

FORMULACIONES DE PROTEÍNAS QUIMÉRICAS DE FACTOR VIII Y USOS DE LAS MISMAS

SOLICITUD RELACIONADA

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad para la solicitud provisional de EE.UU. Núm. 63/256.432, presentada el 15 de octubre de 2021, cuyo contenido se incorpora en el presente documento en su totalidad.

REFERENCIA A LA LISTA DE SECUENCIAS PRESENTADA ELECTRÓNICAMENTE

[0002] El contenido de la lista de secuencias presentada electrónicamente en formato de archivo XML (Nombre: SA9-483PC_SL_ST26.xml; Tamaño: 55.697 bytes; Creado: 4 de octubre de 2022) se incorpora en el presente documento en su totalidad.

ANTECEDENTES DE LA DIVULGACIÓN

[0003] La hemofilia A es un trastorno de sangrado causado por defectos en el gen que codifica el factor VIII de coagulación (FVIII) y afecta a 1-2 de cada 10.000 nacimientos masculinos. Graw *et al.*, Nat. Rev. Genet. 6(6): 488-501 (2005). Los pacientes afectados de hemofilia A pueden ser tratados con infusiones de FVIII de plasma purificado o de FVIII producido de forma recombinante. Se sabe que muchos productos de FVIII disponibles comercialmente tienen una semivida de aproximadamente 8-12 horas, lo que requiere una administración intravenosa frecuente a los pacientes. Véanse Weiner M.A. y Cairo, M.S., Pediatric Hematology Secrets, Lee, M.T., 12. Disorders of Coagulation, Elsevier Health Sciences, 2001; Lillicrap, D. Thromb. Res. 122 Supl. 4: T2-8 (2008). Además, se han probado varios métodos para prolongar la semivida del FVIII. Por ejemplo, los enfoques en desarrollo para prolongar la semivida de los factores de coagulación incluyen pegilación, glicopegilación y conjugación con albúmina. Véase Dumont *et al.*, Blood. 119(13): 3024-3030 (2012). Se han demostrado resultados coherentes en seres humanos; por ejemplo, se informó de que rFVIII^hFC mejora la semivida hasta ~1,7 veces en comparación con ADVATE® en pacientes con hemofilia A. Véase Powell *et al.*, Blood. 119(13): 3031-3037 (2012). Por lo tanto, los aumentos de la semivida, a pesar de mejoras menores, indican la presencia de otros factores limitantes de la semivida, tales como el aclaramiento del FvW. Pipe *et al.*, Blood. 128(16):2007-2016 (2016)).

[0004] El efanesoctocog alfa (también conocido como Efa y BIVV001) es una proteína de fusión que está diseñada para desacoplar el factor VIII de coagulación recombinante del VWF en circulación. La proteína quimérica comprende una única proteína de factor VIII recombinante fusionada a Fc dimérico, un dominio D'D3 de VWF y dos polipéptidos ELNN. Chhabra et al. Blood 135(17): 1484-1496 (2020). En uno de los primeros estudios en los que participaron pacientes con hemofilia A grave, una única inyección intravenosa de efanesoctocog alfa produjo niveles elevados y sostenidos de actividad del factor VIII, con una semivida que era hasta cuatro veces la semivida asociada con el factor VIII recombinante. Véase Konkle et al., NEJM. 383:1018-27 (2020).

[0005] Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de composiciones farmacéuticas mejoradas.

COMPENDIO DE LA DIVULGACIÓN

[0006] La presente divulgación está dirigida a, entre otras cosas, a composiciones farmacéuticas que comprenden una proteína de Factor VIII ("FVIII"), kits que comprenden tales composiciones farmacéuticas, y métodos terapéuticos y usos de las composiciones farmacéuticas.

[0007] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una proteína quimérica o una proteína que comprende una primera cadena polipeptídica que comprende una proteína de FVIII o una porción de la misma y una primera región constante de inmunoglobulina ("Ig") o una porción de la misma, y una segunda cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor de von Willebrand ("VWF") y una segunda región constante de Ig o una porción de la misma. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende (i) una proteína de FVIII que comprende un polipéptido de FVIII, un Polipéptido ELNN insertado dentro del dominio B (p. ej., reemplazando al menos una porción del dominio B) del polipéptido de FVIII, y una primera región Fc; y (ii) una proteína de VWF que comprende un fragmento de VWF (p. ej., un fragmento que comprende los dominios D'D3 de VWF, cuyo fragmento puede comprender mutaciones), un segundo Polipéptido ELNN, un conector escindible por trombina (tal como un conector a2), y una segunda región Fc. En algunas realizaciones, la proteína quimérica divulgada en el presente documento es un heterodímero FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc.

[0008] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende: (a) una proteína FVIII; (b) sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 7,5% (p/v); (c) histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (d) arginina de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM; (e) cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM; y (f) de aproximadamente

0,01% (p/v) a aproximadamente 1,0% (p/v) de un poloxámero. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende: (a) una proteína FVIII; (b) sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 7,5% (p/v); (c) L-histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (d) L-arginina-HCl de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM; (e) cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM; y (f) de aproximadamente 0,01% (p/v) a aproximadamente 1,0% (p/v) de un poloxámero. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende: (a) una proteína de Factor VIII ("FVIII"); (b) sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 7,5% (p/v); (c) L-histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM; (d) L-arginina-HCl de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM; (e) dihidrato de cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM; y (f) de aproximadamente 0,008% (p/v) a aproximadamente 0,1% (p/v) de un poloxámero.

[0009] En algunas realizaciones, la composición comprende L-arginina-HCl aproximadamente 250 mM. En algunas realizaciones, la composición comprende L-arginina-HCl aproximadamente 250 mM. En algunas realizaciones, el poloxámero es poloxámero 188 (poloxámero 188, que también es conocido como P188). El poloxámero 188 es bien conocido en la técnica.

[0010] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) una proteína quimérica que comprende una primera cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor VIII ("FVIII") y una primera región constante de inmunoglobulina ("Ig") o una porción de la misma, y una segunda cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor de von Willebrand ("VWF") y una segunda región constante de Ig o una porción de la misma;
- (b) sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 7,5% (p/v);
- (c) histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM;
- (d) arginina de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM;
- (e) cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM; y
- (f) de aproximadamente 0,01% (p/v) a aproximadamente 1,0% (p/v) de poloxámero 188.

[0011] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 250 UI, 500 UI, 1000 UI, 2000 UI, 3000 UI, o 4.000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 250 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 300 UI de la proteína quimérica. En algunas

realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 85 IU/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 100 IU/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 200 IU/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos aproximadamente 200 IU/ml de la proteína quimérica.

[0012] En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 1 y la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 2, en donde la primera cadena polipeptídica y la segunda cadena polipeptídica están conectadas covalentemente mediante dos enlaces disulfuro entre dominios Fc en la primera y segunda cadenas polipeptídicas. En algunas realizaciones, la proteína quimérica es efanesoctocog alfa.

[0013] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 5% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 (P188). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 de aproximadamente 0,01% (p/v) a aproximadamente 1,0% (p/v).

[0014] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 5% (p/v);
- (b) histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM;
- (c) arginina de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM;
- (d) cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM; y
- (e) poloxámero 188 de aproximadamente 0,01% (p/v) a aproximadamente 1,0% (p/v).

[0015] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) sacarosa a aproximadamente 1%, 2%, o 5% (p/v);

- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1% (p/v)

[0016] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) sacarosa a aproximadamente 5% (p/v)
- (b) L-histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) L-arginina-HCl aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1% (p/v).

[0017] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) sacarosa a aproximadamente 2% (p/v);
- (b) L-histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) L-arginina-HCl aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1% (p/v).

[0018] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) sacarosa a aproximadamente 1% (p/v);
- (b) L-histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) L-arginina-HCl aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1% (p/v).

[0019] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 40 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) de 0,4 mg/mL a 0,9 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0020] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 56,12 mg/ml de sacarosa;

- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0021] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 22,45 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0022] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 22,45 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0023] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 11,23 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0024] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 11,23 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0025] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;

- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 40 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) de 0,5 mg/mL a 0,9 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0026] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 50 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 52,7 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,7 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0027] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 20 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 52,7 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,7 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0028] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 20 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 52,7 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,6 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0029] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 20 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 43,6 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,7 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0030] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 10 mg/mL de sacarosa;

- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 43,6 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,6 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0031] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 10 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 52,7 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,7 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0032] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 10 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 52,7 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,6 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0033] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 10 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 43,6 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,7 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0034] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) aproximadamente 10 mg/mL de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,6 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 43,6 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,6 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188.

[0035] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;

- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 50 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) de 0,7 mg/mL a 0,9 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0036] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 50 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) de 0,4 mg/mL a 0,8 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0037] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 40 mg/mL a 60 mg/mL de L-arginina;
- (d) de 0,7 mg/mL a 0,9 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0038] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 40 mg/mL a 60 mg/mL de L-arginina;
- (d) de 0,4 mg/mL a 0,7 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0039] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0040] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 22,45 mg/ml de sacarosa;

- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0041] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 22,45 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0042] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 22,45 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0043] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 22,45 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0044] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 11,23 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0045] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 11,23 mg/ml de sacarosa;

- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0046] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 11,23 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0047] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica que comprende:

- (a) 11,23 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0048] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica según cualquiera de las realizaciones divulgadas, que comprende adicionalmente un pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,5. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene un pH de aproximadamente 7,0. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene un pH de aproximadamente 6,8. En algunas realizaciones la composición farmacéutica divulgada en el presente documento no comprende NaCl. En algunas realizaciones la composición farmacéutica divulgada en el presente documento comprende menos de 8,8 mg/mL de cloruro de sodio (NaCl). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento comprende L-histidina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento comprende L-arginina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento comprende arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0049] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga una composición farmacéutica según cualquiera de las realizaciones divulgadas, en donde la composición farmacéutica tiene una concentración de proteína quimérica de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1,2 mg/mL. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento comprende de 75 UI/mL a 2,000 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene una osmolalidad de aproximadamente 525 a aproximadamente 725 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene una osmolalidad de aproximadamente 500 a aproximadamente 650 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene una osmolalidad de aproximadamente 600 a aproximadamente 650 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene una turbidez de menos de aproximadamente 7 Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU).

[0050] En algunas realizaciones, en el presente documento se divulga un método de almacenamiento de una composición farmacéutica, que comprende mantener una composición farmacéutica divulgada en el presente documento a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se almacena a una temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

[0051] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36

meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

[0052] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 2-5 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 2 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 3 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 4 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 5 veces.

[0053] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 2 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,5 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1,5 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 2 mg/ml de la proteína quimérica.

[0054] Asimismo, en el presente documento se divulga un método para tratar la hemofilia A en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de la composición farmacéutica según cualquiera de las realizaciones divulgadas en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es autoadministrada. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es administrada intravenosamente. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es administrada intravenosamente a una dosis de aproximadamente 20 UI/kg a

aproximadamente 70 UI/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es administrada intravenosamente a una dosis de aproximadamente 50 UI/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es administrada intravenosamente una vez cada 7-10 días. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es administrada intravenosamente una vez a la semana.

[0055] Asimismo, en el presente documento se divulga un kit farmacéutico que comprende (i) un primer recipiente que comprende una composición farmacéutica liofilizada que comprende

(a) una proteína quimérica que comprende una primera cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor VIII ("FVIII") o una porción de la misma y una primera región constante de inmunoglobulina ("Ig") o una porción de la misma, y una segunda cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor de von Willebrand ("VWF") y una segunda región constante de Ig o una porción de la misma;

(b) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg de sacarosa;

(c) de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 7,5 mg de histidina;

(d) de aproximadamente 140 mg a aproximadamente 200 mg de arginina;

(e) de aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 5 mg de cloruro de calcio; y

(f) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg de poloxámero 188, y

(ii) un segundo recipiente que comprende agua estéril.

[0056] En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 1 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 2, en donde la primera cadena polipeptídica y la segunda cadena polipeptídica están conectadas covalentemente mediante dos enlaces disulfuro entre dominios Fc en la primera y segunda cadenas polipeptídicas.

[0057] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico divulgado en el presente documento comprende una composición farmacéutica liofilizada que comprende:

(a) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg de sacarosa;

(b) de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 7,5 mg de histidina;

(c) de aproximadamente 140 mg a aproximadamente 200 mg de arginina;

(d) de aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 5 mg de cloruro de calcio; y

(e) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg de poloxámero 188.

[0058] En algunas realizaciones el kit farmacéutico comprende una composición farmacéutica liofilizada que no comprende NaCl. En algunas realizaciones la composición farmacéutica liofilizada comprende menos de 8.8 mg/mL de cloruro de sodio (NaCl). En algunas

realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende L-histidina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende L-arginina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada divulgada en el presente documento comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0059] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende una composición farmacéutica liofilizada que comprende:

- (a) aproximadamente 33,7 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,2 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 2,5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,4 mg de poloxámero 188.

[0060] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende una composición farmacéutica liofilizada que comprende:

- (a) aproximadamente 67,3 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,2 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 2,5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,4 mg de poloxámero 188.

[0061] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende una composición farmacéutica liofilizada que comprende:

- (a) aproximadamente 67,3 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,2 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 146,6 mg de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 2,5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,4 mg de poloxámero 188.

[0062] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende una composición farmacéutica liofilizada que comprende:

- (a) aproximadamente 168,3 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,2 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 2,5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,4 mg de poloxámero 188.

- [0063]** En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende una composición farmacéutica liofilizada que tiene un contenido de humedad de menos de 2%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada tiene un contenido de humedad de menos de 1,8%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada tiene un contenido de humedad de menos de 1,6%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada está en una torta liofilizada. En algunas realizaciones, la torta liofilizada es de color blanco. En algunas realizaciones, la torta liofilizada es menor que Y4 en la escala de color de la Farmacopea Europea. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada es un polvo.
- [0064]** En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende un primer recipiente que comprende de 100 UI a 10.000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 250 UI, 500 UI, 1000 UI, 2000 UI, 3000 UI, o 4.000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende más de aproximadamente 250 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende más de aproximadamente 300 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende más de aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende al menos aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica.
- [0065]** En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende adicionalmente instrucciones para combinar la composición farmacéutica liofilizada y agua estéril. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la composición farmacéutica liofilizada se reconstituye en 7 a 12 segundos.
- [0066]** En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un segundo recipiente que comprende agua esterilizada a un volumen suficiente para producir, cuando se combina con el polvo liofilizado del primer recipiente, una solución que comprende
- [0067]** En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la osmolalidad de la solución resultante es de aproximadamente 525 a aproximadamente 725 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene una osmolalidad de aproximadamente 500 a aproximadamente 650 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la osmolalidad de la solución resultante es de aproximadamente 600 a aproximadamente 650 mOsm/kg. En algunas realizaciones, el pH de la solución resultante es de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,5. En algunas realizaciones, el pH de la solución resultante es aproximadamente 7,0. En algunas realizaciones, el pH de la solución resultante es aproximadamente 6,8. En algunas realizaciones, la turbidez de la solución resultante es

menor que aproximadamente 7 Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU). En algunas realizaciones, la concentración de proteína de la solución resultante es de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1,2 mg/mL. En algunas realizaciones, se agrega menos de 3% de la proteína.

[0068] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende un segundo recipiente que comprende agua esterilizada a un volumen suficiente para producir, cuando se combina con la composición farmacéutica liofilizada del primer recipiente, una solución que comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 40 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) de 0,5 mg/mL a 0,9 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0069] En algunas realizaciones del kit farmacéutico divulgado en el presente documento, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 40 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) de 0,5 mg/mL a 0,9 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0070] En algunas realizaciones del kit farmacéutico divulgado en el presente documento, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) 11,23 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0071] En algunas realizaciones del kit farmacéutico divulgado en el presente documento, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) 22,45 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;

(d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y

(e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0072] En algunas realizaciones del kit farmacéutico divulgado en el presente documento, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

(a) 22,45 mg/ml de sacarosa;

(b) 1,74 mg/ml de L-histidina;

(c) 48,88 mg/ml de L-arginina;

(d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y

(e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0073] En algunas realizaciones del kit farmacéutico divulgado en el presente documento, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

(a) 56,12 mg/ml de sacarosa;

(b) 1,74 mg/ml de L-histidina;

(c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;

(d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y

(e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0074] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende un segundo recipiente que comprende de aproximadamente 2 mL a aproximadamente 5 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende un segundo recipiente que comprende aproximadamente 3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende un segundo recipiente que comprende aproximadamente 3,3 mL de agua estéril.

