nitrógeno:
- 15. Cierre el vacío: 80% de presión atmosférica
(608.000 mTorr)

5 Cuando sea necesario un almacenamiento prolongado después del segundo secado y antes de la etapa de cierre, la temperatura de almacenamiento del liofilizador se llevará a 2-8 °C. El producto farmacológico liofilizado que se produjo utilizando los ciclos finales descritos anteriormente tuvo buen aspecto de torta, a bajo contenido en humedad (0,3%), tiempo de reconstitución menor de 4 minutos y ninguna turbidez de la solución reconstituida.

En aspecto de la torta liofilizada no se vio afectado cuando el producto

farmacológico mAb-316P (mAb-316P PF) se incubó durante 2 meses a 50 °C o se almacenó durante 3 meses a 5 °C. No se vio afectado ni el pH, ni el aspecto, ni la turbidez del producto farmacológico reconstituido mAb-316P, y no se observó ninguna diferencia significativa en la cantidad del mAb-316P recuperado. Tras 2 meses de incubación a 50 °C, el producto farmacológico mAb-316P liofilizado estaba un 1,1% más degradado tal y como determinó la SE-HPLC y un 8,3% más degradado tal y como determinó la CEX-HPLC. No se observó ninguna degradación significativa cuando el producto farmacológico mAb-316P liofilizado se almacenó durante 3 meses a 5 °C. No se observó ninguna pérdida de potencia significativa, en ninguna de las muestras sometidas a estrés, tal y como determinó un bioensayo anti-PCSK9.

EJEMPLO 6: MAB-316P LÍQUIDO Y RECONSTITUIDO

Hay dos métodos para reconstituir el producto farmacológico mAb-316P liofilizado dependiendo de la vía de administración. Para la administración IV, el producto farmacológico mAb-316P se reconstituyó con 5,0 ml de WFI estéril que resultó en 5,3 ml de solución que contenía 50 mg/ml de mAb-316P, histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 20 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 6% (p/v). Para la administración SC, el producto farmacológico mAb-316P se reconstituyó con 2,3 ml de WFI estéril que resultó en una solución de 2,7 ml que contenía 100 mg/ml de REGN727, histidina 20 mM, pH 6,0, polisorbato 20 al 0,2% (p/v) y sacarosa al 12% (p/v). El volumen de extracción disponible es 4,8 ml para la inyección IV y de 2,0 ml para la inyección SC; el vial SC contenía una solución reconstituida mayor de 0,7 ml.

En la alternativa, se formula mAb-316P líquido como una formulación líquida, sin la intervención de la etapa de liofilización. Las formulaciones de mAb-316P líquido están bien a 150 mg/ml ($\pm 15\%$) o 175 mg/ml ($\pm 15\%$) de mAb-316P anti-PCSK9, en $10 \pm 1,5$ mM de histidina (pH $6,0 \pm 0,3$), polisorbato 20 a $0,01\% \pm 0,0015\%$ o $0,2\% \pm 0,03\%$, sacarosa al $5\% \pm 0,75\%$ o $10\% \pm 1,5\%$ y en el caso de la formulación de 175 mg/ml, arginina a $50 \pm 7,5$ mM.

El mAb-316P anti-PCSK9 resultó ser estable al filtrarse estéril. Se utilizó una unidad de filtración Millipore MILLIPAK en la fabricación de los suministros clínicos, mientras que se utilizó un filtro de idéntica composición en los estudios de investigación (Millipore MILLEX DURAPORE). Comparado con el almacenamiento en viales de cristal, la estabilidad de la sustancia farmacológica mAb-316P formulada (mAb-316P FDS) no se vio significativamente afectada al almacenarla bien en un tubo de polipropileno, en un tubo de poliestireno, en un tubo de policarbonato o bien en un vial de cristal que contenía una bolita de acero inoxidable (Tabla 8).

EJEMPLO 7: FORMULACIÓN LÍQUIDA EN JERINGAS PRECARGADAS

Se realizaron estudios de desarrollo de formulación con objeto de desarrollar una formulación líquida de alta concentración del mAb-316P que pudiera utilizarse en jeringas precargadas (PFS) para su administración SC. Los resultados de la etapa de desarrollo de la formulación REGN727 liofilizada demostraron que el tampón, pH, codisolvente orgánico y estabilizador térmico óptimos eran histidina, pH 6.0, polisorbato 20 y sacarosa, respectivamente (mencionados anteriormente). Estos mismos excipientes se utilizaron para desarrollar las formulaciones del producto farmacológico mAb-316P tanto de 150 mg/ml como de 175 mg/ml. La arginina se añadió a la versión del producto farmacológico mAb-316P de 175 mg/ml para reducir la viscosidad de la formulación. Se examinó la estabilidad frente al estrés del producto farmacológico mAb-316P de 150 y 175 mg/ml en jeringas precargadas (PFS) de cristal Nuova OMPI de 1 ml de longitud y se compararon con la estabilidad del producto farmacológico de 150 y 175 mg/ml en viales de cristal de control. No se observó ninguna diferencia significativa en la cantidad de degradación física o química tras la incubación del producto farmacológico mAb-316P de 150 o 175 mg/ml a 45 °C entre la OMPI PFS y el vial de cristal de control. Estos datos indican que las formulaciones del producto farmacológico mAb-316P anti-PCSK9 de 150 y 175 mg/ml son suficientemente estables para su uso en PFS.

EJEMPLO 8: ESTABILIDAD DE LA SUSTANCIA FARMACOLÓGICA MAB-316P FORMULADA

Se realizaron estudios de estabilidad para determinar la estabilidad tanto al almacenamiento como al estrés de las formulaciones mAb-316P de 150 y 175 mg/ml.

5 Los ensayos de turbidez y de RP-HPLC se utilizaron para evaluar la estabilidad física del mAb-316P. La estabilidad física se define como la recuperación de las formas solubles del mAb-316P anti-PCSK9 en solución. La pérdida de proteínas podría deberse bien a la precipitación de las proteínas o a la adsorción a la superficie. La presencia de partículas en solución puede detectarse mediante la medición por
10 inspección visual o por densidad óptica (DO) a 405 nm (mediciones de turbidez). En este último ensayo, un aumento en la DO indica un aumento de la turbidez debido a la formación de partículas. La presencia de partículas, tal y como determinan las mediciones de DO, indica que la muestra no ha mantenido su estabilidad. La recuperación del mAb-316P se mide por RP-HPLC. En el ensayo RP-HPLC, el
15 anticuerpo mAb-316P anti-PCSK9 se eluye de la columna de fase inversa como un solo pico. La concentración de cada una de las muestras de análisis viene determinada por el área del pico del anticuerpo mAb-316P eluido comparado con la curva de calibrado generada utilizando estándares mAb-316P de cargas de proteína definidas.

La estabilidad química se refiere a la integridad de la estructura química del
20 anticuerpo anti-PCSK9 (mAb-316P) en una muestra. La mayoría de la inestabilidad química puede atribuirse a la formación de formas de la proteína modificadas de manera covalente (p. ej., agregados covalentes, productos de escisión o variantes de carga) y formas de la proteína modificadas de manera no covalente (p. ej. agregados no covalentes). En este punto los únicos productos de degradación del mAb-316P que
25 se han detectado son especies que difieren bien en el peso molecular o en la carga. Los productos de degradación de mayor y menor peso molecular pueden separarse del mAb-316P nativo por SE-HPLC. El porcentaje de mAb-316P nativo en el método de cromatografía de exclusión por tamaño viene determinado por la proporción de área de

pico nativo con respecto al área total de todos los picos del anticuerpo mAb-316P.

Las formas de variante de carga del mAb-316P se resuelven a partir del mAb-316P nativo utilizando cromatografía de intercambio catiónico. Los picos que se eluyen de la columna CEX-HPLC con tiempos de retención anteriores al del pico principal se denominan “Picos ácidos”, mientras que los que se eluyen de la columna CEX-HPLC con tiempos de retención posteriores a los del pico principal se denominan “Picos básicos”. El porcentaje de mAb-316P degradado en el método de cromatografía por intercambio catiónico viene determinado por el cambio en el porcentaje relativo de las áreas del pico principal, ácido y básico comparado con el área total de todos los picos del mAb-316P.

La evaluación del mAb-316P en condiciones aceleradas se llevó a cabo sometiendo al anticuerpo a diversos análisis de estrés. Estos análisis representan las condiciones de manipulación extremas a las que puede someterse la sustancia farmacológica formulada durante la fabricación del producto farmacológico. La sustancia farmacológica mAb-316P formulada se cargó en viales de policarbonato de 5 ml para su agitación, ciclos de congelación/descongelación y condiciones de almacenamiento en estado de congelación. La sustancia farmacológica mAb-316P formulada se cargó en viales de cristal para examinar su estabilidad frente al estrés a altas temperaturas.

EJEMPLO 9: ESTUDIOS DE ESTABILIDAD EN ALMACENAMIENTO DE LA SUSTANCIA FARMACOLÓGICA FORMULADA (FDS)

Se encontró que la sustancia farmacológica formulada mAb-316P de 150 mg/ml (FDS; 0,5 ml en vial de policarbonato de 5 ml; anticuerpo mAb-316P 150 mg/ml, histidina 10 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,2% y sacarosa al 10%) era física y químicamente estable cuando se almacenaba a ≤ -20 °C durante 12 meses. No se observó ninguna pérdida significativa de mAb-316P ni se detectó ninguna degradación química significativa por cromatografía de exclusión por tamaño o de intercambio iónico. Una cantidad mayor al 97% del mAb-316P recuperado era de estructura “nativa”

tal y como determinó la exclusión por tamaño y una cantidad mayor al 56% del mAb-316P recuperado era de la “variante con carga principal” tal y como determinó el intercambio catiónico. Los resultados se resumen en la Tabla 9.

Se encontró que la sustancia farmacológica formulada mAb-316P de 175 mg/ml (FDS; 0,75 ml en vial de policarbonato de 5 ml; anticuerpo mAb-316P 175 mg/ml, histidina 10 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,01%, sacarosa al 5% y arginina 50 mM) era física y químicamente estable cuando se almacenaba a ≤ -20 °C durante 3 meses. No se observó ninguna pérdida significativa de mAb-316P ni se detectó ninguna degradación química significativa por cromatografía de exclusión por tamaño o de intercambio iónico. Una cantidad mayor al 96% del mAb-316P recuperado era de estructura “nativa”, tal y como determinó la exclusión por tamaño y una cantidad mayor al 56% del mAb-316P recuperado era de la “variante con carga principal”, tal y como determinó el intercambio catiónico. Los resultados se resumen en la Tabla 10.

EJEMPLO 10: ESTUDIOS DE ESTABILIDAD FRENTE AL ESTRÉS DE LA SUSTANCIA FARMACOLÓGICA FORMULADA

Se realizaron estudios de estabilidad frente al estrés en la sustancia farmacológica formulada mAb-316P de 150 mg/ml (FDS) (0,35 ml – 0,5 ml de mAb-316P 150 mg/ml, histidina 10 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,2%, sacarosa al 10%) y la sustancia farmacológica formulada mAb-316P de 175 mg/ml (0,5 ml – 1,7 ml de mAb-316P 175 mg/ml, histidina 10 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,01%, sacarosa al 5%, arginina 50 mM). Se realizaron estudios a alta temperatura en un cristal de borosilicato Tipo 1 de 2 ml de capacidad, con tapón de goma de butil 4432/50 cubierto de FLUROTEC®; los restantes estudios se realizaron en un vial de policarbonato de 5 ml. La sustancia farmacológica formulada mAb-316P anti-PCSK9 de 150 mg/ml y 175 mg/ml formulada resultó ser física y químicamente estable al ser agitada (agitación vorticial) durante dos horas. La solución permaneció visiblemente transparente, no ocurrió ninguna pérdida de proteínas y no se formó ninguna especie de peso molecular o variantes de carga

(Tablas 11 y 12). Se observó además que el mAb-316P era tanto física como químicamente estable cuando se sometía a ocho ciclos de congelación a -80 °C y descongelación a temperatura ambiente. Tras los ocho ciclos de congelación/descongelación, la solución de proteínas permaneció visiblemente transparente y no se observó ninguna pérdida de proteínas. No se detectó ningún peso molecular (bien agregados solubles o productos de escisión) ni formas de variantes de carga por medio de los ensayos de SE o CEX, respectivamente.