[0075] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico se almacena a una

temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

[0076] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

[0077] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende un primer recipiente que es un vial de vidrio que comprende un tapón de caucho. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende un segundo recipiente que es un cuerpo de jeringa. En algunas realizaciones, el agua estéril está en el cuerpo de jeringa. En algunas realizaciones, el cuerpo de jeringa está asociado con un émbolo. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende adicionalmente un adaptador para conectar el vial de vidrio al cuerpo de jeringa. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende adicionalmente tubos de infusión asociados con una aguja para su conexión al cuerpo de jeringa, adecuados para infusión intravenosa.

[0078] Asimismo, en el presente documento se divulga un método para tratar la hemofilia A en un sujeto que lo necesite, que comprende combinar la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril del kit farmacéutico según cualquiera de las realizaciones divulgadas en el presente documento, y administrar al sujeto una cantidad eficaz de la combinación resultante (es decir, solución). En algunas realizaciones, el sujeto combina la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril del kit. En algunas realizaciones, la combinación es autoadministrada por el sujeto.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0079] La FIG. 1 es una representación esquemática de efanesoctocog alfa, un heterodímero FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc ilustrativo. FVIII: factor VIII; FvW: Factor de von

Willebrand; A1, A2, A3, C1, C2: dominios de FVIII; D'D3: dominios de VWF; Fc: Región Fc de la región constante de inmunoglobulina.

- [0080]** La FIG. 2 muestra los niveles de agregación (%HMWS) a lo largo del tiempo (horas) en condiciones de temperatura ambiente (RT)/luz ambiente (RL) para composiciones de sustancia farmacológica (DS) de efanesoctocog alfa (1 mg/ml) que contienen PS80 al 0,05% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 1% o 5% (p/v). También se proporcionan tasas de cambio en los niveles de agregación (pendiente) (% por hora)
- [0081]** La FIG. 3 muestra los niveles de agregación (%HMWS) a lo largo del tiempo (horas) a 2-8°C para composiciones de sustancia farmacológica (DS) de efanesoctocog alfa (1 mg/mL) que contienen PS80 al 0,05% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 1% o 5% (p/v). También se proporcionan tasas de cambio en los niveles de agregación (pendiente) (% por hora).
- [0082]** La FIG. 4 muestra los niveles de agregación (%HMWS) de composiciones de sustancia farmacológica (DS) de efanesoctocog alfa que se han hecho fluir por dilución a 4000 UI de producto farmacológico a granel a las 7 horas y que contienen PS80 al 0,05% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 1% o 5% (p/v). Las muestras se mantuvieron a RT y se probaron después de 0, 5, 7, 25, 43 y 55 horas. Las muestras también se probaron después de la liofilización (Post-Lyo).
- [0083]** La FIG. 5 muestra un estudio de estabilidad durante el almacenamiento en estado congelado que midió los niveles de agregación (%HMWS) de composiciones de DS de efanesoctocog alfa (1 mg/ml) que contenían PS80 al 0,05% (p/v) como tensioactivo. Las composiciones que contenían sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se mantuvieron a temperaturas de congelación (-80°C o -30°C). Los puntos de tiempo medidos fueron precongelación, inicio del experimento (T0), un mes (T1M), 3 meses (T3M), y 6 meses (T6M).
- [0084]** La FIG. 6 muestra un estudio de estabilidad durante el almacenamiento en estado congelado que midió los niveles de agregación (%HMWS) de composiciones de DS de efanesoctocog alfa (1 mg/ml) que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo. Las composiciones que contenían sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se mantuvieron a temperaturas de congelación (-80°C o -30°C). Los puntos de tiempo medidos son precongelación, inicio del experimento (T0), un mes (T1M), 3 meses (T3M), y 6 meses (T6M).
- [0085]** La FIG. 7 muestra los resultados de un análisis de composiciones de DS de efanesoctocog alfa (1 mg/ml) mediante pruebas de partículas utilizando un contador de

partículas líquidas de alta precisión (HIAC). Las composiciones de DS que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se mantuvieron a -80°C y se evaluaron en los siguientes puntos de tiempo: precongelación, inicio del experimento. (T0), un mes (T1M), 3 meses (T3M), y 6 meses (T6M). Los resultados para partículas ≥ 10 μm se muestran en la FIG. 7A. Los resultados para partículas ≥ 25 μm se muestran en la FIG. 7B.

[0086] La FIG. 8 muestra los niveles de agregación (%HMWS) para composiciones de producto farmacológico liofilizado de efanesoctocog alfa (Lyo DP) a 250 UI y que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo. Se probaron composiciones de Lyo DP que contenían sacarosa al 1% o 5% (p/v). Las muestras se mantuvieron a 5°C, 30°C, o 40°C y se probaron a T0, 1 mes, 2 meses, 3 meses, y 6 meses. Los resultados se muestran en la FIG. 8A (5°C), FIG. 8B (30°C), y FIG. 8C (40°C).

[0087] La FIG. 9 muestra los niveles de agregación (%HMWS) para composiciones de producto farmacológico liofilizado de efanesoctocog alfa (Lyo DP) a 4000 UI y que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo. Se probaron composiciones Lyo DP que contenían sacarosa al 1% o 5% (p/v). Las muestras se mantuvieron a 5°C, 30°C, o 40°C y se probaron a T0, 1 mes, 2 meses, 3 meses, y 6 meses. Los resultados se muestran en la FIG. 9A (5°C), FIG. 9B (30°C), y FIG. 9C (40°C).

[0088] La FIG. 10 muestra los niveles de agregación (%HMWS) de composiciones de DS de efanesoctocog alfa (1 mg/mL) antes (precongelación) y después del estrés por congelación/descongelación (F/T) a -80°C o -30°C durante 5 ciclos (5X) (no menos de 24 horas, descongelación a temperatura ambiente). La FIG. 10 muestra los resultados para composiciones de DS que contenían PS80 al 0,05% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v).

[0089] La FIG. 11 muestra los niveles de agregación (%HMWS) de composiciones de DS de efanesoctocog alfa (1 mg/mL) antes (precongelación) y después del estrés por congelación/descongelación (F/T) a -80°C o -30°C durante 5 ciclos (5X) (no menos de 24 horas, descongelación a temperatura ambiente). La FIG. 11 muestra los resultados para composiciones de DS que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v).

[0090] La FIG. muestra el análisis de la concentración de proteína mediante A280 (absorbancia a 280 nm) de diferentes concentraciones de sacarosa en composiciones de DS de efanesoctocog alfa (1 mg/mL) después del estrés por F/T. Las muestras fueron analizadas antes (precongelación) y después de 1, 3, o 5 ciclos de F/T. Los resultados de las composiciones de DS que contenían PS80 al 0,05% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v)

- se muestran en la FIG. 12A. Los resultados de las composiciones de DS que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se muestran en la FIG. 12B.
- [0091]** La FIG. 13 muestra un análisis de pH después del estrés por F/T para composiciones de DS de efanesoctocog alfa que contenían PS80 al 0,05% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y 0, 1, 2, o 5% (p/v) sacarosa. El pH se midió después de 0, 1, 3 o 5 ciclos de F/T.
- [0092]** La FIG. 14 muestra la temperatura de transición vítrea (T_g) y el contenido de humedad residual (%) al inicio del experimento (T_0) para composiciones del producto farmacológico liofilizado (Lyo DP) de efanesoctocog alfa a 250 UI. Se probaron composiciones de Lyo DP que contenían PS80 al 0,05% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v).
- [0093]** La FIG. 15 muestra la temperatura de transición vítrea (T_g) y el contenido de humedad residual (%) al inicio del experimento (T_0) para composiciones del producto farmacológico liofilizado (Lyo DP) de efanesoctocog alfa a 4000 UI. Se probaron composiciones de Lyo DP que contenían PS80 al 0,05% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v).
- [0094]** La FIG. 16 muestra la temperatura de transición vítrea (T_g) de composiciones del producto farmacológico liofilizado (Lyo DP) de efanesoctocog alfa a 4000 UI o 250 UI y que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y 5% o 1% (p/v) de sacarosa. Las muestras se mantuvieron a 5°C, 30°C, o 40°C y se probaron a T_0 , 1 mes, 2 meses, 3 meses, y 6 meses. Los resultados se muestran en la FIG. 16A (5°C), FIG. 16B (30°C), y FIG. 16C (40°C).
- [0095]** La FIG. 17 muestra la temperatura de transición vítrea (T_g) de composiciones de producto farmacológico líquido a granel (BDP) de efanesoctocog alfa a 250 UI o 4000 UI y que contenían PS80 al 0,05% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v).
- [0096]** La FIG. 18 muestra el contenido de humedad residual (%) de las composiciones del producto farmacológico liofilizado (Lyo DP) de efanesoctocog alfa a 4000 UI o 250 UI. Se probaron composiciones de Lyo DP que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 1% o 5% (p/v). Las muestras se mantuvieron a 5°C, 30°C, o 40°C y se probaron a T_0 , 1 mes, 2 meses, 3 meses, y 6 meses. Los resultados se muestran en la FIG. 18A (5°C), FIG. 18B (30°C), y FIG. 18C (40°C).
- [0097]** La FIG. 19 muestra los niveles de agregación (%HMWS) después del estrés por congelación/descongelación (F/T) para composiciones de DS de efanesoctocog alfa (concentración: >2 mg/mL) que comprendían concentraciones crecientes de arginina

(Arg). Las composiciones que contenían arginina se probaron a concentraciones de 100, 125, 150, 175, 200 y 250 mM. Cada columna representa inyecciones repetidas del mismo vial después de descongelarlo durante 30 minutos a RT. Los puntos de tiempo medidos fueron inmediatamente después de la descongelación y 40, 80, 120 y 160 minutos después de la descongelación.

[0098] La FIG. 20 muestra la concentración media (ng/ml) de efanesoctocog alfa a lo largo del tiempo determinada mediante ELISA después de una única inyección en bolo IV de una composición que comprendía PS80 o P188. Vehículo 1: L-Histidina 10 mM, Arginina-HCl 250 mM, Cloruro de Calcio 5 mM, Sacarosa al 5% p/v, Polisorbato-80 al 0,05%. Vehículo 2: L-Histidina 10 mM, Arginina-HCl 250 mM, Cloruro de Calcio 5 mM, Sacarosa al 5% p/v, Poloxámero-188 al 0,1%.

[0099] La FIG. 21 muestra la actividad media de FVIII (mUI/ml) de efanesoctocog alfa a lo largo del tiempo determinada mediante ensayo cromogénico después de una única inyección en bolo IV de una composición que comprendía PS80 o P188. Vehículo 1: L-Histidina 10 mM, Arginina-HCl 250 mM, Cloruro de Calcio 5 mM, 5% p/v Sacarosa, Polisorbato 80 al 0,05%. Vehículo 2: L-Histidina 10 mM, Arginina-HCl 250 mM, Cloruro de Calcio 5 mM, Sacarosa al 5% p/v, Poloxámero 188 al 0,1%.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

[0100] La presente divulgación se dirige, entre otras cosas, a formulaciones (incluyendo formulaciones acuosas y liofilizadas, así como kits relacionados) que comprenden proteínas de FVIII. En algunas realizaciones, la proteína de FVIII es una proteína de FVIII quimérica tal como efanesoctocog alfa que comprende dos polipéptidos, es decir, un primer polipéptido que comprende una proteína de FVIII que comprende un primer inserto de secuencia de Polipéptido ELNN fusionado a una primera región Fc, y un segundo polipéptido que comprende una proteína de VWF fusionada a una segunda región constante de Ig mediante una segunda secuencia de Polipéptido ELNN, en donde la primera secuencia de Polipéptido ELNN contiene aproximadamente 288 aminoácidos y la segunda secuencia de Polipéptido ELNN contiene aproximadamente 144 aminoácidos, y la primera región constante de Ig y la segunda región constante de Ig están conectadas covalentemente entre sí mediante enlaces disulfuro.

[0101] La presente divulgación proporciona formulaciones (incluyendo formulaciones acuosas y liofilizadas, así como kits relacionados) para una proteína quimérica que comprende (i) un polipéptido de factor VIII (FVIII) y (ii) un fragmento de factor de von Willebrand (VWF) que comprende un dominio D' de VWF y un dominio D3 de VWF. En el presente documento

se incluyen composiciones que pueden estar liofilizadas, así como composiciones formadas después de la reconstitución de formulaciones liofilizadas con un diluyente. También se proporcionan métodos y usos terapéuticos.

I. Definiciones

- [0102]** Cabe señalar que el término "una" entidad se refiere a una o más de esa entidad; por ejemplo, se entiende que "una secuencia de nucleótidos" representa una o más secuencias de nucleótidos. Como tales, los términos "un", "uno" (o "una"), "uno o más", "una o más", y "al menos uno" o "al menos una" se pueden utilizar indistintamente en el presente documento.
- [0103]** Además, "y/o" cuando se utiliza en el presente documento se debe tomar como una divulgación específica de cada una de las dos características o componentes especificados con o sin el otro. Por lo tanto, se pretende que el término "y/o" como se emplea en una frase tal como "A y/o B" en el presente documento incluya "A y B", "A o B", "A" (solo), y "B" (solo). Asimismo, se pretende que el término "y/o" como se emplea en una frase tal como "A, B y/o C" abarque cada uno de los siguientes aspectos: A, B, y C; A, B, o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).
- [0104]** Se entiende que siempre que se describan aspectos en el presente documento con la expresión "que comprende", también se proporcionan aspectos análogos descritos en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en".
- [0105]** A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica con la que se relaciona esta divulgación. Por ejemplo, el Concise Dictionary of Biomedicine y Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2ª ed., 2002, CRC Press; Dictionary of Cell. and Molecular Biology, 3ª ed., 1999, Academic Press; y el Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revisado, 2000, Oxford University Press, pueden proporcionar a un experto un diccionario general de muchos de los términos utilizados en esta divulgación.
- [0106]** Las unidades, prefijos y símbolos se indican en su forma aceptada por el Système International de Unites (SI). Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango. A menos que se indique lo contrario, las secuencias de aminoácidos se escriben de izquierda a derecha en orientación amino a carboxi. Los títulos proporcionados en el presente documento no son limitaciones de los diversos aspectos de la divulgación. En consecuencia, los términos definidos inmediatamente a continuación se definen más completamente haciendo referencia a la memoria descriptiva en su totalidad.

[0107] El término "aproximadamente" se utiliza en el presente documento para significar de manera aproximada, más o menos, alrededor de, o en las regiones de. Cuando el término "aproximadamente" se utiliza junto con un rango numérico, modifica ese rango extendiendo los límites por encima y por debajo de los valores numéricos establecidos. En general, el término "aproximadamente" puede modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor indicado por una varianza de, p. ej., 10 por ciento, arriba o abajo (mayor o menor). En algunas realizaciones, el término indica desviación del valor numérico indicado en $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, $\pm 3\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,9\%$, $\pm 0,8\%$, $\pm 0,7\%$, $\pm 0,6\%$, $\pm 0,5\%$, $\pm 0,4\%$, $\pm 0,3\%$, $\pm 0,2\%$, $\pm 0,1\%$, $\pm 0,05\%$, o $\pm 0,01\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado en $\pm 10\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 5\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 4\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado en $\pm 3\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado en $\pm 2\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado en $\pm 1\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,9\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,8\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,7\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,6\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado en $\pm 0,5\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,4\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,3\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,1\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,05\%$. En algunas realizaciones, "aproximadamente" indica una desviación del valor numérico indicado de $\pm 0,01\%$.

[0108] Dependiendo del contexto, los términos "polinucleótido" o "nucleótido" pueden abarcar un ácido nucleico singular, así como ácidos nucleicos plurales. En algunas realizaciones, un polinucleótido es una molécula o construcción de ácido nucleico aisladas, p. ej., ARN mensajero (ARNm) o ADN plasmídico (ADNp). En algunas realizaciones, un polinucleótido comprende un enlace fosfodiéster convencional. En algunas realizaciones, un polinucleótido comprende un enlace no convencional (p. ej., un enlace amida, tal como

el que se encuentra en los ácidos peptidonucleicos (APN)). El término "ácido nucleico" se puede referir a uno cualquiera o más segmentos de ácido nucleico, p. ej., fragmentos de ADN o ARN, presentes en un polinucleótido. Por ácido nucleico o polinucleótido "aislados" se entiende una molécula de ácido nucleico, ADN o ARN, que ha sido eliminada de su entorno nativo. Por ejemplo, un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido del Factor VIII contenido en un vector se considera aislado para los fines de la presente divulgación. Los ejemplos adicionales de un polinucleótido aislado incluyen polinucleótidos recombinantes mantenidos en células anfitrionas heterólogas o purificados (parcial o sustancialmente) a partir de otros polinucleótidos en una solución. Las moléculas de ARN aisladas incluyen transcritos de ARN *in vivo* o *in vitro* de polinucleótidos de la presente divulgación. Los polinucleótidos o ácidos nucleicos aislados según la presente divulgación incluyen adicionalmente tales moléculas producidas sintéticamente. Además, un polinucleótido o un ácido nucleico pueden incluir elementos reguladores tales como promotores, potenciadores, sitios de unión a ribosomas o señales de terminación de la transcripción.

[0109] Ciertas proteínas secretadas por células de mamíferos están asociadas con un péptido señal secretor que se escinde de la proteína madura una vez que se ha iniciado la exportación de la cadena de proteínas en crecimiento a través del retículo endoplásmico rugoso. Los expertos en la técnica saben que los péptidos señal generalmente se fusionan al extremo N terminal del polipéptido y se escinden del polipéptido completo o "de longitud completa" para producir una forma secretada o "madura" del polipéptido. En algunas realizaciones, se utiliza un péptido señal nativo o un derivado funcional de esa secuencia que conserva la capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que está operablemente asociado a ella. Alternativamente, se puede utilizar un péptido señal de mamífero heterólogo, p. ej., un activador del plasminógeno tisular humano (TPA) o un péptido señal de β -glucuronidasa de ratón, o un derivado funcional del mismo.

[0110] Como se emplea en el presente documento, se pretende que el término "polipéptido" abarque un "polipéptido" singular, así como "polipéptidos" plurales, y se refiere a una molécula compuesta de monómeros (aminoácidos) conectados linealmente por enlaces amida (también conocidos como enlaces peptídicos). El término "polipéptido" se refiere a cadena o cadenas cualesquiera de dos o más aminoácidos, y no se refiere a una longitud específica del producto. Así, péptidos, dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, "proteína", "cadena de aminoácidos", o cualquier otro término utilizado para referirse a una cadena o cadenas de dos o más aminoácidos, se incluyen dentro de la definición de "polipéptido", y el término "polipéptido" se puede utilizar en lugar de, o indistintamente, con cualquiera

de estos términos. También se pretende que el término "polipéptido" se refiera a los productos de modificaciones post-expresión del polipéptido, incluyendo sin limitación glicosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos protectores/bloqueantes conocidos, escisión proteolítica o modificación por aminoácidos de origen no natural. Un polipéptido se puede obtener de una fuente biológica natural o de una tecnología recombinante producida, pero no necesariamente se traduce a partir de una secuencia de ácido nucleico designada. Se puede generar de cualquier forma, incluso mediante síntesis química.

[0111] Un polipéptido "aislado" o un fragmento, variante o derivado del mismo se refieren a un polipéptido que no se encuentra en su medio natural. No se requiere ningún nivel particular de purificación. Por ejemplo, un polipéptido aislado puede simplemente eliminarse de su entorno nativo o natural. Los polipéptidos y proteínas producidos recombinantemente expresados en células anfitrionas se consideran aislados para los fines de la divulgación, al igual que los polipéptidos nativos o recombinantes que han sido separados, fraccionados o purificados parcial o sustancialmente mediante cualquier técnica adecuada.

[0112] También se incluyen en la presente divulgación fragmentos o variantes de polipéptidos, y cualquier combinación de los mismos. Los términos "fragmento" o "variante" cuando se refieren a dominios de unión de polipéptidos o moléculas de unión de la presente divulgación incluyen cualquier polipéptido que conserve al menos algunas de las propiedades (p. ej., afinidad de unión de FcRn para un dominio de unión de FcRn o variante de Fc), actividad de coagulación para una variante de FVIII, o actividad de unión a FVIII para el fragmento VWF) del polipéptido de referencia. Los fragmentos de polipéptidos incluyen fragmentos proteolíticos, así como fragmentos de delección, además de fragmentos de anticuerpos específicos comentados en otra parte del presente documento, pero no incluyen el polipéptido de longitud completa de origen natural (o polipéptido maduro). Las variantes de dominios de unión de polipéptidos o moléculas de unión de la presente divulgación incluyen fragmentos como se describe anteriormente, y también polipéptidos con secuencias de aminoácidos alteradas debido a sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos. Las variantes pueden ser naturales o no naturales. Se pueden producir variantes que no se producen de forma natural utilizando mecanismos de mutagénesis conocidos en la técnica. Los polipéptidos variantes pueden comprender sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos conservativas o no conservativas.

[0113] El término "proteína de VWF" como se emplea en el presente documento significa cualquier fragmento de VWF que interactúa con FVIII y conserva al menos una o más propiedades que normalmente son proporcionadas al FVIII por el VWF de longitud completa, p. ej., prevenir la activación prematura del FVIIIa, prevenir la proteólisis prematura, prevenir el aclaramiento, prevenir la asociación con membranas de fosfolípidos que podrían conducir a un aclaramiento prematuro, prevenir la unión a receptores de aclaramiento del FVIII que pueden unirse al FVIII desnudo pero no al FVIII unido al VWF, y/o estabilizar las interacciones de cadena pesada y cadena ligera del FVIII. Un fragmento de VWF al que se hace referencia en el presente documento es un polipéptido de VWF que es menor que la proteína de VWF de longitud completa, en donde el fragmento de VWF conserva la capacidad de interactuar con, y/o unirse a, FVIII. En algunas realizaciones, una proteína de VWF es un fragmento (que puede estar mutado) de VWF de longitud completa que se une a una proteína de FVIII de modo que la proteína de FVIII tiene una menor unión o no se une a VWF de longitud completa (p. ej., VWF endógeno en un sujeto).

[0114] Una "sustitución de aminoácido conservativa" es aquella en la que el resto de aminoácido se reemplaza por un resto de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En la técnica se han definido familias de restos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares, incluidas cadenas laterales alcalinas (p. ej., lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (p. ej., ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (p. ej., glicina, asparragina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (p. ej., alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (p. ej., treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (p. ej., tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por tanto, si un aminoácido de un polipéptido se reemplaza por otro aminoácido de la misma familia de cadenas laterales, la sustitución se considera conservativa. En algunas realizaciones, una serie de aminoácidos se puede reemplazar de manera conservativa por una serie estructuralmente similar que difiere en el orden y/o composición de los miembros de la familia de cadenas laterales.

[0115] Como se sabe en la técnica, la "identidad de secuencia" entre dos polipéptidos se determina comparando la secuencia de aminoácidos de un polipéptido con la secuencia de un segundo polipéptido. De manera similar, la "identidad de secuencia" entre dos polinucleótidos se determina comparando la secuencia de nucleótidos de un polinucleótido con la secuencia de un segundo polinucleótido. Se pretende que los términos "% idéntico", "% de identidad" o términos similares se refieran, en particular, al

porcentaje de nucleótidos o aminoácidos (según corresponda) que son idénticos en un alineamiento óptimo entre las secuencias que se deben comparar. Dicho porcentaje es puramente estadístico, y las diferencias entre las dos secuencias pueden estar, pero no necesariamente, distribuidas aleatoriamente sobre toda la longitud de las secuencias que se deben comparar. Las comparaciones de dos secuencias normalmente se llevan a cabo comparando las secuencias, después de un alineamiento óptimo, con respecto a un segmento o "ventana de comparación", para identificar regiones locales de secuencias correspondientes. Por ejemplo, el alineamiento óptimo para una comparación se puede realizar manualmente o con la ayuda del algoritmo de homología local de Smith y Waterman, 1981, *Adv. App. Math.* 2, 482, con ayuda del algoritmo de homología local de Needleman y Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48, 443, con la ayuda del algoritmo de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 2444, o con la ayuda de programas informáticos que utilizan dichos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, BLAST P, BLAST N y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.). En algunas realizaciones, el porcentaje de identidad de dos secuencias se determina utilizando el algoritmo BLASTN o BLASTP, disponible en el sitio web del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) de los Estados Unidos (p. ej., en blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq). En algunas realizaciones, los parámetros del algoritmo utilizados para el algoritmo BLASTN en el sitio web del NCBI incluyen: (i) Umbral Esperado establecido en 10; (ii) Tamaño de Palabra establecido en 28; (iii) Coincidencias máximas en un rango de consulta establecido en 0; (iv) Puntuaciones de Coincidencia/No Coincidencia establecidas en 1, -2; (v) Costes de hueco establecidos en Lineal; y (vi) el filtro para regiones de baja complejidad que se está utilizando. En algunas realizaciones, los parámetros del algoritmo utilizados para el algoritmo BLASTP en el sitio web del NCBI incluyen: (i) Umbral Esperado establecido en 10; (ii) Tamaño de Palabra establecido en 3; (iii) Coincidencias máximas en un rango de consulta establecido en 0; (iv) Matriz establecida en BLOSUM62; (v) Costes de hueco establecidos en Existencia: 11 Extensión: 1; y (vi) ajuste condicional de la matriz de puntuación composicional. Cuando se analiza en el presente documento, se puede determinar si cualquier polipéptido particular es al menos aproximadamente 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% o 100% idéntico a otro polipéptido utilizando métodos y programas informáticos/soporte lógico conocidos en la técnica tales como, pero sin limitarse a, el programa BESTFIT (Wisconsin Sequence Analysis Package, Versión 8 para Unix,

Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711). BESTFIT utiliza el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981), para encontrar el mejor segmento de homología entre dos secuencias. Cuando se utiliza BESTFIT o cualquier otro programa de alineamiento de secuencias para determinar si una secuencia particular es, por ejemplo, idéntica en 95% a una secuencia de referencia según la presente divulgación, los parámetros se establecen, por supuesto, de manera que el porcentaje de identidad se calcule sobre la longitud completa de la secuencia de polipéptido de referencia y que se permitan espacios en homología de hasta 5% del número total de aminoácidos en la secuencia de referencia.

- [0116]** Como se emplea en el presente documento, un "aminoácido correspondiente a" o un "aminoácido equivalente" en una secuencia de VWF o una secuencia de proteína de FVIII se identifica mediante alineamiento para maximizar la identidad o similitud entre una primera secuencia de VWF o FVIII y una segunda secuencia de VWF o de FVIII. El número utilizado para identificar un aminoácido equivalente en una segunda secuencia de VWF o FVIII se basa en el número utilizado para identificar el aminoácido correspondiente en la primera secuencia de VWF o FVIII.
- [0117]** Como se emplea en el presente documento, el término "sitio de inserción" se refiere a una posición en un polipéptido de FVIII, o fragmento, variante, o derivado del mismo, que está inmediatamente aguas abajo de la posición en la que se encuentra un radical que prolonga la semivida o un radical heterólogo. Un "sitio de inserción" se especifica como un número, siendo el número el número del aminoácido en el FVIII nativo maduro (SEQ ID NO: 9) al que corresponde el sitio de inserción, que es inmediatamente C-terminal con respecto a la posición de la inserción. Por ejemplo, la frase "comprende un Polipéptido ELNN en un sitio de inserción que corresponde al aminoácido 1656 de SEQ ID NO: 9" indica que el radical heterólogo está ubicado entre dos aminoácidos correspondientes al aminoácido 1656 y aminoácido 1657 de SEQ ID NO: 9.
- [0118]** La frase "inmediatamente aguas abajo de un aminoácido", como se emplea en el presente documento, se refiere a una posición justo al lado del grupo carboxilo terminal del aminoácido. Por ejemplo, un sitio de inserción inmediatamente aguas abajo del aminoácido 745 correspondiente a la proteína de FVIII de tipo salvaje madura (SEQ ID NO: 9) significa que el sitio de inserción está entre el aminoácido 745 y el aminoácido 746 correspondiente a la proteína de FVIII de tipo salvaje madura. De manera similar, la frase

"inmediatamente aguas arriba de un aminoácido" se refiere a la posición justo al lado del grupo amino terminal del aminoácido.

[0119] La frase "entre dos aminoácidos de un sitio de inserción" como se emplea en el presente documento se refiere a una posición en la que un Polipéptido ELNN o cualquier otro polipéptido se insertan entre dos aminoácidos adyacentes. Así, las frases "insertado inmediatamente aguas abajo de un aminoácido" e "insertado entre dos aminoácidos de un sitio de inserción" se utilizan como sinónimo de "insertado en un sitio de inserción".

[0120] Los términos "insertado", "está insertado", "insertado en" o términos gramaticalmente relacionados, como se emplean en el presente documento con respecto a las inserciones de Polipéptido ELNN en FVIII se refieren a la posición de un Polipéptido ELNN en una proteína quimérica con respecto a la posición análoga en el FVIII humano maduro nativo. Como se emplean en el presente documento, los términos se refieren a las características del polipéptido de FVIII recombinante con respecto al FVIII humano maduro nativo, y no indican, implican o infieren ningún método o procedimiento mediante el cual se preparó la proteína quimérica. Por ejemplo, en referencia a una proteína quimérica proporcionada en el presente documento, la frase "un Polipéptido ELNN se inserta inmediatamente aguas abajo del resto 745 del polipéptido de FVIII" significa que la proteína quimérica comprende un Polipéptido ELNN inmediatamente aguas abajo de un aminoácido que corresponde al aminoácido 745 en el FVIII humano maduro nativo, p. ej., acotado por los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 745 y 746 del FVIII humano maduro nativo (sin requerir la presencia de un aminoácido correspondiente a 746 del FVIII humano maduro nativo), y no connota un orden o método de producción para el cual se construyó la proteína quimérica.

[0121] Como se emplean en el presente documento, los términos "Polipéptido ELNN" y "ELNN" son sinónimos, y se refieren a polipéptidos de longitud prolongada con secuencias sustancialmente no repetitivas, de origen no natural, que están compuestas principalmente de pequeños aminoácidos hidrófilos, teniendo la secuencia un bajo grado de, o ninguna estructura secundaria o terciaria, en condiciones fisiológicas. Los ELNN pueden conferir ciertas propiedades farmacocinéticas, fisicoquímicas y farmacéuticas deseables cuando se conectan a una proteína de VWF o una secuencia de FVIII de la divulgación para crear un polipéptido quimérico. Tales propiedades deseables incluyen, pero sin limitarse a, parámetros farmacocinéticos y características de solubilidad mejorados. Como se emplean en el presente documento, los términos "Polipéptido ELNN" y "ELNN" excluyen específicamente anticuerpos o fragmentos de anticuerpos tales como anticuerpos monocatenarios o fragmentos Fc de una cadena ligera o una cadena pesada.

Los polipéptidos ELNN son conocidos en la técnica, y se encuentran disponibles descripciones no limitantes relacionadas con ejemplos de polipéptidos ELNN conocidos como polipéptidos XTEN® en Schellenberger et al., (2009) *Nat Biotechnol* 27(12):1186-90; Brandl et al., (2020) *Journal de Controlled Release* 327:186-197; y Radon et al., (2021) *Advanced Functional Materials* 31, 2101633 (páginas 1-33), cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento como referencia.

[0122] Una proteína de "fusión" o "quimérica" comprende una primera secuencia de aminoácidos conectada a una segunda secuencia de aminoácidos con la que no está conectada de forma natural en la naturaleza. Las secuencias de aminoácidos que normalmente existen en proteínas separadas se pueden reunir en el polipéptido de fusión, o las secuencias de aminoácidos que normalmente existen en la misma proteína se pueden colocar en una nueva disposición en el polipéptido de fusión, p. ej., fusión de un dominio del Factor VIII de la divulgación con un dominio Fc de Ig. Una proteína de fusión se crea, por ejemplo, mediante síntesis química, o creando y traduciendo un polinucleótido en el que las regiones peptídicas están codificadas en la relación deseada. Una proteína quimérica puede comprender adicionalmente una segunda secuencia de aminoácidos asociada a la primera secuencia de aminoácidos mediante un enlace no peptídico covalente o un enlace no covalente.