Aunque la sustancia farmacológica formulada mAb-316P anti-PCSK9 de 150 y 175 mg/ml era físicamente estable al incubarse a 37 °C o 45 °C durante 28 días, no obstante se observó cierta degradación química (Tablas 11 y 12). Estos análisis del estrés indicaron que las secuencias principales de degradación eran la formación de agregados, de productos de escisión y de variantes de carga. Tal y como se esperaba, el índice de degradación del anticuerpo mAb-316P anti-PCSK9 era menor a 37 °C que a 45 °C. No hubo ningún cambio significativo en la estabilidad física o química de la sustancia farmacológica mAb-316P de 150 o 175 mg/ml formulada al incubarse a 25 °C durante 28 días.

EJEMPLO 11: ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL PRODUCTO FARMACOLÓGICO (PF)

El producto farmacológico mAb-316P de 150 mg/ml consiste en histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 20 al 0,01%, sacarosa al 10% y 150 mg/ml del anticuerpo mAb-316P anti-PCSK9. El producto farmacológico mAb-316P de 175 mg/ml consiste en histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 20 al 0,01%, sacarosa al 5%, arginina 50 mM y 175 mg/ml del anticuerpo mAb-316P anti-PCSK9. No hubo ningún cambio en la estabilidad física y química del producto farmacológico mAb-316P de 150 mg/ml ni de 175 mg/ml (PF) al almacenarse a 5 °C durante 6 meses en la jeringa precargada (PFS; jeringa de cristal OMPI de 1 ml de longitud con una aguja de pared fina de calibre 27 y un capuchón de goma FM27 para la aguja cerrada con un émbolo de goma 4023/50

cubierto de FLUROTEC®) (Tabla 13 y Tabla 14). Las soluciones permanecieron visiblemente transparentes, no se observó ninguna pérdida de proteínas y no se produjo cambio en el pH tras el estrés. Además, no hubo ningún cambio significativo en las especies de peso molecular o en las variantes de carga que pudieran detectarse por SE y CEX, respectivamente.

EJEMPLO 12: ESTABILIDAD FRENTE AL ESTRÉS DEL PRODUCTO FARMACOLÓGICO (PF)

Las estabilidades frente al estrés del producto farmacológico mAb-316P de 150 mg/ml y de 175 mg/ml se examinaron incubando las jeringas precargadas a 25 °C y 45 °C. Cada uno de los respectivos productos farmacológicos era estable físicamente al incubarse a 45 °C durante 28 días o incubarse a 25 °C durante 6 meses (Tablas 13 y 14). La solución permaneció visiblemente transparente, no se observó ninguna pérdida de proteínas y no se produjo cambio en el pH tras dichos episodios de estrés. Sin embargo, se detectaron agregados y variantes de carga cuando la proteína se incubó a 45 °C y 25 °C. Estos análisis de estrés indican que estas son las rutas de degradación principales del producto farmacológico. Del producto farmacológico de 150 mg/ml, el agregado de mAb-316P aumentó un 1,9% y las especies ácidas aumentaron un 19,1% tras la incubación a 45 °C durante 28 días. Se detectó un nivel reducido de degradación química cuando la proteína se incubó a 25 °C. Hubo un aumento del 0,8% en la cantidad de agregado relativa y un aumento del 10,3% en las especies ácidas tras 6 meses de incubación a 25 °C. Del producto farmacológico de 175 mg/ml, el agregado de mAb-316P aumentó un 1,8% y las especies ácidas aumentaron 17,0% tras la incubación a 45 °C durante 28 días. Se detectó un nivel reducido de degradación química cuando la proteína se incubó a 25 °C. Hubo un aumento del 0,7% de agregados y un aumento del 9,4% de especies ácidas tras 6 meses de incubación a 25 °C. Para los productos farmacológicos tanto de 150 como de 175 mg/ml, no ocurrió ningún cambio significativo en la estabilidad del mAb-316P tras 1 mes de incubación a 25 °C.

EJEMPLO 13: VOLÚMENES DE CARGA

El volumen inyectable de una jeringa precargada (PFS) que contiene el producto farmacológico REGN727 de 150 mg/ml es de 1,0 ml. El volumen inyectable de una PFS que contiene el producto farmacológico REGN727 de 175 mg/ml es de 1,14 ml. No se incluye una mayor cantidad en ninguna de las PFS porque el volumen muerto de la jeringa es insignificante (0,005 a 0,01 ml).

EJEMPLO 14: ESTABILIDAD DEL MAB-316P EN MATERIALES DE ALMACENAMIENTO

Se encontró que el mAb-316P anti-PCSK9 era estable cuando se filtraba estéril. Se utilizó una unidad de filtración MILLIPORE MILLIPAK para los estudios de investigación y en la fabricación de los suministros clínicos. Comparado con el almacenamiento en viales de cristal, la estabilidad del sustancia farmacológica mAb-316P de 150 y 175 mg/ml formulada no se vio significativamente afectada cuando se almacenó en un tubo de polipropileno, tubo de poliestireno, tubo de policarbonato o en un vial de cristal que contenía un tapón de acero inoxidable (Tabla 15 y Tabla 16). Aunque se observó cierta degradación cuando la sustancia farmacológica formulada se incubó a 40 °C durante 14 días, no se observó una diferencia significativa en la cantidad de degradación del mAb-316P entre el vial de cristal de control y la exposición a los envases de plástico y al acero inoxidable.

EJEMPLO 15: CARACTERIZACIÓN DEL ANTICUERPO MAB-316P ANTI-PCSK9

Se analizaron al menos dos lotes de mAb-316P (Lote 1 y Lote 2) se analizaron por cromatografía de exclusión por tamaño y dispersión de luz láser multiángulo (SEC-MALLS), un método analítico que ofrece una estimación de la masa molar de una proteína o glucoproteína. Los lotes 1 y 2 tenían masas molares respectivas de 154,5 y 154,6 kDa. Otros lotes tenían masas molares que variaban de 154,4 a 154,8 kDa (una media de aproximadamente 155 kDa) para el pico de la especie principal eluido de la

matriz SE. Este pico principal representó aproximadamente el 96,7 – 99,2% del área de pico total de la proteína y corresponde al monómero intacto de mAb-316P (es decir, “nativo” tal y como se emplea en esta memoria).

El mAb-316P se analizó por isoelectroenfoque capilar (cIEF) para determinar los puntos isoeléctricos de las principales isoformas constituyentes. El pI y el área de pico promedio (% del área total de pico) de las muestras de mAb-316P determinado por cIEF se resumen en la Tabla 17. Cada lote mostró una especie principal (pico 5) con un pI calculado de aproximadamente 8,5, que estaba presente en el 66,4% y 68,0% para los lotes 1 y 2, respectivamente. La especie dominante (pico 5) representa más probablemente el anticuerpo completamente glucosilado intacto al que le falta la lisina C terminal (es decir, la “forma con carga principal” tal y como se usa en la presente memoria).

El análisis de espectrometría de masas (EM) de los mapas tripticos del mAb-316P reducido del Lote 1 y del Lote 2 confirmó un solo sitio de glucosilación, Asn298, en el dominio Fc en ambos lotes. Los principales glucanos unidos por enlace covalente que forman este sitio de glucosilación aparecen resumidos en la Tabla 18. En general, se determinó que ambos lotes poseían glucanos bianntenarios complejos, la mayoría de ellos fucosilados a Asn298. Sin embargo, la cantidad relativa de agalactosilo fucosilado (G0) que contenía especies de cadena de azúcar en el Lote 2 era ligeramente superior en relación a la cantidad de esta glucoforma en el Lote 1. Al contrario, las cantidades relativas de digalactosilo fucosilado (G2) y monogalactosilo fucosilado (G1) que contenían formas de cadena de azúcar en el Lote 2 eran reducidas en comparación con las cantidades relativas de estas estructuras de cadena azúcar en el Lote 1. El análisis de los resultados de LC/MS de las dos muestras de sustancias farmacológicas (pico 16) también identificó un 2,9% y un 8,4% de péptidos de cadena pesada que no tenían ocupación de glucanos en Asn298 en el Lote 1 y en el Lote 2, respectivamente.

Se analizaron los perfiles de los glucanos generados por la HPLC tras la liberación de los oligosacáridos de cada uno de los dos lotes de mAb-316P. En cada

cromatograma, los oligosacáridos derivatizados se separaron en dos grupos principales: las especies biantenarias no fucosiladas y las especies biantenarias fucosiladas. Dentro de cada grupo (fucosilado frente a no fucosilado), los oligosacáridos se separaron además en las formas digalactosilo (G2), monogalactosilo (G1) y agalactosilo (G0). Las asignaciones estructurales de oligosacáridos se obtuvieron mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. La integración de cada pico en los dos cromatogramas reveló que el nivel de fucosilación de los dos lotes de mAb-316P era generalmente alto, observándose un 80,0% y un 86,9% de fucosilación en los Lotes 1 y 2, respectivamente.

Aunque el porcentaje total de fucosilación de los dos lotes era similar, hubo diferencias cuantitativas en la abundancia relativa de cada una de las formas de glucanos presentes en los dos lotes (Tabla 19). En el Lote 1, los porcentajes de área de pico de 34,4%, 39,6% y 11,7%, se determinaron por las estructuras de glucano fucosilado G0, G1 y G2, respectivamente. Por otro lado, los porcentajes de área de pico para el Lote 2 fueron 45,8%, 33,3% y 7,1%, para las estructuras de glucoforma fucosilada G0, G1 y G2, respectivamente, indicando diferencias en el grado de galactosilación entre los dos lotes. Se detectó un pico de glucanomanosa (man5 glucano) elevado (pico 2) con una abundancia relativa del 1,8 – 2,9% en relación a la cantidad total de cadenas de azúcar observadas en los dos lotes (Tabla 19). Se detectó un total de nueve picos no identificados con porcentajes de área de pico con intervalos de 0,5% a 1,5% igualmente en ambos lotes examinados mediante este método y representan $\leq 3\%$ de las áreas de pico de glucano total detectadas en cada lote. El análisis de una mezcla equimolar de los dos lotes no produjo nuevos picos y los porcentajes de área de pico de todos los picos en la mezcla se correlacionaron bien con los valores esperados en base a los análisis individuales de cada lote (Tabla 19).

Tabla 1: Efecto del tampón y del pH en la estabilidad del mAb-316P a 45 °C durante 28 días							
pH/Tampón	Turbidez ¹	Total (mg/ml)	% Nativo	% Agregado	% Principal	% Ácido	% Básico
sin incubación ²	0,00	1,8	98,1	0,3	57,0	33,0	10,0
pH 8,0, Tris	0,00	1,7	88,9	0,8	15,2	82,4	2,4
pH 8,0, Fosfato	0,01	2,0	89,4	1,3	NA	NA	NA
pH 7,5, Fosfato	0,01	1,9	91,7	0,9	NA	NA	NA
pH 7,0, Fosfato	0,01	2,1	92,4	0,7	16,7	78,8	4,5
pH 6,5, Fosfato	0,00	2,0	93,2	0,6	25,0	68,3	6,6
pH 6,0, Fosfato	0,00	1,8	93,9	0,3	29,8	62,3	8,0
pH 6,0, Histidina	0,00	1,9	94,5	0,0	36,9	54,0	9,1
pH 6,0, Succinato	0,00	1,9	93,1	0,4	31,9	59,8	8,3
pH 6,0, Citrato	0,00	1,9	95,1	0,4	32,1	58,1	9,9
pH 5,5, Citrato	0,00	2,1	94,6	0,4	28,0	62,0	9,9
pH 5,5, Acetato	0,00	2,0	92,4	0,2	34,5	56,9	8,5
pH 5,0, Acetato	0,00	1,8	93,0	0,2	31,1	57,5	11,4

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.