[0123] Con respecto a las secuencias, el término "conectada" como se emplea en el presente documento se refiere a una primera secuencia de aminoácidos o secuencia de nucleótidos unidas covalentemente o no covalentemente a una segunda secuencia de aminoácidos o secuencia de nucleótidos, respectivamente. La primera secuencia de aminoácidos o nucleótidos se puede unir directamente o yuxtaponer a la segunda secuencia de aminoácidos o nucleótidos o, alternativamente, una secuencia intermedia puede unir covalentemente la primera secuencia a la segunda secuencia. Dependiendo del contexto, el término "conectada" significa no sólo una fusión de una primera secuencia de aminoácidos con una segunda secuencia de aminoácidos en el extremo C-terminal o el extremo N-terminal, sino que también incluye la inserción de toda la primera secuencia de aminoácidos (o la segunda secuencia de aminoácidos) en cualquiera dos aminoácidos en la segunda secuencia de aminoácidos (o la primera secuencia de aminoácidos, respectivamente). En algunas realizaciones, la primera secuencia de aminoácidos se puede conectar a una segunda secuencia de aminoácidos mediante un enlace peptídico o un conector. La primera secuencia de nucleótidos se puede conectar a una segunda secuencia de nucleótidos mediante un enlace fosfodiéster o un conector. El conector puede ser un péptido o un polipéptido (para cadenas de polipéptidos) o un nucleótido o

una cadena de nucleótidos (para cadenas de nucleótidos) o cualquier radical químico (tanto para cadenas de polipéptidos como de polinucleótidos). El término "conectada" también puede indicarse mediante un guion (-).

[0124] Con respecto a dos polipéptidos, el término "asociado con" se refiere a uno o más enlaces covalentes o no covalentes formados entre un primer polipéptido y un segundo polipéptido. En algunas realizaciones, el término "asociado con" significa un enlace covalente, no peptídico o un enlace no covalente. Esta asociación se puede indicar mediante dos puntos, es decir, (:). En algunas realizaciones, significa un enlace covalente excepto un enlace peptídico. Por ejemplo, el aminoácido cisteína comprende un grupo tiol que puede formar un enlace o puente disulfuro con un grupo tiol en un segundo resto de cisteína. En la mayoría de las moléculas de IgG de origen natural, las regiones CH1 y CL están asociadas mediante un enlace disulfuro y las dos cadenas pesadas están asociadas mediante dos enlaces disulfuro en las posiciones correspondientes a 239 y 242 utilizando el sistema de numeración de Kabat (posición 226 o 229, sistema de numeración UE). Los ejemplos de enlaces covalentes incluyen, pero sin limitarse a, un enlace peptídico, un enlace metálico, un enlace de hidrógeno, un enlace disulfuro, un enlace sigma, un enlace pi, un enlace delta, un enlace glicosídico, un enlace agnóstico, un enlace flexionado, un enlace dipolar, un enlace Pi, un enlace doble, un enlace triple, un enlace cuádruple, un enlace quíntuple, un enlace séxtuple, conjugación, hiperconjugación, aromaticidad, hapticidad o antienlazante. Los ejemplos no limitantes de enlace no covalente incluyen un enlace iónico (p. ej., enlace catión-pi o enlace salino), un enlace metálico, un enlace de hidrógeno (p. ej., enlace de dihidrógeno, complejo de dihidrógeno, enlace de hidrógeno de baja barrera, o un enlace de hidrógeno simétrico), fuerza de van der Waals, fuerza de dispersión de London, un enlace mecánico, un enlace de halógeno, aurofilicidad, intercalación, apilamiento, fuerza entrópica, o polaridad química. En algunas realizaciones, los uno o más enlaces covalentes entre la primera cadena de aminoácidos y la segunda cadena de aminoácidos son dos enlaces disulfuro. En algunas realizaciones, los uno o más enlaces covalentes entre la primera cadena de aminoácidos y la segunda cadena de aminoácidos son dos enlaces disulfuro entre una primera porción Fc en la primera cadena de aminoácidos y una segunda porción Fc en la segunda cadena de aminoácidos, en donde los dos enlaces disulfuro se producen en la región bisagra de las dos porciones Fc.

[0125] En algunas realizaciones, un polipéptido tiene un sitio de escisión enzimática escindido por una enzima que se activa durante la cascada de coagulación, de modo que la escisión de tales sitios se produce en el sitio de formación del coágulo. Los ejemplos de tales sitios

incluyen, p. ej., los reconocidos por la trombina, Factor XIa o Factor Xa. SEQ ID NO: 9SEQ ID NO: 15. Otros sitios de escisión enzimática se conocen en la técnica y se describen en otra parte del presente documento. En construcciones que incluyen más de un sitio de procesamiento o escisión, se entenderá que tales sitios pueden ser iguales o diferentes. Como se emplea en el presente documento, el término "semivida" se refiere a una semivida biológica de un polipéptido particular in vivo. La semivida se puede representar por el tiempo necesario para que la mitad de la cantidad administrada a un sujeto se aclare de la circulación y/o de otros tejidos del animal. En algunas realizaciones, cuando se construye una curva de aclaramiento de un polipéptido dado en función del tiempo, la curva suele ser bifásica con una fase α rápida y una fase β más larga. La fase α típicamente representa un equilibrio del polipéptido de Fc administrado entre el espacio intra y extravascular y está determinado, en parte, por el tamaño del polipéptido. La fase β típicamente representa el catabolismo del polipéptido en el espacio intravascular. En algunas realizaciones, el FVIII y las proteínas quiméricas que comprenden el FVIII son monofásicos y, por lo tanto, no tienen una fase alfa, sino solo una fase beta única. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el término semivida como se emplea en el presente documento se refiere a la semivida del polipéptido en la fase β . La semivida típica de la fase beta de un anticuerpo humano en seres humanos es de 21 días. En algunas realizaciones, la semivida se expresa como la semivida de la fase terminal.

[0126] En algunas realizaciones, un sujeto tiene hemofilia A. En algunas realizaciones, la hemofilia A es hemofilia A grave.

[0127] "Administrar" o "administrando", como se emplean en el presente documento se refieren al suministro a un sujeto de una composición descrita en el presente documento, p. ej., una proteína quimérica. La composición, p. ej., la proteína quimérica, se puede administrar a un sujeto utilizando métodos conocidos en la técnica. En particular, la composición se puede administrar por vía intravenosa, subcutánea, intramuscular, intradérmica o a través de cualquier superficie mucosa, p. ej., por vía oral, sublingual, bucal, nasal, rectal, vaginal o pulmonar. En algunas realizaciones, la administración es intravenosa. En algunas realizaciones, la administración es subcutánea. En algunas realizaciones, la administración es autoadministración. En algunas realizaciones, un padre administra la proteína quimérica a un niño. En algunas realizaciones, la proteína quimérica es administrada a un sujeto por un profesional de la salud, tal como un doctor en medicina, un médico o una enfermera.

[0128] Como se emplea en el presente documento, el término "dosis" se refiere a una administración única de una composición a un sujeto. Se puede administrar una sola dosis

de una sola vez, p. ej., en forma de ampolla, o durante un período de tiempo, p. ej., mediante infusión intravenosa. El término "dosis múltiples" significa más de una dosis, p. ej., más de una administración.

[0129] Cuando se hace referencia a la administración conjunta de más de una composición, se puede administrar una dosis de la composición A simultáneamente a una dosis de la composición B. Alternativamente, se puede administrar una dosis de la composición A antes o después de una dosis de la composición B. En algunas realizaciones, la composición A y la composición B se combinan en una única formulación.

[0130] Como se emplean en el presente documento, los términos "intervalo" o "intervalo de dosificación" se refieren a la cantidad de tiempo que transcurre entre una primera dosis de la composición A y una dosis posterior de la misma composición administrada a un sujeto. Un intervalo de dosificación se puede referir al tiempo que transcurre entre una primera dosis y una segunda dosis, o un intervalo de dosificación se puede referir a la cantidad de tiempo que transcurre entre múltiples dosis.

[0131] El término "frecuencia de dosificación" como se emplea en el presente documento se refiere al número de dosis administradas por un intervalo de dosificación específico. Por ejemplo, una frecuencia de dosificación se puede escribir como una vez a la semana, una vez cada dos semanas, etc. Por lo tanto, un intervalo de dosificación de 7 días también se puede escribir como un intervalo de dosificación de una vez cada 7 días o una vez cada semana, o una vez por semana.

[0132] Como se emplea en el presente documento el término "tratamiento profiláctico" se refiere a la administración de una terapia para el tratamiento de la hemofilia A, donde tal tratamiento está destinado a prevenir o reducir la gravedad de uno o más síntomas de la hemofilia A, p. ej., episodios de sangrado, p. ej., uno o más episodios de sangrado espontáneos y/o daño articular. Véase Jiménez-Yuste et al., Blood Transfus. 12(3):314-19 (2014). Para prevenir o reducir la gravedad de tales síntomas, p. ej., episodios de sangrado y la progresión de la enfermedad articular, los pacientes con hemofilia A pueden recibir infusiones periódicas de factor de coagulación como parte de un régimen de tratamiento profiláctico. La base de tal tratamiento profiláctico es la observación de que los pacientes con hemofilia con un nivel de factor de coagulación, p. ej., FVIII, de 1% o más raramente experimentan episodios de sangrado espontáneos y tienen menos comorbilidades relacionadas con la hemofilia en comparación con pacientes con hemofilia grave. Véase, p. ej., Coppola A. et al, Semin. Thromb. Hemost. 38(1): 79-94 (2012). Los profesionales de la salud que tratan a estos pacientes con hemofilia supusieron que el mantenimiento de los niveles de factor a alrededor de 1% con infusiones regulares podría

reducir potencialmente el riesgo de síntomas de hemofilia, incluidos episodios de sangrado y daño articular. Véase ídem. Investigaciones posteriores han confirmado estos beneficios en pacientes pediátricos con hemofilia que reciben tratamiento profiláctico con factor de coagulación, lo que hace que el tratamiento profiláctico sea el objetivo para las personas con hemofilia grave. Véase ídem.

[0133] Un tratamiento "profiláctico" también se puede referir a la administración preventiva de la composición descrita en el presente documento, p. ej., una proteína (tal como una proteína quimérica), a un sujeto con el fin de controlar, manejar, prevenir o reducir la aparición o gravedad de uno o más síntomas de hemofilia A, p. ej., episodios de sangrado. En algunas realizaciones, el tratamiento profiláctico con factor de coagulación, p. ej., FVIII, se utiliza para tratar sujetos con hemofilia A grave. En algunas realizaciones, tratamiento profiláctico se refiere a la administración de una composición descrita en el presente documento a un sujeto que lo necesite para reducir la aparición de uno o más síntomas de hemofilia A. Un tratamiento profiláctico puede incluir la administración de dosis múltiples. Las dosis múltiples utilizadas en el tratamiento profiláctico típicamente se administran a intervalos de dosificación particulares. En algunas realizaciones, la tasa de sangrado anualizada se puede reducir a menos de 10, menos de 9, menos de 8, menos de 7, menos de 6, menos de 5, menos de 4, menos de 3, menos de 2, o menos de 1.

[0134] Los términos "tratamiento a demanda" o "tratamiento episódico" se refieren a la administración "según sea necesario" de una molécula quimérica en respuesta a los síntomas de la hemofilia A, p. ej., un episodio de sangrado, o antes de una actividad que pueda provocar sangrado. En algunos aspectos, el tratamiento a demanda se puede administrar a un sujeto cuando comienza el sangrado, tal como después de una lesión, o cuando se espera un sangrado, tal como antes de la cirugía. En algunos aspectos, el tratamiento a demanda se puede administrar antes de actividades que aumentan el riesgo de sangrado, tales como deportes de contacto. En algunas realizaciones, el tratamiento a demanda se administra en una sola dosis. En algunas realizaciones, el tratamiento a demanda se administra como una primera dosis, seguida de una o más dosis adicionales. Cuando la proteína quimérica se administra a demanda, las una o más dosis adicionales se pueden administrar al menos aproximadamente 12 horas, al menos aproximadamente 24 horas, al menos aproximadamente 36 horas, al menos aproximadamente 48 horas, al menos aproximadamente 60 horas, al menos aproximadamente 72 horas, al menos aproximadamente 84 horas, al menos aproximadamente 96 horas, al menos aproximadamente 108 horas, o al menos aproximadamente 120 horas después de la primera dosis. Sin embargo, cabe señalar que el intervalo de dosificación asociado con el

tratamiento a demanda no es el mismo que el intervalo de dosificación utilizado para el tratamiento profiláctico.

[0135] En algunas realizaciones, el sujeto que necesita un agente hemostático general se está sometiendo o está a punto de someterse a una cirugía. La proteína quimérica de la divulgación se puede administrar antes o después de la cirugía. La proteína quimérica de la divulgación también se puede administrar durante o después de la cirugía para controlar un episodio de sangrado agudo. Cuando la proteína quimérica se administra antes de la cirugía, la administración puede ser al menos aproximadamente 1 hora, al menos aproximadamente 2 horas, al menos aproximadamente 4 horas, al menos aproximadamente 8 horas, al menos aproximadamente 12 horas, al menos aproximadamente 24 horas, al menos aproximadamente 36 horas, al menos aproximadamente 48 horas, o al menos aproximadamente 72 horas antes de la cirugía. Cuando la proteína quimérica se administra después de la cirugía, la administración puede ser al menos aproximadamente 1 hora, al menos aproximadamente 2 horas, al menos aproximadamente 4 horas, al menos aproximadamente 8 horas, al menos aproximadamente 12 horas, al menos aproximadamente 24 horas, al menos aproximadamente 36 horas, al menos aproximadamente 48 horas, o al menos aproximadamente 72 horas después de la cirugía. La cirugía puede incluir, pero sin limitarse a, trasplante de hígado, resección hepática, procedimientos dentales o trasplante de células madre.

[0136] "Tratar", "tratamiento", "tratando", como se emplean en el presente documento se refieren, p. ej., a la reducción de la gravedad de una enfermedad o afección; la reducción de la duración del curso de una enfermedad; la mejora de uno o más síntomas asociados con una enfermedad o afección; la provisión de efectos beneficiosos a un sujeto con una enfermedad o afección, sin necesariamente curar la enfermedad o afección, o la profilaxis de uno o más síntomas asociados con una enfermedad o afección. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento comprenden mantener un nivel valle de FVIII a al menos aproximadamente 1 UI/dL, 2 UI/dL, 3 UI/dL, 4 UI/dL, 5 UI/dL, 6 UI/dL, 7 UI/dL, 8 UI/dL, 9 UI/dL, 10 UI/dL, 11 UI/dL, 12 UI/dL, 13 UI/dL, 14 UI/dL, 15 UI/dL, 16 UI/dL, 17 UI/dL, 18 UI/dL, 19 UI/dL, o 20 UI/dL en un sujeto mediante la administración de una proteína quimérica de la divulgación. Como se emplea en el presente documento, un "nivel valle" en un paciente con hemofilia A es la medición de la concentración más baja alcanzada por una terapia de factor, p. ej., una terapia con FVIII, antes de administrar la siguiente dosis. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan mantener un nivel valle de FVIII de al menos aproximadamente 1 UI/dL entre el intervalo de dosificación. En algunas

realizaciones, tratar o tratamiento significan mantener un nivel valle de FVIII de al menos aproximadamente 3 UI/dL entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan mantener un nivel valle de FVIII de al menos aproximadamente 5 UI/dL entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan mantener un nivel valle de FVIII entre aproximadamente 1 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 2 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 3 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 4 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 5 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 6 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 7 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 8 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 9 y aproximadamente 20 UI/dL, aproximadamente 10 y aproximadamente 20 UI/dL durante el intervalo de dosificación.