²Valores medios del material no incubado para las 12 formulaciones

Tabla 2: Efecto del pH en 10 mg/ml de mAb-316P, histidina 10 mM a 45 °C durante 28 Días							
pH/Tampón	Turbidez ¹	Total (mg/ml)	% Nativo	% Agregado	% Principal	% Ácido	% Básico
sin incubación ²	0,00	9,5	98,1	0,2	57,8	31,1	11,1
pH 5,5	0,01	9,5	94,3	0,5	34,7	52,2	13,1
pH 6,0	0,01	9,7	94,7	0,9	37,5	51,8	10,6
pH 6,5	0,01	10,1	93,4	1,8	35,7	55,2	9,1

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.

²Valores medios del material no incubado para las 3 formulaciones

Tabla 3: Efecto de los Codisolventes en 25 mg/ml de mAb-316P con agitación vorticial durante 120 Minutos							
Codisolvente Orgánico	Turbidez ¹	Total (mg/ml)	% Nativo	% Agregado	% Principal	% Ácido	% Básico
Sin agitación vorticial ²	0,00	25,6	97,3	0,5	50,6	39,2	10,3
Sin Codisolvente	0,10	25,6	97,3	0,5	51,1	39,0	9,9
0,2% Polisorbato 20	0,01	24,7	97,2	0,5	51,1	38,9	10,1
0,2% Polisorbato 80	0,01	24,7	97,3	0,5	50,9	38,9	10,2
0,2% Pluronic F68	0,01	25,2	96,9	0,5	50,5	39,2	10,3
3% PEG 3350	0,01	25,3	97,1	0,5	50,7	39,0	10,2
1,5% PEG 3350	0,01	24,9	97,1	0,5	50,8	39,1	10,1
20% PEG 300	0,00	26,7	97,0	0,6	48,8	40,5	10,7
10% PEG 300	0,01	25,7	97,2	0,5	49,9	39,8	10,3
20% Propilenglicol	0,01	25,8	96,9	0,5	51,1	38,6	10,3

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.
²Valores medios del material sin agitación vorticial para las 9 formulaciones

Tabla 4: Efecto de los Codisolventes en 25 mg/ml de mAb-316P Incubado a 45 °C durante 28 Días								
Codisolvente Orgánico	Turbidez ¹	pH	Total (mg/ml)	% Nativo	% Agregado	% Principal	% Ácido	% Básico
sin incubación ²	0,00	6,1	25,6	97,3	0,5	50,6	39,2	10,3
sin Codisolvente	0,02	6,2	24,9	94,5	0,7	34,8	54,7	10,5
0,2% Polisorbato 20	0,03	6,2	24,3	94,6	0,5	35,2	54,3	10,5
0,2% Polisorbato 80	0,02	6,2	24,3	94,8	0,6	35,1	54,5	10,4
0,2% Pluronic F68	0,03	6,1	24,6	94,7	0,6	33,8	55,6	10,6
3% PEG 3350	0,03	6,2	24,8	95,0	0,7	35,9	53,5	10,6
1,5% PEG 3350	0,02	6,2	24,4	94,8	0,6	36,0	53,5	10,5
20% PEG 300	0,12	4,8	25,4	88,8	4,2	NA	NA	NA
10% PEG 300	0,09	5,4	25,0	93,7	0,9	24,1	67,0	8,9
20% Propilenglicol	0,03	6,1	24,6	89,9	5,6	34,6	54,2	11,2

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.
²Valores medios del material sin agitación vorticial para las 9 formulaciones

Tabla 5: Efecto del estabilizador en 20 mg/ml de mAb-316P, histidina 10 mM a 45 °C durante 28 días

Excipiente	Visual	Turbidez ¹	pH	Total (mg/ml)	% Nativo	% Agregado	% Principal	% Ácido	% Básico
sin incubación ²	Pasa	0,00	6,0	20,2	97,7	0,5	51,1	39,3	9,6
sin Estabilizador	Pasa	0,02	6,1	19,8	93,6	2,0	33,5	56,5	10,1
NaCl 150 mM	Falla	0,03	6,0	20,0	91,0	4,6	35,3	51,0	13,6
20% Sacarosa	Pasa	0,04	6,0	22,6	94,4	1,0	32,1	57,0	10,9
20% Sorbitol	Pasa	0,16	5,8	21,8	94,3	1,0	23,5	67,4	9,1
10% Manitol	Pasa	0,02	6,0	21,2	94,8	0,9	34,4	54,5	11,1
20% Trehalosa	Pasa	0,05	6,0	22,7	94,7	0,5	33,2	56,6	10,2
5% Glicerol	Pasa	0,10	5,9	20,8	90,2	5,4	NA	NA	NA
3% Arginina	Pasa	0,02	6,1	21,1	92,9	3,0	37,5	49,2	13,3
3%Glicina	Pasa	0,03	6,1	19,8	93,7	1,7	31,0	58,0	10,9

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.
²Valores medios del material no incubado para las 9 formulaciones

Tabla 6: Efecto de los lioprotectores en el mAb-316P incubado a 50 °C durante 28 días

Excipiente	Visual	Turbidez ¹	pH	Total (mg/ml)	% Nativo	% Agregado	% Principal	% Ácido	% Básico
sin incubación	Pasa	0,00	6,0	100	97,1	1,2	51,0	38,3	10,7
sin Lioprotector	Falla	0,09	6,1	100	70,0	28,5	24,2	35,1	40,7
2% Sacarosa	Pasa	0,02	6,1	104	90,7	7,4	37,4	39,1	23,6
6% Sacarosa	Pasa	0,00	6,1	105	96,1	1,8	46,8	39,2	14,1
2% Sac., 2% Gli	Pasa	0,02	6,0	114	94,5	3,4	40,9	42,4	16,8
2% Sac., 2% Arg	Pasa	0,00	5,9	109	95,9	2,0	47,2	38,4	14,4

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.
²Producto farmacológico liofilizado reconstituido a 100 mg/ml de REGN727 antes del análisis.
³Valores medios del material de partida de las 4 formulaciones.

Tabla 7: Estabilidad del Producto farmacológico liofilizado reconstituido a 100 mg/ml

Temperatura de Almacenamiento	Sin Almacenamiento	5 °C 4 me.	25 °C 3 me.	40 °C 3 me.	50 °C 2 me.
Turbidez ¹	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02
pH	6,2	6,3	6,2	6,2	6,2
% Total recuperado	100	104	100	98	105
% Nativo	96,0	96,5	96,2	95,7	94,9
% Agregado	1,7	1,4	1,7	2,4	2,9
% Principal	50,6	51,5	49,2	46,2	43,5
% Ácido	38,0	37,9	38,2	39,5	40,1
% Básico	11,4	10,5	12,7	14,3	16,2
Bioensayo (% Estd. de ref.) ²	146	NP	NP	NP	152

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.

5 ²Criterio de aceptación: 50-200% del estándar de referencia

Tabla 8: Compatibilidad de mAb-316P 50 mg/ml de durante 14 días a 40 °C y 75% de humedad

Almacenamiento	Sin Almacenamiento	Cristal	Polipropileno	Poliestireno	Policarbonato	Acero inoxidable
Turbidez ¹	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01
% Total	100	98	99	104	103	98
% Nativo	97,0	96,3	96,3	96,2	96,2	96,1
% Agregado	2,0	1,9	1,9	2,0	2,0	2,0
% Principal	50,8	45,7	44,9	45,2	45,6	45,5
% Ácido	38,1	42,8	43,6	43,0	42,5	43,2
% Básico	11,2	11,5	11,6	11,9	11,8	11,2

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.

10 Tabla 9: Estabilidad de mAb-316P anti-PCSK9 150 mg/ml durante 12 meses a -80 °C

Temperatura de almacenamiento	control	-80 °C	-30 °C	-20 °C
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,01	0,01
% Total de mAb-316P recuperado	100	104	108	111

% Nativo recuperado	97,5	97,3	97,2	97,2
% Agregado recuperado	1,7	1,8	1,8	1,9
% Principal recuperado	56,2	56,5	56,4	56,3
% Ácido recuperado	26,5	25,7	25,7	25,4
% Básico recuperado	17,4	17,9	17,9	18,2

Tabla 10: Estabilidad de mAb-316P anti-PCSK9 175 mg/ml durante 3 meses a -80 °C

Temperatura de Almacenamiento	control	-80 °C	-30 °C	-20 °C
Turbidez (DO 405 nm) ¹	0,00	0,01	0,01	0,01
% Total REGN727 recuperado (RP-HPLC)	100	100	104	101
% Nativo REGN727 recuperado (SE-HPLC)	96,2	96,5	96,4	96,3
% REGN727 agregado recuperado (SE-HPLC)	2,7	2,5	2,6	2,7
% REGN727 principal recuperado (CEX-HPLC)	58,5	56,2	56,6	56,7
% REGN727 ácido recuperado (CEX-HPLC)	29,4	29,4	29,4	29,4
% REGN727 básico recuperado (CEX-HPLC)	12,2	14,5	14,0	13,9

5 ¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.

Tabla 11: Estabilidad de mAb-316P 150 mg/ml FDS¹ en condiciones de estrés

Análisis de Estrés	Sin Estrés ²	Agitación			45 °C Incubación		37 °C Incubación		25 °C Incubación		Congelación/ descongelación
Tiempo de Estrés	0 min	60 min	120 min		14 días	28 días	14 días	28 días	14 días	28 días	8 ciclos
Aspecto Visual	Pasa	Pasa	Pasa		Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez ³	0,00	0,00	0,00		0,02	0,03	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
pH	6,0	6,0	6,0		6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
% Total recuperado	100	101	102		98	98	99	98	100	99	101
% Nativo recuperado	97,4	97,5	97,2		94,2	92,4	95,7	95,1	96,7	96,2	97,1
% Agregado recuperado	1,6	1,7	2,1		3,4	4,1	2,4	2,6	2,0	2,2	1,7
% Principal recuperado	53,6	53,7	54,7		38,7	29,0	46,3	39,5	51,5	49,1	53,9
% Ácido recuperado	27,2	26,1	25,9		39,5	48,6	31,9	36,9	27,8	28,9	26,5
% Básico recuperado	19,3	20,2	19,5		21,8	22,5	21,8	23,7	20,7	22,0	19,6

Análisis de Estrés	Sin Estrés ²	Agitación			45 °C Incubación		37 °C Incubación		25 °C Incubación		Congelación/ descongelación
Tiempo de Estrés	0 min	60 min	120 min		14 días	28 días	14 días	28 días	14 días	28 días	8 ciclos
Bioensayo (% de potencia relativa) ⁴	84	NP	84		NP	85	NP	82	NP	98	81

¹ histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 20 al 0,2%, sacarosa al 10%, mAb-316P anti-PCSK9 150 mg/ml

²Los valores de 'sin estrés' corresponden a medias de ambos estudios de estabilidad.

³La turbidez se presenta como el cambio relativo de DO a 405 nm en comparación con el material de partida

⁴Porcentaje de potencia relativa; Criterio de aceptación: 50-200% del estándar de referencia

Tabla 12: Estabilidad de mAb-316P 175 mg/ml FDS¹ en condiciones de estrés

Análisis de Estrés	Sin Estrés ²	Agitación			45°C Incubación		37°C Incubación		25°C Incubación		Congelación/ descongelación
Tiempo de Estrés	0 min	60 min	120 min		14 días	28 días	14 días	28 días	14 días	31 días	8 ciclos
Aspecto Visual	Pasa	Pasa	Pasa		Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	ND	Pasa	Pasa
Turbidez ³	0,00	0,00	0,01		0,01	0,03	0,00	0,01	ND	0,00	0,01
pH	6,0	6,0	6,0		6,1	6,1	6,0	6,0	ND	6,0	6,0
% Total recuperado	100	96	98		101	98	100	96	ND	99	98
% Nativo recuperado	96,5	96,3	96,4		94,5	91,7	95,7	94,7	ND	96,2	96,1
% Agregado recuperado	2,5	2,5	2,5		3,6	5,2	2,8	3,0	ND	2,6	2,3
% Principal recuperado	59,5	58,3	59,0		47,1	38,4	56,3	46,9	ND	58,2	59,3
% Ácido recuperado	30,1	29,3	29,4		39,5	47,6	32,3	39,8	ND	30,9	29,5
% Básico recuperado	10,3	12,4	11,6		13,4	14,1	11,4	13,4	ND	11,0	11,1
Bioensayo (% de potencia relativa) ⁴	0,00	0,00	0,01		0,01	0,03	0,00	0,01	NA	0,00	0,01

¹ histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 20 al 0,01%, sacarosa al 5%, arginina 50 mM, mAb-316P anti-PCSK9 175 mg/ml.