[0137] En algunas realizaciones, tratar o tratamiento de una enfermedad o afección comprenden el mantenimiento de la actividad del FVIII en un sujeto a un nivel comparable a al menos aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, o 20% de la actividad del FVIII en un sujeto no hemofílico entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 1% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 2% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 3% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 4% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 5% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 6% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 7% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 8% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 9% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, tratar o tratamiento significan

el mantenimiento de un nivel de actividad de FVIII de al menos aproximadamente 10% entre el intervalo de dosificación. En algunas realizaciones, el nivel valle mínimo requerido para el tratamiento se puede medir mediante uno o más métodos conocidos (por ejemplo, los ensayos de tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT) o ensayos cromogénicos, que son bien conocidos en la técnica) y se puede ajustar (aumentar o disminuir) para cada persona. En la Publicación de Solicitud de Estados Unidos Núm. 20190375822 se describen ejemplos no limitantes de ensayos para medir el nivel mínimo, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

II. Proteínas Quiméricas

- [0138]** En un aspecto, la presente divulgación está dirigida a composiciones farmacéuticas que comprenden una proteína quimérica o proteína que comprende una primera cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor VIII ("FVIII") o una porción de la misma y una primera región constante de inmunoglobulina ("Ig") o una porción de la misma, y una segunda cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor de von Willebrand ("VWF") y una segunda región constante de Ig o una porción de la misma. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende (i) una proteína de FVIII que comprende un polipéptido de FVIII, un Polipéptido ELNN insertado dentro del dominio B del polipéptido de FVIII, y una primera región Fc; y (ii) una proteína de VWF que comprende un fragmento de VWF, una segunda secuencia de Polipéptido ELNN, un conector a2, y una segunda región Fc. En algunas realizaciones, la proteína quimérica divulgada en el presente documento es un heterodímero FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc.
- [0139]** En algunas realizaciones, la proteína quimérica es efanesoctocog alfa. El efanesoctocog alfa, también conocido como "BIVV001", "efanesoctocogum alfa", "rFVIII-Fc-VWF-ELNN", y "rFVIII-Fc-VWF-XTEN", es descrito por Chhabra et al. en *Blood* 135(17): 1484-1496 (2020), cuyo contenido completo se incorpora a la presente como referencia en su totalidad. En la FIG. 1 se presenta una representación esquemática de efanesoctocog alfa, como heterodímero FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc ilustrativo.
- [0140]** El Efanesoctocog alfa es una proteína grande (más de 300 kDa) que comprende múltiples partes en cada una de las dos cadenas de polipéptidos que están asociadas mediante enlaces covalentes e interacciones no covalentes. La proteína tiene tendencia a agregarse bajo ciertas condiciones, lo que puede reducir la estabilidad de las formulaciones a menos que se seleccione un excipiente tal como L-arginina y esté presente en una cantidad que sea suficiente para reducir la agregación. Por ejemplo, la agregación se puede reducirse añadiendo niveles elevados de L-arginina (p. ej., aproximadamente 250 mM).

- [0141]** Se puede encontrar información adicional sobre efanesoctocog alfa en Denominaciones Comunes Internacionales para las Sustancias Farmacéuticas (DCI) Información sobre medicamentos de la OMS, 2019, vol. 33, núm. 4, pág. 828-30. En algunas realizaciones, la proteína quimérica es un heterodímero FVIII-ELNN-Fc/D'D3-ELNN-Fc que comprende (i) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y (ii) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende (i) un primer polipéptido y (ii) un segundo polipéptido que están conectados covalentemente a través de uno o más enlaces disulfuro (p. ej., dos enlaces disulfuro). En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII codificada por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 4. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF codificada por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 6. En algunas realizaciones, el efanesoctocog alfa tiene una actividad de al menos 1600 UI/mg. En algunas realizaciones, el efanesoctocog alfa tiene una actividad de al menos 1700 UI/mg. En algunas realizaciones, el efanesoctocog alfa tiene una actividad de al menos 1800 UI/mg. En algunas realizaciones, el efanesoctocog alfa tiene una actividad de al menos 1900 UI/mg. En algunas realizaciones, el efanesoctocog alfa tiene una actividad de 1600 UI/mg a 2000 UI/mg.
- [0142]** En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende uno o más puentes disulfuro en una o más de las siguientes ubicaciones: restos 153-179, 248-329, 528-554, 630-711, 1220-1246, 1287-1291, 1409-1557, 1562-1714, 1761-1821 y/o 1867-1925 de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende uno o más puentes disulfuro en cada una de las siguientes ubicaciones: restos 153-179, 248-329, 528-554, 630-711, 1220-1246, 1287-1291, 1409-1557, 1562-1714, 1761-1821, y 1867-1925 de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende uno o más restos Cys-SH en los restos 310 , 692 y/o 1388 de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende restos de Cys-SH en cada uno de los restos 310, 692 y/o 1388 de SEQ ID NO: 1.
- [0143]** En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende uno o más sitios de N-glicosilación en los restos N41, N239, N1198, N1506 y/o N1797 de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende uno o más sitios de O-glicosilación en los restos

746-1036 de SEQ ID NO: 1 y/o los restos Ser y Thr en los péptidos conectores. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de FVIII que comprende uno o más sitios de Tyr-sulfatación en los restos 346, 718, 719, 723, 729, 1052 y/o 1068 de SEQ ID NO: 1.

[0144] En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende uno o más puentes disulfuro en uno o más de las siguientes ubicaciones: restos 4-45, 13-41, 25-36, 29-64, 47-58, 66-88, 83-100, 86-95, 104-233, 126-268, 135-230, 151-158, 283-326, 297-321, 308-348, 328-334, 338-363, 367-410, 386-406, 390-402, 394-433, 414-427, 436-464, 459-474, 462-471, 698-758 y/u 804-862 de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende uno o más puentes disulfuro en cada una de las siguientes ubicaciones: restos 4-45, 13-41, 25-36, 29-64, 47-58, 66-88, 83-100, 86-95, 104-233, 126-268, 135-230, 151-158, 283-326, 297-321, 308-348, 328-334, 338-363, 367-410, 386-406, 390-402, 394-433, 414-427, 436-464, 459-474, 462-471, 698-758, y/u 804-862 de SEQ ID NO: 2.

[0145] En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende uno o más sitios de N-glicosilación en los restos N94, N384, N734 de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende uno o más sitios de O-glicosilación en los restos 478-625 de SEQ ID NO: 2 y/o los restos Ser y Thr en los péptidos conectores. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende uno o más sitios de Tyr-sulfatación en los restos 632, 633, 637 y/o 643 de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína de VWF comprende un fragmento de VWF que comprende un dominio D1, D2, D' y/o D3 de VWF. En una realización, el fragmento de VWF comprende una región D1D2 de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20. En algunas realizaciones, la proteína de VWF comprende adicionalmente una secuencia de péptido señal de VWF. En una realización, el péptido señal de VWF comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19. En una realización específica, la proteína de VWF comprende un péptido señal de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, una región D1D2 de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, un dominio D' de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, un dominio D3 de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22, una secuencia de Polipéptido ELNN que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 (AE144_5A), un conector a2

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y/o una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23.

[0146] En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la presente divulgación comprende: (i) una proteína de FVIII que comprende un polipéptido de FVIII, una primera secuencia de polipéptido ELNN, y una primera región Fc; y (ii) un fragmento de VWF que comprende un dominio D' de VWF y un dominio D3 de VWF, una segunda secuencia de Polipéptido ELNN, un conector a2 de FVIII, y una segunda región Fc; en donde: la proteína de FVIII tiene una delección de los aminoácidos 746 al 1648 correspondientes al FVIII maduro; la primera secuencia de Polipéptido ELNN se inserta dentro del polipéptido de FVIII inmediatamente aguas abajo del aminoácido 745 correspondiente al FVIII maduro; la primera secuencia de Polipéptido ELNN comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de AE288 (SEQ ID NO: 9); la primera región Fc está fusionada al extremo C-terminal del polipéptido de FVIII; la segunda secuencia de Polipéptido ELNN está fusionada al extremo C-terminal del fragmento VWF; la segunda secuencia de Polipéptido ELNN comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de AE144_5A (SEQ ID NO: 14); el conector a2 está fusionado al extremo C-terminal del Polipéptido ELNN; el conector a2 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96% , al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o aproximadamente 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la segunda región Fc está fusionada al extremo C-terminal del conector a2; y la primera región Fc está conectada covalentemente a la segunda región Fc mediante un enlace disulfuro (p. ej., dos enlaces disulfuro).

[0147] En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende dos secuencias de polipéptidos, una primera secuencia de polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 80%, 90%, 95%, o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1; y una segunda secuencia de polipéptido que comprende un fragmento de VWF que comprende un dominio D' de VWF y un dominio D3 de VWF y una región Fc. En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende dos secuencias de polipéptidos, una primera secuencia de polipéptido que comprende el polipéptido de FVIII y una región Fc; y una segunda secuencia de polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 80%, 90%, 95%, o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende dos secuencias de polipéptidos, una primera secuencia de polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 80%, 90%, 95%, o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 y una segunda secuencia de polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 80%, 90%, 95%, o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende dos secuencias de polipéptidos, una primera secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7 y una segunda secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende dos secuencias de polipéptidos, una primera secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 y una segunda secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2, en donde la primera secuencia de polipéptido y la segunda secuencia de polipéptido están conectadas entre sí mediante un enlace disulfuro. En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende dos secuencias de polipéptidos, una primera secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 y una segunda secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2, en donde la primera secuencia de polipéptido y la segunda secuencia de polipéptido están conectadas entre sí mediante dos enlaces disulfuro. En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende dos secuencias de polipéptidos, una primera secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 y una segunda secuencia de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos

expuesta en SEQ ID NO: 2, en donde la primera secuencia de polipéptido comprende una primera porción Fc, en donde la segunda secuencia de polipéptido comprende una segunda porción Fc, en donde la primera porción Fc y la segunda porción Fc están conectadas entre sí mediante dos enlaces disulfuro en la región bisagra.

[0148] En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende una proteína de FVIII que comprende una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 80%, 90%, 95%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 3, o SEQ ID NO: 1; y una proteína de VWF que comprende una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente 80%, 90%, 95%, o 100% idéntica a SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 5.

[0149] En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende: (i) una proteína de FVIII que comprende un primer fragmento de polipéptido de FVIII que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17; una primera secuencia de polipéptido ELNN que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 (AE288); un segundo fragmento de polipéptido de FVIII que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y una primera región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23; y (ii) una proteína de VWF que comprende: un dominio D' de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; un dominio D3 de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; una segunda secuencia de Polipéptido ELNN que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 (AE144_5A); un conector a2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15; y una segunda región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y en donde la primera región Fc está conectada covalentemente a la segunda región Fc mediante un enlace disulfuro (p. ej., dos enlaces disulfuro).

[0150] En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende una proteína de FVIII que comprende un polipéptido de FVIII, una primera secuencia de polipéptido ELNN, una primera región Fc, y una proteína de VWF que comprende un dominio D' de VWF, un dominio D3 de VWF, una segunda secuencia de Polipéptido ELNN, un conector a2 de FVIII y una segunda región Fc, en donde el polipéptido de FVIII comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, la primera secuencia de Polipéptido ELNN comprende la secuencia de aminoácidos de AE288 (SEQ ID NO: 9) y está fusionada al extremo C-terminal de SEQ ID NO: 17, el polipéptido de FVIII comprende adicionalmente la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, la primera región Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y está fusionada al extremo C-terminal de SEQ ID NO: 18; el dominio D' del VWF comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; el dominio D3 de VWF comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 214, la segunda secuencia de Polipéptido ELNN comprende la secuencia de aminoácidos de AE144_5A (SEQ ID NO: 14) y está fusionada al extremo C-terminal del dominio D3 de VWF; el conector a2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y está fusionado al extremo C-terminal de la segunda secuencia de Polipéptido ELNN; la segunda región Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y está fusionada al extremo C-terminal del conector a2; y en donde la primera región Fc está conectada covalentemente a la segunda región Fc mediante un enlace disulfuro.

[0151] En algunas realizaciones, la proteína quimérica de la divulgación comprende una proteína de FVIII que comprende un péptido señal de FVIII que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende un péptido señal de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende una proteína de VWF que comprende un dominio D1D2 de VWF que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20.

[0152] En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

[0153] En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende uno o más puentes disulfuro entre el primer polipéptido y el segundo polipéptido. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende dos puentes disulfuro entre el primer polipéptido y el segundo polipéptido. En algunas realizaciones, la proteína quimérica comprende un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, en donde la proteína quimérica comprende un puente disulfuro entre el resto 1726 de SEQ ID NO: 1 y el resto 663 de SEQ ID NO: 2, y un puente disulfuro entre el resto 1729 de SEQ ID NO: 1 y el resto 666 de SEQ ID NO: 2.

IV. Composiciones Farmacéuticas

[0154] En un aspecto, la presente divulgación está dirigida a composiciones farmacéuticas de una proteína quimérica que se formulan para mejorar la estabilidad de las proteínas. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas demuestran una mayor estabilidad basada en análisis mediante inspección visual, concentración de proteínas, estabilidad de pH, formación de especies de alto peso molecular (HMWS) y/o cambio en la turbidez. El análisis de estas propiedades de estabilidad se puede realizar utilizando técnicas convencionales, incluida la cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), la cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC), y muchas otras.

[0155] Las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento comprenden una cantidad especificada de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una concentración de proteína quimérica de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1,2 mg/mL. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una concentración de proteína quimérica de aproximadamente 0,8 mg/mL. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una concentración de proteína quimérica de aproximadamente 0,9 mg/mL. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una concentración de proteína quimérica de aproximadamente 1,0 mg/mL. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una concentración de proteína quimérica de aproximadamente 1,1 mg/mL. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una concentración de proteína quimérica de aproximadamente 1,2 mg/mL.

[0156] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 75 UI/mL a aproximadamente 2,000 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 75 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 150 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 200 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 250 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 300 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 350 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

aproximadamente 400 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 450 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 500 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 550 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 600 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 650 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 700 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 750 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 800 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 850 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 900 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 950 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1000 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 250 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 300 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 85 IU/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 100 IU/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende más de aproximadamente 200 IU/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos aproximadamente 200 IU/ml de la proteína quimérica.

[0157] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1100 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1150 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1200

UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1250 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1300 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1350 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1400 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1450 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1500 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1550 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1600 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1650 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1700 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1750 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1800 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1850 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1900 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1950 UI/mL de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 2000 UI/mL de la proteína quimérica.

[0158] Las composiciones farmacéuticas que contienen la proteína quimérica de la presente divulgación también contienen un portador farmacéuticamente aceptable adecuado. Por ejemplo, pueden contener excipientes y/o agentes auxiliares que proporcionan un aumento de estabilidad de la proteína quimérica o facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones diseñadas para el suministro al sitio de acción.

[0159] En un aspecto, en el presente documento se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad especificada de una proteína quimérica junto con los excipientes divulgados. Las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento comprenden diversas concentraciones de estos excipientes divulgados, y las concentraciones se pueden expresar de diversas maneras. Por ejemplo, la concentración

de un excipiente dado se puede expresar como una concentración molar (p. ej., M o mM), como un porcentaje en peso/volumen, (p. ej., gramos por 100 ml de diluyente), o como miligramos por mililitro (mg/ml). Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento pueden contener cantidades especificadas de los diversos excipientes a un nivel de precisión que oscila de aproximado, p. ej., concentraciones expresadas solo hasta una cifra significativa (p. ej., aproximadamente 0,1% (p/v)), o con más more precisión, p. ej., de hasta 2, 3, 4, 5, o 6 cifras significativas (p. ej., aproximadamente 3,88 mg/ml, con precisión de hasta tres cifras significativas). El nivel necesario de precisión puede variar dependiendo, p. ej., de los requerimientos de una agencia reguladora dada, o del procedimiento de fabricación.

[0160] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa de 1% (p/v) a 4% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa de 2% (p/v) a 5% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa de 4% (p/v) a 8% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa de aproximadamente 1,5% (p/v) a aproximadamente 2,5% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa de aproximadamente 5% (p/v) a aproximadamente 7,5% (p/v).

[0161] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,0% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,1% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,2% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,3% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,4% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,5% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,6% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,7% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,8% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 1,9% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 2,0% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 2,1% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 2,2% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica

[illegible]

[illegible]

comprende sacarosa a aproximadamente 7,6% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 7,7% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 7,8% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 7,9% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende sacarosa a aproximadamente 8% (p/v).

[0162] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 33,67 mg de sacarosa. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 67,34 mg de sacarosa. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 168,35 mg de sacarosa. En algunas realizaciones, la cantidad de sacarosa puede variar hasta 10% de una cantidad específica. En algunas realizaciones, la cantidad de sacarosa puede variar hasta 5% de una cantidad específica. En algunas realizaciones, la cantidad de sacarosa puede variar hasta 1% de una cantidad específica. En algunas realizaciones, la cantidad específica de sacarosa es 33,67 mg, 67,34 mg, o 168,35 mg.

[0163] Las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento pueden incluir un tampón. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento incluyen cantidades o concentraciones especificadas de histidina. En algunas realizaciones, la histidina incluida en la composición farmacéutica es L-histidina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM.

[0164] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 5,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 6 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 6,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 7 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 7,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 8 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 8,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 9 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 9,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 10 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica

comprende histidina aproximadamente 10,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 11 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 11,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 12 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 12,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 13 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 13,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 14 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 14,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende histidina aproximadamente 15 mM. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina.

[0165] En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento incluyen cantidades o concentraciones especificadas de arginina. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende hidrocloreto de arginina (HCl). En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones, la composición comprende L-arginina-HCl.

[0166] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM.

[0167] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 200 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 210 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 220 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 230 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 240 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 250 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 260 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 270 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 280 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 290 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende arginina aproximadamente 300 mM. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones, la composición comprende L-arginina-HCl.

[0168] Las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento pueden incluir un agente voluminizante. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento incluyen cantidades o concentraciones especificadas de cloruro de calcio (CaCl_2). En algunas realizaciones, la composición comprende $\text{CaCl}_2 \bullet 2\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 (anhidro), $\text{CaCl}_2 \bullet 4\text{H}_2\text{O}$, o $\text{CaCl}_2 \bullet 6\text{H}_2\text{O}$. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0169] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 2,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 3 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 3,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 4 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 4,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 5,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 6 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 6,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 7 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 7,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 8 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 8,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 9 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 9,5 mM. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende cloruro de calcio aproximadamente 10 mM. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0170] En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento no incluyen agentes voluminizantes distintos de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, el cloruro de calcio es el único agente voluminizante. En algunas

realizaciones, la composición farmacéutica comprende menos de 8,8 mg/mL de cloruro de sodio (NaCl). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica está sustancialmente libre de cloruro de sodio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica está libre de cloruro de sodio.

[0171] En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento incluyen cantidades o concentraciones especificadas de poloxámero 188 (P188). En algunas realizaciones, el poloxámero es poloxámero 101, 105, 108, 122, 123, 124, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 212, 215, 217, 231, 234, 235, 237, 238, 282, 284, 288, 331, 333, 334, 335, 338, 401, 402, 403, o 407. En algunas realizaciones, el poloxámero es poloxámero 407. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml de un poloxámero. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos aproximadamente 1 mg/ml de un poloxámero.

[0172] En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento incluyen cantidades o concentraciones especificadas de poloxámero 188 (P188). Las divulgaciones no limitantes referentes a P188 se pueden encontrar en Strickley y Lambert (2021) *Journal of Pharmaceutical Sciences* 110 2590–2608, cuyo contenido completo se incorpora al presente documento como referencia. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 de aproximadamente 0,01% (p/v) a aproximadamente 1,0% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a al menos aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%.

[0173] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,01% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,02% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,03% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,04% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,05% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,06% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,07% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,08% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,09%

(p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,1% (p/v).

[0174] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,11% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,12% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,13% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,14% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,15% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,16% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,17% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,18% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,19% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,2% (p/v).

[0175] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,3% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,4% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,5% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,6% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,7% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,8% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 0,9% (p/v). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende poloxámero 188 a aproximadamente 1,0% (p/v).

[0176] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es solución de pre-liofilización. En algunas realizaciones, solución de pre-liofilización no comprende NaCl.

[0177] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 8% (p/v);
- (b) histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM;
- (c) arginina de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM;
- (d) cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM; y

(e) poloxámero de aproximadamente 0,1% (p/v) a aproximadamente 1,0% (p/v). En algunas realizaciones, el poloxámero es poloxámero 188 (P188). En algunas realizaciones, la composición comprende poloxámero 188. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es solución de pre-liofilización.

[0178] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante no comprende NaCl.

[0179] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa a aproximadamente 1% (p/v);
- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preliofilización.

[0180] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa a aproximadamente 2% (p/v);
- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preliofilización.

[0181] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa a aproximadamente 5% (p/v)
- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y

[0182] (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preliofilización. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa de aproximadamente 1% (p/v) a aproximadamente 5% (p/v);
- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preliofilización.

[0183] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa a aproximadamente 1%, 2%, o 5% (p/v);
- (b) histidina de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preliofilización.

[0184] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa a aproximadamente 1%, 2%, o 5% (p/v);
- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina de aproximadamente 200 mM a aproximadamente 300 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preliofilización.

[0185] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa a aproximadamente 1%, 2%, o 5% (p/v);
- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio de aproximadamente 2,5 mM a aproximadamente 10 mM; y
- (e) poloxámero 188 a aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de prelioofilización.

[0186] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende

- (a) sacarosa a aproximadamente 1%, 2%, o 5% (p/v);
- (b) histidina aproximadamente 10 mM;
- (c) arginina aproximadamente 250 mM;
- (d) cloruro de calcio aproximadamente 5 mM; y

[0187] (e) poloxámero 188 de aproximadamente 0,008% (p/v) a aproximadamente 0,1% (p/v). En algunas realizaciones, la histidina es L-histidina. En algunas realizaciones, la arginina es L-arginina. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de prelioofilización.

[0188] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) aproximadamente 10, 20, o 50 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,552 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 52,665 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,735 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/ml de poloxámero 188.

[0189] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) aproximadamente 10, 20, o 50 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,552 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 52,665 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,735 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/ml de poloxámero 188.

[0190] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) aproximadamente 10, 20, o 50 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,552 mg/ml de L-histidina;

- (c) aproximadamente 52,665 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,555 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preiofilización.

[0191] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) aproximadamente 10, 20, o 50 mg/ml sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,552 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 43,550 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,735 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preiofilización.

[0192] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) aproximadamente 10, 20, o 50 mg/ml sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,552 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 43,550 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,735 mg/ml cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preiofilización.

[0193] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) aproximadamente 10, 20, o 50 mg/ml sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,552 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 43,550 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,555 mg/ml cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1 mg/mL de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una solución de preiofilización.

[0194] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;

- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0195] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0196] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0197] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende:

- (a) 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0198] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,5. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,0. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,8.

[0199] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,5. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,6. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,7. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,8. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,9. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,0. En algunas realizaciones, la composición

farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,1. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,2. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,3. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,4. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,5.

[0200] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 6,5. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 6,6. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 6,7. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 6,8. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 6,9. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 7,0. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 7,1. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 7,2. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 7,3. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 7,4. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 7,5.

[0201] En algunas realizaciones, se añade un volumen de 3,367 mL de la solución de pre-liofilización a un recipiente o vial. En algunas realizaciones, la solución preliofilizada es sometida a liofilización, dando como resultado una composición farmacéutica liofilizada.

[0202] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg de sacarosa;
- (b) de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 7,5 mg de histidina;
- (c) de aproximadamente 140 mg a aproximadamente 200 mg de arginina;
- (d) de aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg de poloxámero 188.

[0203] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg de sacarosa;
- (b) de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 7,5 mg de L-histidina;
- (c) de aproximadamente 140 mg a aproximadamente 200 mg de L-arginina;
- (d) de aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0204] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de 10 mg a 200 mg de sacarosa;

- (b) de 2,5 mg a 7,5 mg de histidina;
- (c) de 140 mg a 200 mg de arginina;
- (d) de 1,5 mg a 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) de 1 mg a 10 mg de poloxámero 188.

[0205] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de 10 mg a 200 mg de sacarosa;
- (b) de 2,5 mg a 7,5 mg de L-histidina;
- (c) de 140 mg a 200 mg de L-arginina-HCl;
- (d) de 1,5 mg a 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) de 1 mg a 10 mg de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0206] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de 10 mg a 200 mg de sacarosa;
- (b) de 2,5 mg a 7,5 mg de L-histidina;
- (c) de 140 mg a 200 mg de L-arginina;
- (d) de 1,5 mg a 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) de 1 mg a 10 mg de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0207] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) aproximadamente 33,7, 67,3, o 168,4 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,2 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 2,5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,4 mg de poloxámero 188.

[0208] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) aproximadamente 33,7, 67,3, o 168,4 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,2 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 146,6 mg de L-arginina;
- (d) aproximadamente 2,5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,4 mg de poloxámero 188.

[0209] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,7, 67,3, o 168,4 mg de sacarosa;
- (b) 5,2 mg de L-histidina;
- (c) 177,3 mg de L-arginina-HCl;

(d) 2,5 mg de cloruro de calcio; y

(e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0210] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

(a) 33,7, 67,3, o 168,4 mg de sacarosa;

(b) 5,2 mg de L-histidina;

(c) 146,6 mg de L-arginina;

(d) 2,5 mg de cloruro de calcio; y

(e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0211] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

(a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;

(b) 5,23 mg de L-histidina;

(c) 177,32 mg de L-arginina-HCl;

(d) 2,47 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y

[0212] (e) 3,37 mg de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

(a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;

(b) 5,23 mg de L-histidina;

(c) 177,32 mg de L-arginina-HCl;

(d) 1,87 mg de cloruro de calcio; y

(e) 3,37 mg de poloxámero 188.

[0213] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

(a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;

(b) 5,23 mg de L-histidina;

(c) 146,63 mg de L-arginina;

(d) 2,47 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y

(e) 3,37 mg de poloxámero 188.

[0214] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

(a) 33,67, 67,34, o 168,35mg de sacarosa;

(b) 5,23 mg de L-histidina;

(c) 146,63 mg de L-arginina;

(d) 1,87 mg de cloruro de calcio; y

(e) 3,37 mg de poloxámero 188.

[0215] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

(a) de 10 mg a 200 mg de sacarosa;

(b) 5,2 mg de L-histidina;

- (c) 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 2,5 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0216] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de 10 mg a 200 mg de sacarosa;
- (b) 5,2 mg de L-histidina;
- (c) 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 1,9 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0217] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de 10 mg a 200 mg de sacarosa;
- (b) 5,2 mg de L-histidina;
- (c) 146,6 mg de L-arginina;
- (d) 2,5 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0218] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) de 10 mg a 200 mg de sacarosa;
- (b) 5,2 mg de L-histidina;
- (c) 146,6 mg de L-arginina;
- (d) 1,9 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0219] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,7, 67,3, o 168,4 mg de sacarosa;
- (b) de 2,5 mg a 7,5 mg de L-histidina;
- (c) 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 2,5 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0220] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,7, 67,3, o 168,4 mg de sacarosa;
- (b) de 2,5 mg a 7,5 mg de L-histidina;
- (c) 177,3 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 1,9 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0221] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,7, 67,3, o 168,4 mg de sacarosa;

- (b) de 2,5 mg a 7,5 mg de L-histidina;
- (c) 146,6 mg de L-arginina;
- (d) 2,5 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0222] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,7, 67,3, o 168,4mg de sacarosa;
- (b) de 2,5 mg a 7,5 mg de L-histidina;
- (c) 146,6 mg de L-arginina;
- (d) 1,9 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,4 mg de poloxámero 188.

[0223] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) de 140 mg a 200 mg de L-arginina;
- (d) de 1,5 mg a 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,37 mg de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición comprende de 140 mg a 200 mg de L-arginina-HCl.

[0224] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 177,32 mg de L-arginina-HCl;
- (d) de 1,5 mg a 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,37 mg de poloxámero 188.

[0225] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 146,63 mg de L-arginina;
- (d) de 1,5 mg a 5 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,37 mg de poloxámero 188.

[0226] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 177,32 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 2,47 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de 1 mg a 10 mg de poloxámero 188.

[0227] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 177,32 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 1,87 mg de cloruro de calcio; y
- (e) de 1 mg a 10 mg de poloxámero 188.

[0228] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 146,63 mg de L-arginina;
- (d) 2,47 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de 1 mg a 10 mg de poloxámero 188.

[0229] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 146,63 mg de L-arginina;
- (d) 1,87 mg de cloruro de calcio; y
- (e) de 1 mg a 10 mg de poloxámero 188.

[0230] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada tiene un contenido de humedad de menos de 2%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada tiene un contenido de humedad de menos de 1,8%. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada tiene un contenido de humedad de menos de 1,6%.

[0231] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada está en una torta liofilizada. En algunas realizaciones, la torta liofilizada es de color blanco. En algunas realizaciones, la torta liofilizada es menor que Y4 en la escala de color de la Farmacopea Europea. Véase Degree of Coloration of Liquids (Method 2.2.2), European Pharmacopoeia, 10^a Ed. (2021).

[0232] En algunas realizaciones, se combinan la composición farmacéutica liofilizada y agua estéril para producir una solución inyectable. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada se combina con aproximadamente 2 mL a aproximadamente 5 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada se combina con aproximadamente 3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica liofilizada se combina con 3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el agua estéril es agua estéril de grado USP. En algunas realizaciones, el agua estéril es agua estéril de grado USP para inyectables. En algunas realizaciones, el

agua estéril es está libre de pirógeno o es no pirogénica. En algunas realizaciones, el agua estéril n o contiene un agente bacteriostático o antimicrobiano. En algunas realizaciones, el agua estéril contiene un agente bacteriostático o antimicrobiano. En algunas realizaciones, el agua estéril se esteriliza utilizando un filtro. En algunas realizaciones, el agua estéril se esteriliza utilizando un filtro de 0,1 μm . En algunas realizaciones, el agua estéril es agua destilada. En algunas realizaciones, el agua estéril es agua destilada no pirogénica, estéril, hipotónica con una osmolaridad de cero mOsmoles/L, y no contiene un agente bacteriostático o antimicrobiano.

[0233] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 50 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina;
- (d) de 0,7 mg/mL a 0,9 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl.

[0234] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) de 10 mg/mL a 60 mg/mL de sacarosa;
- (b) de 1,5 mg/mL a 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) de 50 mg/mL a 70 mg/mL de L-arginina;
- (d) de 0,5 mg/mL a 0,8 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) de 0,6 mg/mL a 1,6 mg/mL de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio

[0235] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0236] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;

- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0237] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0238] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición

comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0239] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) de aproximadamente 10 mg/mL a aproximadamente 60 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0240] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) de aproximadamente 10 mg/mL a aproximadamente 60 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;

- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0241] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) de aproximadamente 10 mg/mL a aproximadamente 60 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 44,88 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188

[0242] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) de aproximadamente 10 mg/mL a aproximadamente 60 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 44,88 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición

comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0243] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) de aproximadamente 1,5 mg/mL a aproximadamente 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0244] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) de aproximadamente 1,5 mg/mL a aproximadamente 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y

(e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0245] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) de aproximadamente 1,5 mg/mL a aproximadamente 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0246] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 22,45 mg/ml de sacarosa;
- (b) de aproximadamente 1,5 mg/mL a aproximadamente 2,0 mg/mL de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0247] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) de aproximadamente 50 mg/mL a aproximadamente 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0248] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) de aproximadamente 50 mg/mL a aproximadamente 70 mg/mL de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición

comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0249] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) de aproximadamente 40 mg/mL a aproximadamente 60 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0250] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) de aproximadamente 40 mg/mL a aproximadamente 60 mg/mL de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición

comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0251] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) de aproximadamente 0,7 mg/mL a aproximadamente 0,9 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0252] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) de aproximadamente 0,5 mg/mL a aproximadamente 0,9 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones, la composición

comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0253] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) de aproximadamente 0,7 mg/mL a aproximadamente 0,9 mg/mL de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl.

[0254] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) de aproximadamente 0,5 mg/mL a aproximadamente 0,7 mg/mL de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0255] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0256] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y

(e) de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 1,6 mg/mL de poloxámero 188. En algunas realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0257] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 1,6 mg/mL de poloxámero 188.

[0258] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 1,6 mg/mL de poloxámero 188. En algunas

realizaciones la composición comprende L-arginina-HCl. En algunas realizaciones, la composición comprende dihidrato de cloruro de calcio.

[0259] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0260] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 59,11 mg/ml de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0261] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,82 mg/ml de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0262] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 11,23, 22,45, o 56,12 mg/ml de sacarosa;
- (b) aproximadamente 1,74 mg/ml de L-histidina;
- (c) aproximadamente 48,88 mg/ml de L-arginina;
- (d) aproximadamente 0,62 mg/ml de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 1,12 mg/ml de poloxámero 188.

[0263] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,23 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 177,32 mg de L-arginina-HCl;
- (d) aproximadamente 2,47 mg de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,37 mg de poloxámero 188

in 3 mL de agua estéril.

[0264] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,23 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 146,63 mg de L-arginina;
- (d) aproximadamente 2,47 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) aproximadamente 3,37 mg de poloxámero 188

in 3 mL de agua estéril.

[0265] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) aproximadamente 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) aproximadamente 5,23 mg de L-histidina;
- (c) aproximadamente 146,63 mg de L-arginina;

- (d) aproximadamente 1,87 mg de cloruro de calcio; y
 - (e) aproximadamente 3,37 mg de poloxámero 188
- in 3 mL de agua estéril.

[0266] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 177,32 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 2,47 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 3,37 mg de poloxámero 188

in 3 mL de agua estéril.

[0267] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 177,32 mg de L-arginina-HCl;
- (d) 1,87 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,37 mg de poloxámero 188

in 3 mL de agua estéril.