²Los valores de 'sin estrés' son medias de ambos estudios de estabilidad.

³Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.

⁴ Porcentaje de potencia relativa; Criterio de aceptación: 50-200% del estándar de referencia

Tabla 13: Estabilidad del PF mAb-316P 150 mg/ml en PFS

Almacenamiento	0	5 °C a 6 me.	25 °C a 6 me.	45 °C a 28 días.
Aspecto	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez ¹	0,00	0,00	0,00	0,02
pH	6,1	6,1	6,1	6,1
% Total recuperado	100	102	102	97
% Nativo recuperado	96,6	96,1	94,2	92,4
% Agregado recuperado	2,4	2,6	3,2	4,3
% Principal recuperado	58,4	58,5	45,7	35,8
% Ácido recuperado	31,8	31,3	42,1	50,9
% Básico recuperado	9,8	10,2	12,2	13,4

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida.

Tabla 14: Estabilidad del PF mAb-316P 175 mg/ml en PFS

Almacenamiento	0	5 °C a 6 me.	25 °C a 6 me.	45 °C a 28 días.
Aspecto	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez ¹	0.00	0.00	0.02	0.04
pH	6.1	6.1	6.1	6.1
% Total recuperado	100	103	101	100
% Nativo recuperado	96,7	96,3	94,6	91,6
% Agregado recuperado	2,3	2,4	3,0	5,4
% Principal recuperado	59,1	59,7	47,1	37,7
% Ácido recuperado	31,2	30,6	40,6	48,2
% Básico recuperado	9,7	9,7	12,3	14,2

¹Turbidez = cambio en DO a 405 nm en relación al material de partida

Tabla 15: Compatibilidad de mAb-316P¹ 150 mg/ml durante 14 Días a 40 °C

Almacenamiento	Sin Almacenamiento, Cristal	Cristal	Polycarbonato	Polipropileno	Poliestireno	Acero inoxidable
Turbidez ¹	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
pH	6,0	6,1	6,0	6,0	6,0	6,0
% Total recuperado	100	97	104	99	105	104
% Nativo recuperado	97,4	95,9	95,8	95,7	95,7	95,5
% Agregado recuperado	1,7	2,5	2,6	2,7	2,6	2,7
% Principal recuperado	53,3	45,8	45,8	44,7	45,6	45,1
% Ácido recuperado	26,9	33,0	32,9	33,8	33,0	33,5
% Básico recuperado	19,8	21,3	21,6	21,6	21,5	21,4

5 ¹ Histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 20 0,2%, sacarosa al 10% y mAb 150 mg/ml
²Turbidez = DO a 405 nm en relación al material de partida.

Tabla 16: Compatibilidad de mAb-316P¹ 175 mg/ml durante 14 Días a 40 °C

Almacenamiento	Sin Almacenamiento, Cristal	Cristal	Polycarbonato	Polipropileno	Poliestireno	Acero Inoxidable
Turbidez ³	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
pH	6,1	6,1	6,1	6,0	6,1	6,1
% Total recuperado	100	98	104	100	105	98
% Nativo recuperado	96,6	95,3	95,2	95,1	95,2	94,9
% Agregado recuperado	2,4	3,0	3,1	3,2	3,1	3,3
% Principal recuperado	57,7	51,3	51,0	50,6	51,0	50,4
% Ácido recuperado	30,0	34,5	34,5	35,0	34,5	35,2
% Básico recuperado	12,3	14,2	14,5	14,4	14,4	14,4

¹ histidina 10 mM, pH 6,0, polisorbato 20 al 0,01%, sacarosa 5%, arginina 50 mM y mAb 175 mg/ml

5 ²Turbidez = DO a 405 nm en relación al material de partida.

Tabla 17: Heterogeneidad de la carga de mAb-316P por cIEF

	Lote 1		Lote 2		Lote 1:Lote 2 (1:1 mezcla)	
Pico N°	pl	Área de pico, %	pl	Área de pico, %	pl	Área de pico, %
1	7,99 (0,01)	0,8 (0,1)	7,99 (0,01)	0,8 (0,0)	7,98 (0,01)	0,7 (0,1)
2	8,15 (0,00)	2,6 (0,1)	8,15 (0,01)	2,6 (0,1)	8,14 (0,01)	2,6 (0,1)
3	8,29 (0,00)	6,9 (0,1)	8,29 (0,00)	7,0 (0,0)	8,28 (0,01)	6,9 (0,1)
4	8,42 (0,00)	18,4 (0,2)	8,42 (0,00)	18,6 (0,2)	8,42 (0,01)	18,5 (0,1)
5	8,54 (0,01)	66,4 (0,3)	8,55 (0,01)	68,0 (0,3)	8,54 (0,00)	67,3 (0,1)
6	8,65 (0,00)	4,0 (0,1)	8,65 (0,00)	2,8 (0,1)	8,64 (0,01)	3,4 (0,0)
7	8,82 (0,00)	0,9 (0,1)	8,81 (0,00)	0,3 (0,1)	8,81 (0,01)	0,6 (0,1)

Tabla 18: mAb-316P péptidos glucosilados

Pico N°	Fragmento de cadena pesada	Masa observada (Da)		Comentarios
		Lote 1	Lote 2	
15a	294-302	2957,15	2957,19	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₂
	294-302	2795,11	2795,11	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₁
	294-302	2404,94	2404,94	(GlcNAc) ₂ (Man) ₅
	294-302	2592,02	2591,96	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁ (Gal) ₁
	294-302	2267,94	2267,92	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₂ (GlcNAc) ₁
	294-302	2121,82	2121,80	(GlcNAc) ₂ (Man) ₂ (GlcNAc) ₁
15b	294-302	2283,91	2283,91	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	294-302	2429,98	2429,98	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	294-302	2486,99	2486,97	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂
	294-302	2633,05	2633,06	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂
16	294-302	1188,52	1188,53	sitio NST no glucosilado
17a	290-302	3439,44	3439,44	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₂
	290-302	3278,40	3277,35	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₁
	290-302	2887,20	2887,26	(GlcNAc) ₂ (Man) ₅
17b	290-302	2766,24	2766,21	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	290-302	2969,34	2969,25	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂
	290-302	2912,28	2912,25	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	290-302	3115,32	3115,35	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂

Tabla 19: Zonas de pico de glucanos integrados identificado por electroforesis capilar

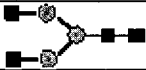
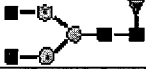
	Área ^a de pico Lote 1, %	Área de pico Lote 2, %	Área de pico de mezcla lote 1:1, %	Identidad de glucano ¹	Estructura de glucano ²
1	8,6 (0,2)	6,8 (0,1)	7,6 (0,2)	G0-Fuc	
2	1,8 (0,0)	2,9 (0,1)	2,3 (0,1)	Man5	
3	0,7 (0,0)	0,5 (0,0)	0,6 (0,0)	Pico menor no identificado	
4	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Pico menor no identificado	
5	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Pico menor no identificado	
6	34,4 (0,1)	45,8 (0,2)	40,4 (0,2)	G0	

Tabla 19: Zonas de pico de glucanos integrados identificado por electroforesis capilar

	Área ^a de pico 1, % Lote	Área de pico 2, % Lote	Área de pico de mezcla lote 1:1, %	Identidad de glucano ¹	Estructura de glucano ²
7	1,5 (0,0)	0,7 (0,0)	1,1 (0,0)	Pico menor no identificado	
8	Por debajo del LDC	0,9 (0,0)	0,6 (0,0)	Pico menor no identificado	
9	Por debajo del LDC	0,7 (0,0)	0,6 (0,0)	Pico menor no identificado	
10	29,5 (0,1)	24,7 (0,0)	27,0 (0,1)	G1(1-6)	
11	10,1 (0,1)	8,6 (0,0)	9,3 (0,1)	G1(1-3) y/o G2-Fuc	
12	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Pico menor no identificado	
13	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Por debajo del LDC	Pico menor no identificado	
14	11,7 (0,0)	7,1 (0,1)	9,4 (0,2)	G2	

¹ G#-fuc y G# hacen referencia a glucanos no fucosilados y fucosilados, respectivamente. El símbolo # se refiere a 0, 1 o 2.
² Clave del glucano: ▼ fucosa, ■ N-acetil glucosamina, ● manosa, ◆ galactosa.
LDC = Limite de Cuantificación.

REIVINDICACIONES

Se reivindica lo siguiente:

1. Una formulación farmacéutica que comprende: (i) un anticuerpo que se une específicamente a la proproteína humana convertasa sutilisina/kexina tipo 9 (PCSK9 humana); (ii) un tampón a pH $6,0 \pm 0,3$; (iii) un detergente no iónico y (iv) un estabilizador.

2. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende una HCDR1 de SEC ID N°: 2, una HCDR2 de SEC ID N°: 3, una HCDR3 de SEC ID N°: 4, una LCDR1 de SEC ID N°: 6, una LCDR2 de SEC ID N°: 7 y una LCDR3 de SEC ID N°: 8.

3. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, donde el anticuerpo comprende una HCVD de SEC ID N°: 1 y una LCVD de SEC ID N°: 5.

4. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde

(a) más de 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de $155 \text{ kDa} \pm 1 \text{ kDa}$;

(b) más de 50% de los anticuerpos tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5; y

(c) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

5. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la concentración del anticuerpo es de $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ a $175 \text{ mg/ml} \pm 26,25 \text{ mg/ml}$.

6. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el tampón es histidina.

7. La formulación farmacéutica de la reivindicación 6, donde la concentración de histidina es de $10 \text{ mM} \pm 1,5 \text{ mM}$.

8. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el detergente no iónico es polisorbato 20.

9. La formulación farmacéutica de la reivindicación 8, donde la concentración del polisorbato 20 es de 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% a 0,2% p/v $\pm$ 0,03%.

10. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el estabilizador es sacarosa.

5 11. La formulación farmacéutica de la reivindicación 10, donde la concentración de sacarosa es de 5% $\pm$ 0,75% a 12% $\pm$ 1,8% (p/v).

12. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde la concentración del anticuerpo es de 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml, el tampón es histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, el detergente no iónico es polisorbato 20 al 0,01% p/v $\pm$ 0,0015%, el estabilizador es sacarosa al 5% p/v $\pm$ 0,75% y adicionalmente
10 comprende arginina 50 mM $\pm$ 7,5 mM.

13. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde la concentración del anticuerpo es de 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml, el tampón es histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, el detergente no iónico es polisorbato 20 al 0,2% p/v $\pm$ 0,03% y el estabilizador es sacarosa al 10% p/v $\pm$ 1,5%.
15

14. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde la concentración del anticuerpo es de 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml, el tampón es histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, el detergente no iónico es polisorbato 20 al 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% y el estabilizador es sacarosa al 10% p/v $\pm$ 1,5%.

20 15. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde la concentración del anticuerpo es de 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml, el tampón es histidina 20 mM $\pm$ 3 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, el detergente no iónico es polisorbato 20 al 0,2% p/v $\pm$ 0,03% y el estabilizador es sacarosa al 12% p/v $\pm$ 1,8%.

16. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, donde la concentración del anticuerpo es de 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml, el tampón es histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, el detergente no iónico es polisorbato 20 al 0,1%
25

p/v $\pm$ 0,015%, el estabilizador es sacarosa 6% p/v $\pm$ 0,9%.

17. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde al menos el 91% del anticuerpo tiene una conformación nativa después de 28 días a 45 °C.

5 18. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde al menos el 35% del anticuerpo es la variante del anticuerpo con carga principal después de 28 días a 45 °C.

10 19. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde al menos el 94% del anticuerpo tiene una conformación nativa después de seis meses a 25 °C.

20. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde al menos el 45% del anticuerpo es la variante del anticuerpo con carga principal después de seis meses a 25 °C.

15 21. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde al menos el 96% del anticuerpo tiene una conformación nativa después de seis meses a 5 °C.

22. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde al menos el 58% del anticuerpo es la variante del anticuerpo con carga principal después de seis meses a 5 °C.

20 23. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, donde al menos el 96% del anticuerpo es la variante del anticuerpo con carga principal después de tres meses a -20 °C, -30 °C o -80 °C.

25 24. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde al menos el 56% del anticuerpo es la variante del anticuerpo con carga principal después de tres meses a -20 °C, -30 °C o -80 °C.

25. Una formulación farmacéutica que comprende (a) 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) polisorbato

20 al 0,01% p/v $\pm$ 0,0015%, (d) sacarosa 5% p/v $\pm$ 0,75% y (e) arginina 50 mM $\pm$ 7,5 mM, donde:

(a) el anticuerpo comprende una HCVD de SEC ID N°: 1 y una LCVD de SEC ID N°: 5;

- 5 (b) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa;
- (c) más del 50% de los anticuerpos tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5; y
- (d) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

26. La formulación farmacéutica de la reivindicación 25 que consiste en (a) 175
10 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml del anticuerpo, (b) histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) polisorbato 20 al 0,01% p/v $\pm$ 0,0015%, (d) sacarosa al 5% p/v $\pm$ 0,75% y (e) arginina 50 mM $\pm$ 7,5 mM, en agua.

27. Una formulación farmacéutica que comprende (a) 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) polisorbato 20
15 al 0,2% p/v $\pm$ 0,03% y (d) sacarosa al 10% p/v $\pm$ 1,5%, donde:

- (a) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5;
- (b) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa,
- (c) más del 50% de los anticuerpos tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5; y
- 20 (d) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

28. La formulación farmacéutica de la reivindicación 27 que consiste en (a) 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml del anticuerpo, (b) histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) polisorbato 20 al 0,2% p/v $\pm$ 0,03% y (d) sacarosa al 10% p/v $\pm$ 1,5%, en agua.

29. Una formulación farmacéutica que comprende (a) 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml
25 de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) 10 histidina mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) polisorbato 20 al 0,01% p/v $\pm$ 0,0015% y (d) sacarosa al 10% p/v $\pm$ 1,5%, donde:

(a) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5;

(b) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de $155 \text{ kDa} \pm 1 \text{ kDa}$,

(c) más del 50% de los anticuerpos tienen un punto isoelectrico de aproximadamente 8,5; y

(d) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

5 30. La formulación farmacéutica de la reivindicación 29 que consiste en (a) $150 \text{ mg/ml} \pm 22,5 \text{ mg/ml}$ del anticuerpo, (b) histidina $10 \text{ mM} \pm 1,5 \text{ mM}$, $\text{pH } 6 \pm 0,3$, (c) polisorbato 20 al $0,01\% \text{ p/v} \pm 0,0015\%$ y (d) sacarosa $10\% \text{ p/v} \pm 1,5\%$, en agua.

31. Una formulación farmacéutica que comprende (a) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ de un anticuerpo anti-PCSK9, (b) histidina $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$, $\text{pH } 6 \pm 0,3$, (c) polisorbato 20 al

10 $0,2\% \text{ p/v} \pm 0,03\%$ y (d) sacarosa al $12\% \text{ p/v} \pm 1,8\%$, donde:

(a) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5;

(b) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de $155 \text{ kDa} \pm 1 \text{ kDa}$,

(c) más del 50% de los anticuerpos tienen un punto isoelectrico de aproximadamente 8,5; y

15 (d) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

32. La formulación farmacéutica de la reivindicación 31 que consiste en (a) $100 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ del anticuerpo, (b) histidina $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$, $\text{pH } 6 \pm 0,3$, (c) polisorbato 20 al $0,2\% \text{ p/v} \pm 0,03\%$ y (d) sacarosa $12\% \text{ p/v} \pm 1,8\%$, en agua.

33. Una formulación farmacéutica que comprende (a) $50 \text{ mg/ml} \pm 7,5 \text{ mg/ml}$ de un anticuerpo que comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5, (b) histidina $10 \text{ mM} \pm 1,5 \text{ mM}$, $\text{pH } 6 \pm 0,3$, (c) polisorbato 20 al $0,1\% \text{ p/v} \pm 0,015\%$ y (d) sacarosa al $6\% \text{ p/v} \pm 0,9\%$, donde:

(a) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5;

(b) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de $155 \text{ kDa} \pm 1 \text{ kDa}$,

25 (c) más del 50% de los anticuerpos tienen un punto isoelectrico de aproximadamente 8,5; y

(d) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

34. La formulación farmacéutica de la reivindicación 33 que consiste en (a) 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml del anticuerpo, (b) histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, pH 6 $\pm$ 0,3, (c) polisorbato 20 al 0,1% p/v $\pm$ 0,015% y (d) sacarosa al 6% p/v $\pm$ 0,9%, en agua.

35. Un método para preparar una composición que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 y menos de un 0,3% de agua, comprendiendo el método las etapas de:

a) combinar agua, un anticuerpo anti-PCSK9, histidina, sacarosa, y polisorbato 20, en un vial de cristal

b) mantener la combinación de la etapa (a) a aproximadamente 5 °C durante aproximadamente 60 minutos; a continuación

10 c) disminuir la temperatura a una proporción de aproximadamente 0,5 °C por minuto; a continuación

d) mantener a aproximadamente -45 °C durante aproximadamente 120 minutos; a continuación

e) reducir la presión atmosférica a aproximadamente 100 mTorr;

15 f) aumentar la temperatura a una proporción de aproximadamente 0,5 °C por minuto; a continuación

g) mantener a aproximadamente -25 °C durante aproximadamente 78 horas; a continuación

20 h) aumentar la temperatura a una proporción de 0,2 °C por minuto; a continuación

i) mantener a aproximadamente 35°C durante aproximadamente 6 horas; a continuación

j) disminuir la temperatura a una proporción de aproximadamente 0,5 °C; a continuación

25 k) mantener a aproximadamente 25 ° durante aproximadamente 60 minutos, antes de su almacenamiento.

36. El método de la reivindicación 35, que adicionalmente comprende las etapas

74

de:

l) llenar el vial de cristal que contiene la combinación de la etapa (k) con gas nitrógeno; y

m) cerrar el vial a una presión atmosférica de aproximadamente el 80%.

5 37. El método de la reivindicación 35 o 36 donde la composición se lleva a 2-8 °C después de la etapa (i), (j) o (k) y antes de la etapa de cierre del vial.

38. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 35-37, donde 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml del anticuerpo anti-PCSK9, histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM, (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,1% $\pm$ 0,015% y sacarosa al 6% $\pm$ 0,9% se combinan en una etapa (a) y donde el
10 anticuerpo mAb-316P anti-PCSK9 comprende una HCDR1 de SEC ID N°: 2, una HCDR2 de SEC ID N°: 3, una HCDR3 de SEC ID N°: 4, una LCDR1 de SEC ID N°: 6, una LCDR2 de SEC ID N°: 7 y una LCDR3 de SEC ID N°: 8.

39. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 35-38, donde el anticuerpo anti-PCSK9 comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5.

15 40. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 35-39, donde (a) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5; (b) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa; (c) más del 50% de los anticuerpos tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5 y (d) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

20 41. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 y menos de un 0,3% de agua, producida según el método de una cualquiera de las reivindicaciones 35-40.

42. Una composición farmacéutica que comprende una composición farmacéutica de la reivindicación 41 resuspendida en agua.

25 43. La composición farmacéutica de la reivindicación 42 que consiste en 50 mg/ml $\pm$ 7,5 mg/ml del anticuerpo, histidina 10 mM $\pm$ 1,5 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,1% $\pm$ 0,015% y sacarosa al 6% $\pm$ 0,9%, en agua.

44. La composición farmacéutica de la reivindicación 42 que consiste en 100 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml del anticuerpo, histidina 20 mM $\pm$ 3 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,2% $\pm$ 0,03% y sacarosa al 12% $\pm$ 1,8%, en agua.

5 45. La composición farmacéutica de la reivindicación 42 que consiste en 150 mg/ml $\pm$ 22,5 mg/ml del anticuerpo, histidina 30 mM $\pm$ 4,5 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,3% $\pm$ 0,045% y sacarosa al 18% $\pm$ 2,7%, en agua.

46. La composición farmacéutica de la reivindicación 42 que consiste en 175 mg/ml $\pm$ 26,25 mg/ml del anticuerpo, histidina 35 mM $\pm$ 5,25 mM (pH 6,0), polisorbato 20 al 0,35% $\pm$ 0,0525% y sacarosa al 21% $\pm$ 3,15%, en agua.

10 47. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 41-46, en donde (a) el anticuerpo comprende un HCVD de SEC ID N°: 1 y un LCVD de SEC ID N°: 5; (b) más del 90% de los anticuerpos tienen un peso molecular de 155 kDa $\pm$ 1 kDa; (c) más del 50% de los anticuerpos tienen un punto isoeléctrico de aproximadamente 8,5 y (d) del 75% al 90% de los anticuerpos están fucosilados.

15 48. Una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-34 y 41-47, donde dicha composición está contenida en un envase.

49. La composición farmacéutica de la reivindicación 48, donde el envase es un vial.

50. La composición farmacéutica de la reivindicación 49, donde el vial es cristal.

20 51. La composición farmacéutica de la reivindicación 48, donde el envase es una jeringa.

52. La composición farmacéutica de la reivindicación 51, donde la jeringa es de cristal con bajo contenido en tungsteno.

25 53. La composición farmacéutica de la reivindicación 51, donde la jeringa es una jeringa de cristal NUOVA OMPI de 1 ml de longitud equipada con una aguja de pared fina de 27-G, un tapón de goma 4023/50 cubierto de FLUROTEC y un capuchón con punta de goma FM 27.

54. Un kit que comprende una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-34 y 41-47, un envase e instrucciones.

55. El kit de la reivindicación 54, donde el envase es una jeringa precargada.

56. El conjunto de la reivindicación 55, donde la jeringa es una jeringa de cristal

5 NUOVA OMPI de 1 ml de longitud equipada con una aguja de pared fina 27-G, un tapón de goma 4023/50 cubierto de FLUROTEC y un capuchón con punta de goma FM 27.