[0268] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 146,63 mg de L-arginina;
- (d) 2,47 mg de dihidrato de cloruro de calcio; y
- (e) 3,37 mg de poloxámero 188

in 3 mL de agua estéril.

[0269] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la solución resultante comprende:

- (a) 33,67, 67,34, o 168,35 mg de sacarosa;
- (b) 5,23 mg de L-histidina;
- (c) 146,63 mg de L-arginina;
- (d) 1,87 mg de cloruro de calcio; y
- (e) 3,37 mg de poloxámero 188

in 3 mL de agua estéril.

- [0270]** En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la composición farmacéutica liofilizada se reconstituye en 7 a 12 segundos.
- [0271]** En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la osmolalidad de la solución resultante es de aproximadamente 525 a aproximadamente 725 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica divulgada en el presente documento tiene una osmolalidad de aproximadamente 500 a aproximadamente 650 mOsm/kg. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la osmolalidad de la solución resultante es de aproximadamente 600 a aproximadamente 650 mOsm/kg.
- [0272]** En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 525 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 550 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 575 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 600 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 625 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 650 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 675 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 700 mOsm/kg. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de aproximadamente 725 mOsm/kg.
- [0273]** En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,5. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 7,0. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de aproximadamente 6,8. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica tiene un pH de 6,8.
- [0274]** En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 6,5. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 6,6. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 6,7. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 6,8. En algunas

realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 6,9. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 7,0. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 7,1. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 7,2. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 7,3. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 7,4. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, el pH de la solución resultante es aproximadamente 7,5.

[0275] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1,2 mg/mL.

[0276] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es aproximadamente 0,8 mg/mL. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es aproximadamente 0,9 mg/mL. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es aproximadamente 1,0 mg/mL. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es aproximadamente 1,1 mg/mL. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es aproximadamente 1,2 mg/mL.

[0277] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es 0,8 mg/mL. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es 0,9 mg/mL. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es 1,0 mg/mL. En

algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es 1,1 mg/mL. En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la concentración de proteína de la solución resultante es 1,2 mg/mL.

[0278] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, la turbidez de la solución resultante es menor que aproximadamente 7 Unidades Nefelométricas de Turbidez.

[0279] En algunas realizaciones, cuando la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril se combinan, se agrega menos de 3% de la proteína quimérica.

[0280] En el presente documento se divulga un método de almacenamiento de una composición farmacéutica, que comprende mantener una composición farmacéutica divulgada en el presente documento a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se almacena a una temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

[0281] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica ha sido almacenada a una temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

[0282] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 2-5 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 2 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 3 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 4 veces. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica líquida que ha sido congelada y después descongelada 5 veces.

[0283] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,5 mg/ml a aproximadamente 2 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 0,5 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1,5 mg/ml de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 2 mg/ml de la proteína quimérica.

V. Kits Farmacéuticos

[0284] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se proporciona con un segundo recipiente que comprende agua estéril. En el presente documento se divulgan kits farmacéuticos que comprenden un primer recipiente que contiene la composición farmacéutica y un segundo recipiente que contiene agua estéril.

[0285] En el presente documento se divulga un kit farmacéutico que comprende:

- (i) un primer recipiente que comprende una composición farmacéutica liofilizada que comprende
 - (a) una proteína quimérica que comprende una primera cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor VIII ("FVIII") o una porción de la misma y una primera región constante de inmunoglobulina ("Ig") o una porción de la misma, y una segunda cadena polipeptídica que comprende una proteína de Factor de von Willebrand ("VWF") y una segunda región constante de Ig o una porción de la misma;
 - (b) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg de sacarosa;

- (c) de aproximadamente 2,5 mg a aproximadamente 7,5 mg de histidina;
- (d) de aproximadamente 140 mg a aproximadamente 200 mg de arginina;
- (e) de aproximadamente 1,5 mg a aproximadamente 5 mg de cloruro de calcio; y
- (f) de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 10 mg de poloxámero 188, y
- (ii) un segundo recipiente que comprende agua estéril.

[0286] En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende de 100 UI a 10.000 UI de la proteína quimérica.

[0287] En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 250 UI, 500 UI, 1000 UI, 2000 UI, 3000 UI, o 4.000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 250 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 500 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 1000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 2000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 3000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende 4.000 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende más de aproximadamente 250 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende más de aproximadamente 300 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende más de aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica. En algunas realizaciones, el primer recipiente comprende al menos aproximadamente 500 UI de la proteína quimérica.

[0288] En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende de aproximadamente 2 mL a aproximadamente 5 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende de 2 mL a 5 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende 3 mL de agua estéril.

[0289] En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,1 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,2 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,4 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,5 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,6 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente

comprende aproximadamente 2,7 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,8 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 2,9 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,1 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,2 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,4 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,5 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,6 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,7 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,8 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 3,9 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,1 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,2 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,3 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,4 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,5 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,6 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,7 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,8 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 4,9 mL de agua estéril. En algunas realizaciones, el segundo recipiente comprende aproximadamente 5 mL de agua estéril.

[0290] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende adicionalmente instrucciones para combinar la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril.

[0291] En algunas realizaciones, el primer recipiente es un vial de vidrio que comprende un tapón de caucho.

[0292] En algunas realizaciones, el segundo recipiente es un cuerpo de jeringa. En algunas realizaciones, el cuerpo de jeringa está asociado con un émbolo. En algunas

realizaciones, el kit farmacéutico comprende adicionalmente un adaptador para conectar el vial de vidrio al cuerpo de jeringa. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico comprende adicionalmente tubos de infusión asociados con una aguja para su conexión al cuerpo de jeringa, adecuados para infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el segundo recipiente es una jeringa precargada.

[0293] En el presente documento se divulga un método de almacenamiento de un kit farmacéutico, que comprende mantener un kit farmacéutico divulgado en el presente documento a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico se almacena a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico se almacena a una temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

[0294] En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -20°C a aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -20°C, aproximadamente -25°C, aproximadamente -30°C, aproximadamente -35°C, o aproximadamente -40°C durante al menos aproximadamente 3, 6, 9, 12, 18, 21, 24, 27, 30, 33, o 36 meses. En algunas realizaciones, el kit farmacéutico ha sido almacenado a una temperatura de aproximadamente -30°C durante al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, o 12 meses.

VI. Métodos y Usos de la Composición Farmacéutica

[0295] Asimismo, en el presente documento se divulga un uso de la composición farmacéutica o un método para tratar la hemofilia A en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de la composición farmacéutica de la divulgación. En algunas realizaciones, el tratamiento de la hemofilia A comprende prevenir un episodio

de sangrado en un sujeto humano que lo necesite. En algunas realizaciones, el tratamiento de la hemofilia A comprende tratar un episodio de sangrado en un sujeto humano que lo necesite. En algunas realizaciones, el tratamiento de la hemofilia A comprende controlar la incidencia o frecuencia de un episodio de sangrado en un sujeto humano que lo necesite. En algunas realizaciones, el tratamiento de la hemofilia A comprende disminuir la incidencia o frecuencia de un episodio de sangrado en un sujeto humano que lo necesite.

[0296] En algunas realizaciones, la composición se utiliza para tratar una enfermedad o afección de sangrado en un sujeto que lo necesite. La enfermedad o afección de sangrado se seleccionan del grupo que consiste en un trastorno de coagulación de la sangre, hemartrosis, sangrado muscular, sangrado oral, hemorragia, hemorragia en músculos, hemorragia oral, traumatismo, traumatismo craneoencefálico, sangrado gastrointestinal, hemorragia intracraneal, hemorragia intraabdominal, hemorragia intratorácica, fractura ósea, sangrado del sistema nervioso central, sangrado en el espacio retrofaríngeo, sangrado en el espacio retroperitoneal, sangrado en la vaina del iliopsoas y cualquiera de sus combinaciones. En otras realizaciones más, el sujeto está programado para someterse a una cirugía. En algunas realizaciones, el tratamiento es profiláctico o a demanda.

[0297] En algunas realizaciones, el uso del método comprende combinar la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril de un kit de la divulgación, y administrar al sujeto una cantidad eficaz de la combinación resultante. En algunas realizaciones, el sujeto combina la composición farmacéutica liofilizada y el agua estéril del kit. En algunas realizaciones, la combinación es autoadministrada por el sujeto.

[0298] En algunas realizaciones, las dosis múltiples comprenden al menos dos dosis, al menos tres dosis, al menos cuatro dosis, al menos cinco dosis, al menos seis dosis, al menos siete dosis, al menos ocho dosis, al menos nueve dosis, al menos diez dosis, al menos once dosis, al menos doce dosis, al menos trece dosis, al menos catorce dosis, al menos quince dosis, al menos dieciséis dosis, al menos diecisiete dosis, al menos dieciocho dosis, al menos diecinueve dosis, al menos veinte dosis, o más. En algunas realizaciones, las dosis múltiples se administran durante al menos aproximadamente 1 mes, al menos aproximadamente 2 meses, al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 4 meses, al menos aproximadamente 5 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 12 meses, al menos aproximadamente 18 meses, al menos aproximadamente 2 años, al menos aproximadamente 3 años, al menos aproximadamente 4 años, al menos

aproximadamente 5 años, al menos aproximadamente 10 años, al menos aproximadamente 15 años, al menos aproximadamente 20 años, o durante al menos aproximadamente 25 años.

[0299] Una proteína quimérica descrita en el presente documento se puede administrar mediante cualquier medio conocido en la técnica. En algunas realizaciones, la proteína química se administra mediante una vía seleccionada del grupo que consiste en inyección intravenosa, infusión intravenosa, administración subcutánea, administración intramuscular, administración oral, administración nasal y administración pulmonar. En algunas realizaciones, la proteína química se administra por vía intravenosa. En algunas realizaciones, la proteína química se administra por vía subcutánea.

[0300] Habiendo descrito ahora la presente divulgación en detalle, la misma se entenderá más claramente con referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen aquí solo con fines ilustrativos y no se pretenden que sean limitantes de la divulgación. Todas las patentes, publicaciones y artículos a los que se hace referencia en el presente documento se incorporan expresa y específicamente en el presente documento como referencia.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Evaluación de la agregación de composiciones de efanesoctocog alfa que comprenden diferentes tensioactivos

[0301] Los experimentos descritos en este ejemplo evalúan la estabilidad de efanesoctocog alfa en composiciones farmacéuticas que comprenden un tensioactivo diferente (poloxámero 188) formulado con diferentes concentraciones de sacarosa. Además de sacarosa, cada composición también contenía L-histidina 10 mM, L-arginina-HCl 250 mM, CaCl₂ 5 mM, y poloxámero 188 al 0,1% (p/v) (poloxámero 188), a un pH de 6,8. Los atributos de estabilidad de las composiciones de poloxámero 188 también se compararon con los atributos de estabilidad de composiciones de PS80 idénticas para evaluar el efecto del tensioactivo seleccionado.

[0302] Para analizar adicionalmente el impacto en la concentración de sacarosa sobre composiciones de efanesoctocog alfa que contenían poloxámero 188, composiciones farmacéuticas de efanesoctocog alfa con sacarosa al 0, 1, 2, y 5% p/v se sometieron a diferentes condiciones de estabilidad y la estabilidad se evaluó utilizando varios métodos. Las composiciones se probaron en las siguientes fases de producto: sustancia farmacológica (DS, que no había sido liofilizada ni ajustada para ninguna fuerza particular de UI), estabilidad en almacenamiento en estado congelado, estabilidad en congelación/descongelación (FT) de DS, estabilidad post-descongelación de DS líquida,

DS diluida y estabilidad del producto farmacológico (DP), estabilidad de la liofilización de DP, y DP post-reconstitución.

[0303] La agregación de composiciones de efanesoctocog alfa se midió mediante ensayo SEC (%HMWS). El ensayo SEC utiliza un aparato de HPLC equipado con una bomba, un muestreador automático de temperatura controlada, un calentador de columna y un detector de fluorescencia. Las soluciones de muestra se analizan utilizando los siguientes parámetros de instrumentación y método:

- Fase Móvil: Solución Salina Tamponada con Fosfato de Dulbecco (D-PBS) que contiene Calcio y Magnesio añadiendo Cloruro de Sodio 0,36 M (Cloruro de Calcio 0,9 mM, Cloruro de Magnesio 0,5 mM, Cloruro de Potasio 2,7 mM, Fosfato de Potasio Monobásico 1,5 mM, Cloruro de Sodio 496 mM, Fosfato de Sodio Dibásico 8,1 mM, pH 7,0 ± 0,1)
- Calentador de columna: 26°C
- Tiempo de ejecución: 40 minutos
- Detector FL: Ex/Em = 280/350 nm, ganancia PMT = 5
- Carga de masa de inyección: 2 µg
- Temperatura del inyector automático: 5°C
- Caudal: 0,5 ml/min, isocrático

[0304] Se probó la agregación de composiciones de sustancia farmacológica (DS) de efanesoctocog alfa (1 mg/mL) que contienen PS80 al 0,5% (p/v) o poloxámero 188 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 1 % o 5% (p/v) en condiciones de temperatura ambiente (RT)/luz ambiente (RL) o a 2-8°C. Los resultados de agregación para condiciones RT/RL a lo largo del tiempo (horas) se muestran en la FIG. 2. En condiciones de RT/RL, la reducción de sacarosa de 5% a 1% aumenta la agregación 2 veces para las composiciones que contienen cualquiera de los tensioactivos. En condiciones de RT/RL, los aumentos en la tasa de agregación fueron aproximadamente los mismos para ambas composiciones de poloxámero 188 y PS80.

[0305] Los resultados de agregación a 2-8°C a lo largo del tiempo (horas) se muestran en la FIG. 3. En condiciones de 2-8°C, la reducción de sacarosa de 5% a 1% incrementó la agregación 2 veces en las composiciones de PS80, lo que fue similar a los resultados en condiciones de RT/RL. Sin embargo, a 2-8°C, la reducción de sacarosa de 5% a 1% aumentó la agregación 10 veces para las composiciones de PS80. A 2-8°C, los aumentos en la tasa de agregación fueron menores en las composiciones de poloxámero 188 que en las composiciones de PS80.

[0306] Se evaluó la agregación de composiciones líquidas de sustancia farmacológica (DS) de efanesoctocog alfa a 4000 UI y que contenían PS80 al 0,5% (p/v) o poloxámero 188 al

0,1% (p/v) como tensioactivo en un ensayo de tiempo de retención acumulativo. Las composiciones líquidas de efanosotocog alfa se mantuvieron a temperatura ambiente y se probaron después de 0, 5, 7, 25, 43 y 55 horas. También se probaron muestras después de la liofilización.

[0307] Los resultados del ensayo de tiempo de retención acumulativo se muestran en la FIG. 4. Las composiciones líquidas de sustancia farmacológica (DS) de efanosotocog alfa seguidas de diluciones posteriores a 4000 UI que comprendían sacarosa al 1% y PS80 al 0,05% mostraron el mayor aumento en la agregación (véase la Figura 4, gráfico de cuadrados). Los resultados de este ensayo de tiempo de retención acumulativo también muestran que las composiciones que comprenden poloxámero 188 pueden ser moderadamente más estables que las composiciones de PS80 en estado líquido a RT.

[0308] Se evaluó la estabilidad de almacenamiento en estado congelado de composiciones de efanosotocog alfa DS a 1 mg/ml para composiciones que comprendían PS80 al 0,5 % (p/v) o poloxámero 188 al 0,1 % (p/v) como tensioactivo. Las composiciones que contenían sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se mantuvieron a temperaturas de congelación (-80°C o -30°C). Los puntos de tiempo medidos fueron precongelación, inicio del experimento (T0), un mes (T1M), 3 meses (T3M), y 6 meses (T6M).

[0309] Los resultados del ensayo de estabilidad de almacenamiento en estado congelado para composiciones que comprendían PS80 0,5 % (p/v) se muestran en la FIG. 5. Los resultados del ensayo de estabilidad de almacenamiento en estado congelado para composiciones que comprendían poloxámero al 0,1% (p/v) 188 se muestran en la FIG. 6. No se observó ninguna tendencia en la agregación para ninguna de las composiciones probadas a -80°C. Sin embargo, a -30°C, las composiciones que comprendían tensioactivo PS80 mostraron un aumento en la agregación (véase la FIG. 5). Este efecto fue más evidente a concentraciones de sacarosa más bajas (véase, p. ej., la FIG. 5, resultado de sacarosa al 0%). Por el contrario, las composiciones que comprendían poloxámero 188 no mostraron un aumento en la agregación a -30°C (véase FIG. 6). Las composiciones que comprendían poloxámero 188 mostraron niveles de agregación comparables tanto a -80°C como a -30°C. Por lo tanto, el uso de poloxámero 188 como tensioactivo puede proporcionar una estabilidad mejorada de almacenamiento en estado congelado para composiciones de efanosotocog alfa, particularmente si las composiciones se almacenan a -30°C.