RESUMEN

La presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente a la proproteína humana convertasa subtilisina/quexina tipo 9 (PCSK9). Las formulaciones pueden contener, además de un anticuerpo anti-PCSK9, al menos un aminoácido, al menos un azúcar o al menos un tensioactivo no iónico. Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención muestran un grado sustancial de estabilidad del anticuerpo tras su almacenamiento durante varios meses.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-PCSK9

<130> 7050A

<160> 9

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35 40 45

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys His Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala
1 5

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr
1 5

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 4

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 5
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 5

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Arg
20 25 30
Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 6

Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Phe
1 5 10

<210> 7
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 7

Trp Ala Ser
1

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética
<400> 8

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 9
<211> 692
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Gly Thr Val Ser Ser Arg Arg Ser Trp Trp Pro Leu Pro Leu Pro
1 5 10 15
Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ala Arg Ala Gln Glu
20 25 30
Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu
35 40 45
Glu Asp Gly Leu Ala Asp Ala Pro Glu His Gly Ala Thr Ala Thr Phe
50 55 60
His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val
65 70 75 80
Val Leu Lys Glu Glu Thr His Arg Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg
85 90 95
Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu
100 105 110
His Val Phe His His Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met Ser Gly
115 120 125
Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr Ile Glu
130 135 140
Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg
145 150 155 160
Ile Thr Pro Ala Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro Lys Gly
165 170 175
Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln Ser Asp
180 185 190
His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met Val Thr Asp Phe Glu Ser Val
195 200 205
Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp
210 215 220
Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly
225 230 235 240
Val Ala Lys Gly Ala Gly Leu Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn Cys Gln
245 250 255

Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Phe Ile Arg
260 265 270

Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu Leu Pro
275 280 285

Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Phe Asn Ala Ala Cys Gln Arg Leu
290 295 300

Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe Arg Asp
305 310 315 320

Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile Thr Val
325 330 335

Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu Gly
340 345 350

Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu Asp Ile
355 360 365

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Arg Ser Gly
370 375 380

Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met Met Leu
385 390 395 400

Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Leu Ile
405 410 415

His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp
420 425 430

Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro Ser Thr
435 440 445

His Arg Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser Ala His
450 455 460

Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Val Ala Arg Cys Ala Gln Asp
465 470 475 480

Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys Arg Arg
485 490 495

Gly Glu Arg Ile Glu Ala Gln Gly Gly Lys Arg Val Cys Arg Ala His
500 505 510

88

Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu
515 520 525

Leu Pro Gln Val Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Gly Ala
530 535 540

Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr
545 550 555 560

Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro
565 570 575

Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg
580 585 590

Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys
595 600 605

Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val Ile Val
610 615 620

Ala Cys Glu Asp Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Pro Leu Pro Gly
625 630 635 640

Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val
645 650 655

Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Lys Glu Ala Val
660 665 670

Ala Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Val Gln Ala Ser
675 680 685

Gln Glu Leu Gln
690

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: <i>2020</i>		Fecha: ____/____/____ AAAA MM DD 2014 01-24	
		Recorrido: 2	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-13109	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
<i>7</i>	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:

*El cd Anexo contiene un total de 3 Archivos,
1 en formato pdf, el cual fue procesado.*

griselda

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: **United States of America**

This public document

2. has been signed by **Gloria D'Amico**

3. acting in the capacity of **County Clerk**

4. bears the seal/stamp of the county of **Queens**

Certified

5. At New York, New York 6. the 18th day of December 2008

7. by Special Deputy Secretary of State, State of New York

8. No. NYC-10643439A

9. Seal/Stamp

10. Signature



James Bizzarri

James Bizzarri
Special Deputy Secretary of State

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

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

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

domiciliado (s) en/of

777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10590, United States of America

hereby ratify the patent app. #08138158 filed by Emilio Ferrero on December 30, 2008

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y DANIEL PEÑA, tpa. 65620, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

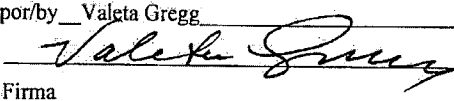
Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos;

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and DANIEL PEÑA, tpa. 65620, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate, depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the

b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case; desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this 10 December 2008
en/in Tarrytown, New York, US
por/by Valeta Gregg

Firma Signature

State of New York } ss:
County of Queens }

No. 160492

Form 1

I, GLORIA D'AMICO, Clerk of the County of Queens, and Clerk of the Supreme Court in and for said county, the same being a court of record having a seal, DO HEREBY CERTIFY THAT

Yung-Ki Yang

whose name is subscribed to the annexed original instrument has been commissioned and qualified as a NOTARY PUBLIC



and has filed his autograph signature in this office and that he/she was at the time of taking such proof or acknowledgment or oath duly authorized by the laws of the State of New York to take the same; that he is well acquainted with the handwriting of such public officer or has compared the signature on the certificate of proof or acknowledgment or oath with the autograph signature filed in his office by such public officer, and he believes that the signature on the original instrument is genuine.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand and my official seal this

.....day of.....

DEC 16 2006

Gloria D'Amico

County Clerk, Queens County

CERTIFICACION NOTARIAL (SOCIEDAD)

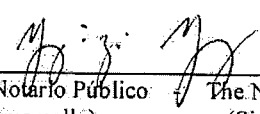
El infrascrito Notario Certifica: Que la firma que antecede de _____
es auténtica; que el signatario desempeña actualmente el cargo de _____
de la compa a _____,
sociedad que actualmente existe y está organizada de acuerdo a las leyes de _____,
que la dirección de dicha compa a es _____,
y que el signatario tiene facultad para otorgar este documento.

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.
Dado y firmado en _____
El _____

NOTARIAL CERTIFICATION (COMPANY)

The undersigned Notary certifies: That the preceding signature of Valeta Gregg _____
is authentic, that the signatory currently acts in the position of Assistant general Counsel, Vice President, Patents _____
of the company
REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
a company currently existing and organized under the laws of New York, US
that the address is
777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10590,
United States of America
and that the signatory has the power to grant this document.

The Notary Public is aware and attests to the above facts upon examination of the corresponding documents.
Given and signed in Tarrytown, New York, US _____
On 10 December 2008 _____


El Notario Publico The Notary Public
(Firma-sello) (Signature-seal)

YING-ZI YANG
Notary Public, State of New York
No. 01YA6136005
Qualified in Queens County
My Comm. Expires Oct. 31, 2009

APOSTILLE
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

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

Certified

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

95

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 03.03/09b realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento mediante el cual **REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.**, domiciliada en 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10590, Estados Unidos de América, *por el presente ratifica la solicitud de patente #08138158 presentada por el Dr. Emilio Ferrero el 30 de diciembre de 2008* y adicionalmente otorga derechos de representación y poder a los Doctores Emilio Ferrero, tpa. 31929; Luz Clemencia de Páez tpa. 23555 y Daniel Páez, tpa. 65620, domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia.

Dado y firmado el 10 de diciembre de 2008 en Tarrytown, Nueva York, Estados Unidos de América por Valeta Gregg.

Firma Firma Ilegible

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (SOCIEDAD)

El suscrito Notario certifica: Que la firma que antecede de Valeta Gregg es auténtica, que el signatario desempeña actualmente en cargo de Asesor Legal Asistente, Vicepresidente, Patentes, de la compañía **REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.**, sociedad que actualmente existe y está organizada de acuerdo a las leyes de Nueva York, Estados Unidos de América, que la dirección de dicha compañía es 777 Old Mill River Road, Tarrytown, New York 10590, Estados Unidos de América y que el signatario tiene facultad para otorgar este documento.

El Notario Público tiene conocimiento y da fe de los hechos anteriores después de haber examinado los documentos correspondientes.

96

Dado y firmado en Tarrytown, Nueva York, Estados Unidos de América
el 10 de diciembre de 2008.

Firma Ilegible

El Notario Público

YING-ZI YANG
Notario Público - Estado de Nueva York
No. 01YA6136005
Calificado en el Condado de Queens
Mí Comisión Vence Oct. 31 de 2009

(Anexo)

Estado de Nueva York,) No. 160492
Condado de Queens) Declaración Juramentada

Forma 1

Yo, GLORIA D'AMICO, Secretaria del Condado de Queens y
Secretario de la Corte Suprema en y para dicho condado, el cual es
un tribunal de registro que tiene por ley un sello, POR EL
PRESENTE CERTIFICO QUE

Ying-Zi Yang

cuyo nombre está suscrito en el anexo instrumento original ha sido
comisionado y calificado como NOTARIO PÚBLICO
y ha presentado su firma autógrafa en esta oficina y que al momento
de tomar dicha prueba o reconocimiento o juramento él/ella estaba
debidamente autorizado por las leyes del Estado de Nueva York para
tomar los mismos; que él está bien familiarizado con la escritura
de dicho funcionario público o ha comparado la firma que aparece en
el certificado de prueba o reconocimiento o juramento con la firma
autógrafa presentada ante su oficina por dicho funcionario público
y él considera que la firma en el documento original es auténtica.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, he firmado y colocado mi sello oficial al
presente hoy

DIC 16 DE 2008

Diego F. Vargas Z.
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS -- INGLÉS - ESPAÑOL

Firma ilegible

RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

Secretario de Condado, Condado de Queens
MINISTERIO DE JUSTICIA

QUEEN'S
CLERK
A 11:10
C. J. JACOBSON

98

CAVELIER

ABOGADOS

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

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

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

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

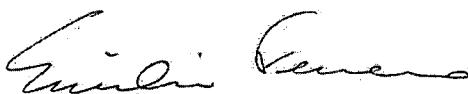
E. S. D.

Poderdante : REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

Poder conferido el : 10/12/2008

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

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



EMILIO FERRERO

T.P.A. N° 31.929

C.C. N° 438.019 de Usaquén

Acepto:


LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

T.P.A. N° 23.555

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA
RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
Bogotá, D.C. **21 OCT. 2009**
Ante mí **MARIA FERNANDA CASAS COLL,**
NOTARIA SEXTA (E) DEL CIRCULO DE
BOGOTA D.C.
Compareció(eron) **Emilio Ferrero**
Williamson
Luz Clemencia Suarez de
paez
Quié(n)es exhibió(eron) la(s) C.C.
CC + 438019 TP 31929
CC + 35456344 TP 23555
Y declaró(aron) que la(s) firma(s) que aparece(n)
en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y
que el contenido del mismo es cierto.
En constancia se firma esta diligencia.

Emilio Ferrero
Luz Clemencia Suarez de Paez





UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNDER SECRETARY OF COMMERCE FOR INTELLECTUAL PROPERTY AND
DIRECTOR OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

AUGUST 1, 2012

PTAS

JAMES KANG
777 OLD SAW MILL RIVER ROAD
TARRYTOWN, NY 10591-6707

502007601

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
NOTICE OF RECORDATION OF ASSIGNMENT DOCUMENT

THE ENCLOSED DOCUMENT HAS BEEN RECORDED BY THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH OF THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE. A COMPLETE COPY IS AVAILABLE AT THE ASSIGNMENT SEARCH ROOM ON THE REEL AND FRAME NUMBER REFERENCED BELOW.

PLEASE REVIEW ALL INFORMATION CONTAINED ON THIS NOTICE. THE INFORMATION CONTAINED ON THIS RECORDATION NOTICE REFLECTS THE DATA PRESENT IN THE PATENT AND TRADEMARK ASSIGNMENT SYSTEM. IF YOU SHOULD FIND ANY ERRORS OR HAVE QUESTIONS CONCERNING THIS NOTICE, YOU MAY CONTACT THE ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH AT 571-272-3350. PLEASE SEND REQUEST FOR CORRECTION TO: U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE, MAIL STOP: ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

RECORDATION DATE: 07/31/2012

REEL/FRAME: 028682/0380
NUMBER OF PAGES: 3

BRIEF: ASSIGNMENT OF ASSIGNORS INTEREST (SEE DOCUMENT FOR DETAILS).

ASSIGNOR:

WALSH, SCOTT M.

DOC DATE: 07/31/2012

ASSIGNOR:

DIX, DANIEL B.

DOC DATE: 07/31/2012

ASSIGNEE:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
777 OLD SAW MILL RIVER ROAD
TARRYTOWN, NEW YORK 10591-6707

APPLICATION NUMBER: 61512666

FILING DATE: 07/28/2011

PATENT NUMBER:

ISSUE DATE:

TITLE: STABILIZED FORMULATIONS CONTAINING ANTI-PCSK9 ANTIBODIES

ASSIGNMENT RECORDATION BRANCH
PUBLIC RECORDS DIVISION

502007601 07/31/2012

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1

Stylesheet Version v1.1

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT										
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT										
CONVEYING PARTY DATA											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Name</th> <th>Execution Date</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Scott M. Walsh</td> <td>07/31/2012</td> </tr> <tr> <td>Daniel B. Dix</td> <td>07/31/2012</td> </tr> </tbody> </table>		Name	Execution Date	Scott M. Walsh	07/31/2012	Daniel B. Dix	07/31/2012				
Name	Execution Date										
Scott M. Walsh	07/31/2012										
Daniel B. Dix	07/31/2012										
RECEIVING PARTY DATA											
<table border="1"> <tr> <td>Name:</td> <td>Regeneron Pharmaceuticals, Inc.</td> </tr> <tr> <td>Street Address:</td> <td>777 Old Saw Mill River Road</td> </tr> <tr> <td>City:</td> <td>Tarrytown</td> </tr> <tr> <td>State/Country:</td> <td>NEW YORK</td> </tr> <tr> <td>Postal Code:</td> <td>10591-6707</td> </tr> </table>		Name:	Regeneron Pharmaceuticals, Inc.	Street Address:	777 Old Saw Mill River Road	City:	Tarrytown	State/Country:	NEW YORK	Postal Code:	10591-6707
Name:	Regeneron Pharmaceuticals, Inc.										
Street Address:	777 Old Saw Mill River Road										
City:	Tarrytown										
State/Country:	NEW YORK										
Postal Code:	10591-6707										
PROPERTY NUMBERS Total: 1											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Property Type</th> <th>Number</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Application Number:</td> <td>61512666</td> </tr> </tbody> </table>		Property Type	Number	Application Number:	61512666						
Property Type	Number										
Application Number:	61512666										
CORRESPONDENCE DATA											
Fax Number: 9148477705 Phone: 9148471081 Email: james.kang@regeneron.com <i>Correspondence will be sent to the e-mail address first; if that is unsuccessful, it will be sent via US Mail.</i> Correspondent Name: James Kang Address Line 1: 777 Old Saw Mill River Road Address Line 4: Tarrytown, NEW YORK 10591-6707											
NAME OF SUBMITTER:	James Kang										
Total Attachments: 2 source=7050P_Assignment#page1.tif source=7050P_Assignment#page2.tif											

CH \$40.00 61512666

PATENT ASSIGNMENT

Electronic Version v1.1
Stylesheet Version v1.1

SUBMISSION TYPE:	NEW ASSIGNMENT										
NATURE OF CONVEYANCE:	ASSIGNMENT										
CONVEYING PARTY DATA											
<table border="1"><thead><tr><th>Name</th><th>Execution Date</th></tr></thead><tbody><tr><td>Scott M. Walsh</td><td>07/31/2012</td></tr><tr><td>Daniel B. Dix</td><td>07/31/2012</td></tr></tbody></table>	Name	Execution Date	Scott M. Walsh	07/31/2012	Daniel B. Dix	07/31/2012					
Name	Execution Date										
Scott M. Walsh	07/31/2012										
Daniel B. Dix	07/31/2012										
RECEIVING PARTY DATA											
<table border="1"><tr><td>Name:</td><td>Regeneron Pharmaceuticals, Inc.</td></tr><tr><td>Street Address:</td><td>777 Old Saw Mill River Road</td></tr><tr><td>City:</td><td>Tarrytown</td></tr><tr><td>State/Country:</td><td>NEW YORK</td></tr><tr><td>Postal Code:</td><td>10591-6707</td></tr></table>	Name:	Regeneron Pharmaceuticals, Inc.	Street Address:	777 Old Saw Mill River Road	City:	Tarrytown	State/Country:	NEW YORK	Postal Code:	10591-6707	
Name:	Regeneron Pharmaceuticals, Inc.										
Street Address:	777 Old Saw Mill River Road										
City:	Tarrytown										
State/Country:	NEW YORK										
Postal Code:	10591-6707										
PROPERTY NUMBERS Total: 1											
<table border="1"><thead><tr><th>Property Type</th><th>Number</th></tr></thead><tbody><tr><td>Application Number:</td><td>61512666</td></tr></tbody></table>	Property Type	Number	Application Number:	61512666							
Property Type	Number										
Application Number:	61512666										
CORRESPONDENCE DATA											
Fax Number: 9148477705 Phone: 9148471081 Email: james.kang@regeneron.com <i>Correspondence will be sent to the e-mail address first; if that is unsuccessful, it will be sent via US Mail.</i> Correspondent Name: James Kang Address Line 1: 777 Old Saw Mill River Road Address Line 4: Tarrytown, NEW YORK 10591-6707											
NAME OF SUBMITTER:	James Kang										
Signature:	/James Kang/										
Date:	07/31/2012										
Total Attachments: 2 source=7050P_Assignment#page1.tif source=7050P_Assignment#page2.tif											
RECEIPT INFORMATION											
EPAS ID: PAT2044699 Receipt Date: 07/31/2012 Fee Amount: \$40											

ASSIGNMENT

WHEREAS, I (WE), **Scott M. WALSH**, residing at 302 Watch Hill Drive, Tarrytown, New York 10591, a citizen of the United States of America; and **Daniel B. DIX**, residing at 55 Memory Trail, LaGrangeville, New York, a citizen of the United States of America; (HEREINAFTER CALLED "ASSIGNORS") am (are) inventor(s) of the invention(s) disclosed and/or claimed in the following patent application(s):

Serial No. 61/512,666, filed 28 July 2011, titled:

"Stabilized Formulations Containing Anti-PCSK9 Antibodies"

WHEREAS, **REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.**, a corporation organized and existing under the laws of the State of New York, with offices at 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591-6707, U.S.A. (HEREINAFTER called "ASSIGNEE") is desirous of acquiring my (our) entire right, title and interest in, to, and under said application(s);

NOW, THEREFORE, in consideration of the sum of One Dollar (\$1.00) to me (us) in hand paid, and other good and valuable consideration, the receipt of which is hereby acknowledged, I (WE), said ASSIGNOR(S), have sold, assigned, transferred and set over, and by these presents do hereby sell, assign, transfer and set over unto said ASSIGNEE, its successors, legal representatives, and assigns, my (our) entire right, title and interest for all countries in and to any and all inventions which are disclosed and claimed, and any and all inventions which are disclosed but not claimed, in the above-described United States application(s), and in and to said United States Application(s) and all divisions, renewals, continuations, and continuations-in-part thereof, and all Patents of the United States which may be granted thereon and all reissues and extensions thereof; and all applications for industrial property protection, including, without limitation, all applications for patents utility models, and designs which may hereafter be filed for said inventions in any country or countries foreign to the United States, together with the right to file such applications and the right to claim for the same the priority rights derived from said United States application(s) under the Patent Laws of the United States, the International Convention of 1883 and later modifications thereof, under the Patent Cooperation Treaty, under the European Patent Convention, or under any other available international agreement or under the domestic laws of the country in which any such application is filed, as may be applicable; and all forms of industrial property protection, including, without limitation, patents, utility models, inventors' certificates and designs which

102

may be granted for said inventions in any country or countries foreign to the United States and all extensions, renewals and reissues thereof;

AND I (WE) HEREBY authorize and request the Commissioner of Patents and Trademarks of the United States and any Official of any country or countries foreign to the United States whose duty it is to issue patents or other evidence or forms of industrial property protection on applications as aforesaid, to issue the same to the said ASSIGNEE, their successors, legal representatives and assigns, in accordance with this instrument;

AND I (WE) HEREBY covenant and agree that I (WE) have full right to convey the entire interest hereinafter assigned, and that I (WE) have not executed, and will not execute, any agreement in conflict herewith;

AND I (WE) HEREBY further covenant and agree that I (WE) will communicate to said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, any facts known to me (us) respecting said inventions, and testify in any legal proceeding, sign all lawful papers, execute all divisional, continuing, continuation-in-part, reissue and foreign applications, make all rightful oaths, and generally do everything possible to aid said ASSIGNEE, its successors, legal representatives and assigns, to obtain and enforce proper protection for said inventions in all countries.

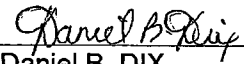
IN TESTIMONY WHEREOF, I (WE) hereunto set my (OUR) hand(s) and seal the day and year set opposite our signatures.

Date: 7/31/12



Scott M. WALSH

Date: July 31, 2012



Daniel B. DIX

OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS
SUBSECRETARIO DE COMERCIO PARA LA PROPIEDAD INTELECTUAL
DIRECTOR DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS

502007601

Agosto 1, 2012

PTAS

JAMES KANG.
777 OLD SAW MILL RIVER ROAD
TARRYTOWN, NY 10591-6707

LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS
AVISO DE REGISTRO DE DOCUMENTO DE CESIÓN

EL DOCUMENTO ADJUNTO HA SIDO INSCRITO POR LA DIVISIÓN DE CESIONES DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS. UNA COPIA COMPLETA MICROFILMADA SE ENCUENTRA A DISPOSICIÓN EN LA SALA DE BUSQUEDAS DE CESIONES EN EL NÚMERO DE RIEL Y MARCO ABAJO REFERENCIADO.

POR FAVOR REVISE TODA LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE AVISO. LA INFORMACION CONTENIDA EN ESTE AVISO DE INSCRIPCIÓN REFLEJA LOS DATOS PRESENTES EN EL SISTEMA DE CESIONES DE PATENTES Y MARCAS. SI LLEGARE A ENCINTRAR CUALQUIER ERROR O TIENE PREGUNTAS RELACIONADAS CON ESTE AVISO, PUEDE CONTACTAR AL EMPLEADO CUYO NOMBRE APARECE EN ESTE AVISO AL 571-272-3350. POR FAVOR ENVIE UNA SOLICITUD PARA CORRECCIÓN A: OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS, PARADA DE CORREO: SUCURSAL DE SERVICIOS DE CESIÓN, P.O. BOX 1450, ALEXANDRIA, VA 22313.

FECHA DE INSCRIPCIÓN: 07/31/2012

RIEL/MARCO: 028682/0380

NÚMERO DE PÁGINAS: 3

MEMORIAL: CESION DEL INTERES DEL CEDENTE (VER DOCUMENTO PARA DETALLES)

CEDENTE:

WALSH, SCOTT

FECHA DOC: 07/31/2012

CEDENTE:

DIX, DANIEL

FECHA DOC: 07/31/2012

CESIONARIO:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

777 OLD SAW MILL RIVER ROAD

TARRYTOWN, NY 10591-6707

NÚMERO DE SOLICITUD: 61512666

FECHA DE PRESENTACIÓN: 07/28/2011

NÚMERO DE PATENTE:

FECHA EXPEDICIÓN:

TÍTULO: FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS ANTI-PCSK9

SUCURSAL SERVICIOS CESIONES

DIVISION REGISTROS PUBLICOS

CESIÓN DE PATENTE

Versión Electrónica v1.1

Versión hojas v1.1

TIPO DE PRESENTACIÓN	NUEVA CESIÓN
NATURALEZA DE LA CESIÓN	CESION

DATOS DE LA PARTE QUE TRANSPASA	
Nombre	Fecha de Suscripción
Scott M. Walsh	07/31/2012
Daniel B. Dix	07/31/2012
DATOS DE LA PARTE QUE RECIBE	
Nombre	Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
Dirección Calle	777 Old Saw Mill River Road
Ciudad	Tarrytown
Estado/País	NEW YORK
Código Postal	10591-6707
NUMEROS DE PROPIEDAD Total: 1	
Tipo de Propiedad	Número
Solicitud Número	61512666
DATOS CORRESPONDENCIA	
Número de Fax	(914)8477705
Teléfono:	9148471081
Correo Electrónico	James.kang@regeneron.com
La correspondencia será enviada a la dirección de correo electrónico primero; si eso no fuera exitoso, será enviada a través de correo de los Estados Unidos	
Nombre Corresponsal	James Kang
Dirección Línea 2	777 OLD SAW MILL RIVER ROAD
Dirección Línea 4	TARRYTOWN, NY 10591-6707
NOMBRE DE QUIEN PRESENTA	James Kang
Total Anexos: 2	
Fuente=7050P_Assignment_signed#page1.tif	
Fuente=7050P_Assignment_signed#page2.tif	

CESIÓN DE PATENTE

Versión Electrónica v1.1

Versión hojas v1.1

TIPO DE PRESENTACIÓN	NUEVA CESIÓN
NATURALEZA DE LA CESIÓN	CESION
DATOS DE LA PARTE QUE TRANSPASA	
Nombre	Fecha de Suscripción
Scott M. Walsh	07/31/2012
Daniel B. Dix	07/31/2012
DATOS DE LA PARTE QUE RECIBE	
Nombre	Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
Dirección Calle	777 Old Saw Mill River Road
Ciudad	Tarrytown
Estado/País	NEW YORK

Código Postal	10591-6707
NUMEROS DE PROPIEDAD Total: 1	
Tipo de Propiedad	Número
Solicitud Número	61512666
DATOS CORRESPONDENCIA	
Número de Fax	(914)8477705
Teléfono:	9148471081
Correo Electrónico	James.kang@regeneron.com
La correspondencia será enviada a la dirección de correo electrónico primero; si eso no fuera exitoso, será enviada a través de correo de los Estados Unidos	
Nombre Corresponsal	James Kang
Dirección Línea 2	777 OLD SAW MILL RIVER ROAD
Dirección Línea 4	TARRYTOWN, NY 10591-6707
NOMBRE DE QUIEN PRESENTA	James Kang
NOMBRE DE QUIEN PRESENTA	James Kang
Firma:	/James Kang/
Fecha:	07/31/2012
Total Anexos: 2 Fuente=7050P_Assignment_signed#page1.tif Fuente=7050P 2_Assignment_signed#page2.tif	
INFORMACION DE RECIBO ID EPAS: PAT2044699 Fecha de Recibo: 07/31/2012 Suma de Derechos: \$40	

USSN 61/578,309

USSN 61/498,309

CESIÓN

Página 1 de 2

CESION

POR CUANTO, YO (NOSOTROS), Scott M. WALSH, residente en 302 Watch Hill Drive, Tarrytown, New York 10591, un ciudadano de los Estados Unidos de América; y Daniel B. DIX, residente en 55 Memory Trail, LaGrangeville, New York, un ciudadano de los Estados Unidos de América; (EN ADELANTE DENOMINADOS LOS "CEDENTES") somos los inventores de la invención divulgada y/o reivindicada en la siguiente solicitud de patente:

Serie No. 61/512,666, presentada el 28 de Julio de 2011 titulada:
"FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS ANTI-PCSK9"

POR CUANTO, REGENERON PHARMACEUTICALS, INC., una sociedad organizada y existente bajo las leyes del Estado de New York, con oficinas en 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591-6707, Estados Unidos de América 8EN ADELANTE EL "CESIONARIO") tiene el deseo de adquirir nuestro completo derecho, título e interés en, para y bajo las mencionadas solicitudes;

AHORA, POR CONSIGUIENTE, en contraprestación a la suma de Un Dólar (\$1.00) pagado a mi a la mano y otra buena y valorable contraprestación, cuyo recibo por el presente se reconoce, Yo (NOSOTROS), los mencionados CEDENTES, hemos vendido, cedido, transferido y traspasado, y por el presente vendemos, cedemos, transferimos y traspasamos al mencionado CESIONARIO, sus sucesores, representantes legales y cesionarios, nuestro completo derecho, título e interés para todos los países en y para cualquier invención que sea divulgada y reivindicada y cualquiera y todas las invenciones que sean divulgadas pero no reivindicadas en las antes descritas solicitudes de los Estados Unidos y todas las divisiones, renovaciones, continuaciones y continuaciones en parte de las mismas, y todas las Patentes de los Estados Unidos que puedan otorgarse sobre las mismas y todas las re-expediciones y prorrogas de las mismas; y todas las solicitudes para protección de propiedad industrial, incluyendo, sin limitación, todas las solicitudes para modelos de utilidad y diseños que en adelante puedan ser presentados para tales invenciones en cualquier país o países extranjeros a los Estados Unidos, junto con el derecho de presentar tales solicitudes y el derecho a reivindicar para los mismo los derechos de prioridad derivados de tales solicitudes de los Estados Unidos bajo las Leyes de Patente de los Estados Unidos, la Convención Internacional de 1883 y reformas posteriores de la misma, bajo el Tratado de Cooperación de Patentes, bajo la Convención de Patentes Europea, o bajo cualquier otro acuerdo internacional disponible o bajo leyes locales del país en el cual cualquier tal solicitud es presentada, como pueda ser aplicable; y todas las formas de protección de propiedad industrial, incluyendo, sin limitación, patentes, modelos de utilidad títulos de inventores y diseños que puedan ser otorgados para tales invenciones en cualquier país o países extranjeros a los Estados Unidos de América y todas las prorrogas, renovaciones y re-expediciones de las mismas;

Y YO (NOSOTROS) POR EL PRESENTE autorizamos y solicitamos al Comisionado de Patentes y Marcas de los Estados Unidos y a cualquier Funcionario de cualquier país o países extranjeros a los Estados Unidos cuyo deber sea la expedición de patentes u otras pruebas de formas de protección de propiedad industrial sobre solicitudes como las arriba mencionadas, expedir las mismas al mencionado CESIONARIO, a sus sucesores, representantes legales y cesionarios, de acuerdo con este instrumento;

Y YO (NOSOTROS) POR EL PRESENTE declaramos y acordamos que YO (NOSOTROS) tenemos el pleno derecho para traspasar el completo interés aquí en adelante cedido, y que YO (NOSOTROS) no hemos suscrito y no suscribiremos cualquier acuerdo que entre en conflicto con ellos;

Y YO (NOSOTROS) POR EL PRESENTE además declaramos y acordamos que YO (NOSOTROS) comunicaremos al mencionado CESIONARIO, sus sucesores, representante legal y cesionarios, cualesquiera hechos que conozcamos en relación con tales invenciones y testificaremos en cualquier proceso legal, firmaremos papeles lícitos, suscribiremos solicitudes de división, continuación, continuación en parte, reexpedición y solicitudes extranjeras, haremos todos los juramentos debidos y en general haremos todo lo que sea posible para ayudar al mencionado CESIONARIO, a sus sucesores, representantes legales y cesionarios para obtener y hacer cumplir la protección adecuada para tales invenciones en todos los países.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, YO (NOSOTROS) hemos firmado y sellado el día y año escritos en frente de nuestras firmas.

Fecha: 7/31/12

(Firmado)
Scott M. WALSH

Fecha: Julio 31, 2012

(Firmado)
Daniel B. DIX

105
107

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD FASE NACIONAL PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 039/395	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 61/512,666	(32) Fecha 2011/07/28	(33) País US
		(72) Inventor(es) SCOTT WALSH DANIEL DIX	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 2014/02/28		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 2013/01/31
	Fecha de presentación de la solicitud: 2012/07/27		N° publicación: WO 2013/016648 A3
	No. de solicitud PCT/US2012/048574		
(54) Título: FORMULACIONES ESTABILIZADAS QUE CONTIENEN ANTICUERPOS ANTI-PCSK9			

Resumen:

La presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une específicamente a la proproteína humana convertasa subtilisina/quexina tipo 9 (PCSK9). Las formulaciones pueden contener, además de un anticuerpo anti-PCSK9, al menos un aminoácido, al menos un azúcar o al menos un tensioactivo no iónico. Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención muestran un grado sustancial de estabilidad del anticuerpo tras su almacenamiento durante varios meses.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 006967

Bogotá D.C., Enero 22 de 2014 - 16:48:00

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	651483884	22/01/2014	11.993.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
				\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-013109- -00000-0000

Fecha: 2014-01-23 15:19:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 109

C/O: 16813-841-014-2

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

Enero 22 de 2014 - 16:48:03

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 006957

Bogotá D.C., Enero 22 de 2014 - 16:48:00

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	651483884	22/01/2014	11.993.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
46 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	31.000.00	1.426.000.00
			\$1.426.000.00

SON: **UN MILL & OACUTE;N CUATROCIENTOS VEINTISEIS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable:

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-013109-00000-0000

Fecha: 2014-01-23 15:19:14 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 109

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

Enero 22 de 2014 - 16:48:03

0010: 16813-841-014-2

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

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

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

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

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

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

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

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

PI02-F08 (2009-11-18)

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-013109- -00000-0000

Fecha: 2014-01-23 15:19:14
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 109

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-PCSK9

<130> 7050A

<160> 9

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35 40 45

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys His Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala
1 5

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr
1 5

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 4

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 5
<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 5

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Arg
20 30
Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 6

Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Phe
1 5 10

<210> 7
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética

<400> 7

Trp Ala Ser
1

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintética
<400> 8

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 9

<211> 692

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Gly Thr Val Ser Ser Arg Arg Ser Trp Trp Pro Leu Pro Leu Pro
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ala Arg Ala Gln Glu
20 25 30

Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu
35 40 45

Glu Asp Gly Leu Ala Asp Ala Pro Glu His Gly Ala Thr Ala Thr Phe
50 55 60

His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Glu Glu Thr His Arg Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg
85 90 95

Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu
100 105 110

His Val Phe His His Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met Ser Gly
115 120 125

Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr Ile Glu
130 135 140

Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg
145 150 155 160

Ile Thr Pro Ala Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro Lys Gly
165 170 175

Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln Ser Asp
180 185 190

His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met Val Thr Asp Phe Glu Ser Val
195 200 205

Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp
210 215 220

Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly
225 230 235 240

Val Ala Lys Gly Ala Gly Leu Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn Cys Gln
245 250 255

Gly	Lys	Gly	Thr	Val	Ser	Gly	Thr	Leu	Ile	Gly	Leu	Glu	Phe	Ile	Arg	
			260					265					270			
Lys	Ser	Gln	Leu	Val	Gln	Pro	Val	Gly	Pro	Leu	Val	Val	Leu	Leu	Pro	
		275					280					285				
Leu	Ala	Gly	Gly	Tyr	Ser	Arg	Val	Phe	Asn	Ala	Ala	Cys	Gln	Arg	Leu	
	290					295					300					
Ala	Arg	Ala	Gly	Val	Val	Leu	Val	Thr	Ala	Ala	Gly	Asn	Phe	Arg	Asp	
305					310					315					320	
Asp	Ala	Cys	Leu	Tyr	Ser	Pro	Ala	Ser	Ala	Pro	Glu	Val	Ile	Thr	Val	
				325					330					335		
Gly	Ala	Thr	Asn	Ala	Gln	Asp	Gln	Pro	Val	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu	Gly	
			340					345					350			
Thr	Asn	Phe	Gly	Arg	Cys	Val	Asp	Leu	Phe	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ile	
		355					360					365				
Ile	Gly	Ala	Ser	Ser	Asp	Cys	Ser	Thr	Cys	Phe	Val	Ser	Arg	Ser	Gly	
	370					375					380					
Thr	Ser	Gln	Ala	Ala	Ala	His	Val	Ala	Gly	Ile	Ala	Ala	Met	Met	Leu	
385					390					395					400	
Ser	Ala	Glu	Pro	Glu	Leu	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu	Arg	Gln	Arg	Leu	Ile	
				405					410					415		
His	Phe	Ser	Ala	Lys	Asp	Val	Ile	Asn	Glu	Ala	Trp	Phe	Pro	Glu	Asp	
			420					425					430			
Gln	Arg	Val	Leu	Thr	Pro	Asn	Leu	Val	Ala	Ala	Leu	Pro	Pro	Ser	Thr	
		435					440					445				
His	Arg	Ala	Gly	Trp	Gln	Leu	Phe	Cys	Arg	Thr	Val	Trp	Ser	Ala	His	
	450					455					460					
Ser	Gly	Pro	Thr	Arg	Met	Ala	Thr	Ala	Val	Ala	Arg	Cys	Ala	Gln	Asp	
465					470					475					480	
Glu	Glu	Leu	Leu	Ser	Cys	Ser	Ser	Phe	Ser	Arg	Ser	Gly	Lys	Arg	Arg	
				485					490					495		
Gly	Glu	Arg	Ile	Glu	Ala	Gln	Gly	Gly	Lys	Arg	Val	Cys	Arg	Ala	His	
			500					505					510			

Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu
515 520 525

Leu Pro Gln Val Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Gly Ala
530 535 540

Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr
545 550 555 560

Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro
565 570 575

Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg
580 585 590

Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys
595 600 605

Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val Ile Val
610 615 620

Ala Cys Glu Asp Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Pro Leu Pro Gly
625 630 635 640

Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val
645 650 655

Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Lys Glu Ala Val
660 665 670

Ala Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Val Gln Ala Ser
675 680 685

Gln Glu Leu Gln
690