[0310] La estabilidad de almacenamiento en estado congelado de composiciones de DS de efanosotocog alfa (1 mg/ml) que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) se analizó adicionalmente mediante pruebas de partículas utilizando un contador de partículas

líquidas de alta precisión (HIAC). Las composiciones de DS que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se mantuvieron a -80°C y se evaluaron en los siguientes puntos de tiempo: precongelación, inicio del experimento (T0), un mes (T1M), 3 meses (T3M), y 6 meses (T6M). Los resultados para partículas $\geq 10 \mu\text{m}$ se muestran en la FIG. 7A. Los resultados para partículas $\geq 25 \mu\text{m}$ se muestran en la FIG. 7B. Las partículas $\geq 10 \mu\text{m}$ son menos de 6000 partículas y las partículas $\geq 25 \mu\text{m}$ son menos de 600 partículas, y dentro del límite de <USP 787>. No se observó ninguna tendencia significativa en las partículas durante el almacenamiento.

[0311] La agregación de composiciones de producto farmacológico liofilizado de efanesoctocog alfa (Lyo DP) a 250 UI o 4000 UI y que contenía poloxámero 188 al 0,1% (p/v) se probó a 5°C, 30°C, y 40°C. Se probaron las composiciones de Lyo DP que contenían sacarosa al 1% y 5% p/v. Las muestras se probaron a T0, 1 mes, 2 meses, 3 meses y 6 meses.

[0312] Los resultados de las composiciones de Lyo DP con 250 UI se muestran en la FIG. 8A (5°C), FIG. 8B (30°C), y FIG. 8C (40°C). Para las composiciones de 250 UI, generalmente se demostró una mayor agregación en las composiciones de poloxámero 188 que en las composiciones de PS80 (datos no mostrados). Las composiciones de 250 UI que comprendían poloxámero 188 al 0.1% (p/v) y sacarosa al 1% demostraron aumentos significativos en la agregación a todas las temperaturas.

[0313] Los resultados de las composiciones de Lyo DP a 4000 UI se muestran en la FIG. 9A (5°C), FIG. 9B (30°C), y FIG. 9C (40°C). Para ninguna de las composiciones de 4000 UI que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v), se observaron tendencias de agregación a ninguna temperatura para ambas concentraciones de sacarosa. Este resultado es compatible con los resultados de las composiciones de Lyo DP a 4000 UI que comprendían PS80 al 0,5 % (p/v), que tampoco demostraron tendencias de agregación notables basadas en la concentración de sacarosa o la temperatura (datos no mostrados).

[0314] También se analizó la agregación de composiciones de efanesoctocog alfa después del estrés por congelación/descongelación (F/T) para cada tensioactivo. Las composiciones de DS de efanesoctocog alfa a 1 mg/mL y que comprendían PS80 al 0,5 % (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se sometieron a estrés por F/T a -80°C o -30°C durante 5 ciclos (5X) (no menos de 24hr, descongelación a temperatura ambiente). Las muestras fueron probadas antes de la congelación (Pre Congelación) y después de 5 ciclos de F/T.

[0315] Los resultados de las composiciones que comprendían PS80 al 0,5 % (p/v) se muestran en la FIG. 10. Los resultados de las composiciones que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) se muestran en la FIG. 11. Las composiciones de DS que comprendían PS80

al 0,5 % (p/v) mostraron un aumento moderado en la agregación después de 5 ciclos de F/T a -80 °C (véase la FIG. 10). Sin embargo, las composiciones de DS que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) no mostraron cambios en la agregación después de 5 ciclos de F/T a -80°C (véase FIG. 11). Las composiciones que comprendían cualquiera de los tensioactivos mostraron aumentos en la agregación después de 5 ciclos de F/T a -30°C. Sin embargo, el aumento en la agregación fue significativamente mayor en las composiciones de DS que comprendían PS80 al 0,5 % (p/v) que en las composiciones que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) (compárense la FIG. 10 y la FIG. 11). Por lo tanto, parece que el poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo en composiciones de efanesoctocog alfa puede proporcionar una estabilidad F/T ligeramente mejorada a -80°C y una estabilidad F/T significativamente mejorada a -30°C con respecto a PS80 al 0,5% (p/v) como tensioactivo.

[0316] En la Tabla 1 se proporciona un resumen de los resultados de la prueba de agregación para composiciones de efanesoctocog alfa que comprendían poloxámero 188 al 0,1% (p/v).

Tabla 1: Resumen del análisis de agregación (%HMWS) para formulaciones de poloxámero 188 al 0,1% (p/v).

Conc. de Sacarosa, %	Almacenamiento en estado congelado, % (-80°C) (1 mg/mL)		% Tasa DS Líquida/h (1 mg/mL)	% Tasa BDP Líquido/h (4000 IU)		% Cum./h (4000 IU)	Lyo DP (Δ6M) (4000 IU)			Lyo DP (Δ6M) (250 IU)		
	Δ6M	Δ5XFT		5°C	RT		5°C	30°C	40°C	5°C	30°C	40°C
5	0,5	0.2	0,00	0,00	0,05	0,02	0.2	0,0	0,0	1,2	0,8	-0.3
2	0,7	1.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	0.3	1.3	0,08	0,03	0,04	0,03	0.2	0.3	- 0,1	- 0.2	- 0,1	3,34
0	0,7	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND = No Determinado

[0317] En general, estos estudios de agregación sugieren que las composiciones de efanesoctocog alfa pueden tener una estabilidad mejorada cuando se formulan con poloxámero 188 al 0,1% (p/v) en lugar de PS80 al 0,5% (p/v). Las composiciones de poloxámero 188 mostraron una mejora significativa con respecto a las composiciones de PS80 en los ensayos de Estabilidad de Almacenamiento en F/T y en estado congelado a -30°C a todas las concentraciones de sacarosa. En consecuencia, el poloxámero 188 puede ser preferible al PS80 para cualquier composición de efanesoctocog alfa que deba

almacenarse a -30°C. Las composiciones líquidas de DS y BDP de efanesoctocog alfa también mostraron una estabilidad mejorada con las composiciones de poloxámero 188 sobre las composiciones de PS80. Para las composiciones de DP liofilizado de efanesoctocog alfa, las composiciones de poloxámero 188 a 4000 UI mostraron una estabilidad favorable durante 6 meses a 40°C. Sin embargo, el producto farmacológico liofilizado de PS80 mostró una estabilidad significativamente mayor a 250 UI en comparación con poloxámero 188.

Ejemplo 2: Evaluación de atributos de estabilidad adicionales para composiciones de efanesoctocog alfa que comprenden diferentes tensioactivos

[0318] Además de la agregación, se evaluaron otras medidas de estabilidad de composiciones de efanesoctocog alfa que comprendían diferentes tensioactivos.

[0319] La concentración de tensioactivo en composiciones de efanesoctocog alfa después del estrés por F/T se analizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Las composiciones de DS de efanesoctocog alfa a 1 mg/mL y que comprendían PS80 al 0,5% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se sometieron a estrés por F/T durante 5 ciclos de F/T a -80°C o -30°C (no menos de 24 horas, descongelación a temperatura ambiente). Las muestras se probaron antes de la congelación (Pre Congelación) y después de 1, 3, o 5 ciclos de F/T. Los resultados de las composiciones de DS que contenían PS80 al 0,5% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se muestran en la FIG. 12A. Los resultados de las composiciones de DS que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se muestran en la FIG. 12B. No se observó ningún cambio en la concentración de tensioactivo durante todos los ciclos de F/T, para cualquier concentración de tensioactivo o de sacarosa.

[0320] También se analizó el cambio en el pH de las composiciones de efanesoctocog alfa después del estrés por F/T. Las composiciones de DS de efanesoctocog alfa a 1 mg/mL y que comprendían PS80 al 0,5% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v) se sometieron a estrés por F/T durante 5 ciclos de F/T a -80°C o -30°C (no menos de 24 horas, descongelación a temperatura ambiente). Las muestras se probaron antes de la congelación (Pre Congelación) y después de 1, 3, o 5 ciclos de F/T. Los resultados del análisis de pH se muestran en la FIG. 13. No se observaron tendencias o cambios de pH significativos para ninguna composición probada.

[0321] Se probó la turbidez de composiciones que comprendían DS de efanesoctocog alfa a 1 mg/mL y poloxámero 188. Se probaron composiciones que comprendían sacarosa al 1% o 5%, y los resultados se compararon con los resultados de turbidez de DS de efanesoctocog alfa a 1 mg/ml de composiciones que comprendían PS80. No se

observaron tendencias o cambios en la turbidez para ninguna de las composiciones de poloxámero 188 probadas (datos no mostrados).

[0322] Se midió la temperatura de transición vítrea (Tg) para composiciones del producto farmacológico liofilizado de efanesoctocog alfa (Lyo DP) a 250 UI o 4000 UI y que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v). La Tg se midió mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) modulada, según las siguientes etapas: (i) equilibrado a 15°C, (ii) modulación a 1°C cada 60 segundos, (iii) isoterminia durante 5 minutos; y (iv) aumento de 3°C/min hasta 130°C. También se midió el contenido de humedad residual (%) para todas las muestras. Los resultados de Tg y contenido de humedad residual para Lyo DP 250 UI a T0 se muestran en la FIG. 14. Los resultados del contenido de humedad residual de Tg y para DP Lyo de 4000 UI en T0 se muestran en la FIG. 15.

[0323] Se determinó la Tg para composiciones del producto farmacológico liofilizado (Lyo DP) de efanesoctocog alfa a 4000 UI o 250 UI y que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 5% o 1% (p/v). Las muestras se mantuvieron a 5°C, 30°C, o 40°C y se probaron a T0, 1 mes, 2 meses, 3 meses, y 6 meses. Los resultados se muestran en la FIG. 16A (5°C), FIG. 16B (30°C), y FIG. 16C (40°C).

[0324] La temperatura de transición vítrea (Tg) también se determinó para composiciones de producto farmacológico líquido a granel (BDP) de efanesoctocog alfa a 250 UI o 4000 UI y que contenían PS80 al 0,5 % (p/v) o poloxámero 188 al 0,1 % (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 0, 1, 2, o 5% (p/v). Los resultados de Tg para ambos tensioactivos a todas las fuerzas y concentraciones de sacarosa se muestran en la FIG. 17.

[0325] Para ambas composiciones de 250 UI o 4000 UI que comprendían cualquiera de los tensioactivos, generalmente se observó que la Tg se correlaciona con la concentración de sacarosa, mostrando la mayor concentración de sacarosa una Tg más baja. No se observaron diferencias significativas en la Tg según el tipo de tensioactivo ni para la concentración de 250 UI ni para la de 4000 UI.

[0326] Se determinó el contenido de humedad residual para composiciones del producto farmacológico liofilizado (Lyo DP) de efanesoctocog alfa a 250 UI o 4000 UI y que contenían poloxámero 188 al 0,1% (p/v) como tensioactivo y sacarosa al 1% o 5% (p/v). Las muestras se mantuvieron a 5°C, 30°C, o 40°C y se probaron a T0, 1 mes, 2 meses, 3 meses, y 6 meses. Los resultados se muestran en la FIG. 18A (5°C), FIG. 18B (30°C), y FIG. 18C (40°C). No se observaron cambios significativos en el contenido de humedad residual para ninguna de las composiciones de poloxámero 188 a ninguna temperatura.

Todos los valores de humedad residual cayeron por debajo de la especificación de 3% después de 6 meses.

[0327] Tras la inspección visual, la concentración de sacarosa no tuvo efecto sobre la apariencia de la torta de la formulación de poloxámero 188 durante 6 meses a 2-8°C, 30°C y 40°C (datos no mostrados).

[0328] Los resultados de este estudio muestran que, excepto por la agregación, las composiciones de efanesoctocog alfa formuladas con PS80 al 0,5% (p/v) o poloxámero 188 al 0,1% (p/v) tienen atributos de estabilidad similares. La evaluación de otros atributos de estabilidad tales como la temperatura de transición vítrea, la turbidez y la humedad residual no mostraron diferencias significativas según la elección del tensioactivo.

Ejemplo 3: Efecto de la concentración de arginina sobre la estabilidad de composiciones de efanesoctocog alfa

[0329] Efanesoctocog alfa ha demostrado una tendencia a sufrir una autoasociación reversible después del estrés por congelación/descongelación (F/T). El uso de arginina en composiciones de efanesoctocog alfa puede proporcionar un efecto protector contra esta autoasociación molecular inducida por F/T. Para determinar la concentración óptima de arginina para las composiciones de efanesoctocog alfa, se prepararon varias composiciones que comprendían diversas concentraciones de arginina y se probaron los niveles de agregación mediante SEC. Cada composición probada comprendía efanesoctocog alfa concentrado (>2 mg/mL), L-histidina 10 mM, CaCl₂ 5 mM, sacarosa al 5% (p/v), poloxámero 188 (P188) al 0,1% (p/v), y L-arginina-HCl a concentración de 125, 150, 175, 200, o 250 mM.

[0330] Para preparar las composiciones para la prueba, se liofilizaron composiciones de efanesoctocog alfa utilizando el liofilizador de escala de desarrollo LyoStar2 (Protein Pharmaceutical Development Laboratories, Cambridge, MA). Para probar cada muestra, las composiciones se descongelaron y se inyectaron inmediatamente en el HPLC para el análisis SEC. Las muestras se analizaron inmediatamente después de la descongelación, y después de 40, 80, 120 y 160 minutos después de la descongelación.

[0331] Los resultados de las evaluaciones de agregación (%HMWS) para todas las muestras se muestran en la FIG. 19. Las composiciones de efanesoctocog alfa que comprendían niveles de arginina HCl por debajo de 250 mM demostraron aumentos de los niveles de agregación inmediatamente después de la descongelación, seguido de una disminución en los niveles de agregación a lo largo del tiempo (FIG. 18). Esta tendencia de agregación sugiere la formación y disociación de HMWS que se formaron debido a la autoasociación molecular inducida por F/T de efanesoctocog alfa. Sin embargo, las composiciones de

efanesoctocog alfa que comprendían concentraciones de arginina HCl 250 mM demuestran niveles de agregación relativamente bajos inmediatamente después de la descongelación, y estos niveles permanecen constantes a lo largo del tiempo (véase la FIG. 18, columnas del extremo derecho).

[0332] Los resultados de este estudio indican que las composiciones de efanesoctocog alfa con concentraciones de arginina HCl 250 mM pueden protegerse mejor de la autoasociación molecular inducida por F/T. Por lo tanto, 250 mM parece ser la concentración preferida de arginina HCl para su uso en la formulación de composiciones de efanesoctocog alfa.

Ejemplo 4: Evaluación de la farmacocinética de composiciones de efanesoctocog alfa que comprenden diferentes tensioactivos en primates no humanos

[0333] El objetivo de este estudio fue comparar el perfil farmacocinético (PK) de composiciones de efanesoctocog alfa que comprendían polisorbato 80 (PS80) o poloxámero 188 (P188) en monos cinomolgos.

[0334] Se probaron los siguientes dos vehículos:

[0335] Vehículo 1: L-Histidina 10 mM, Arginina-HCl 250 mM, Cloruro de Calcio 5 mM, Sacarosa al 5% p/v, Polisorbato 80 al 0,05 %.

[0336] Vehículo 2: L-Histidina 10 mM, Arginina-HCl 250 mM, Cloruro de Calcio 5 mM, Sacarosa al 5% p/v, Poloxámero 188 al 0,1%.

[0337] Al primer grupo de sujetos se le administró una única inyección en bolo intravenoso (IV) de 75 UI/kg/dosis de efanesoctocog alfa en el Vehículo 1. Al segundo grupo de sujetos se le administró una única inyección en bolo intravenoso (IV) de 75 UI/kg/dosis de efanesoctocog alfa en el Vehículo 2. Ambas composiciones incluían efanesoctocog alfa a una concentración de 37,5 UI/mL. Se administró un volumen de 2 ml a cada sujeto. Se recolectaron muestras de sangre para análisis PK en la Predosis, 0,25, 1, 3, 8, 24, 48, 96, 168, 240 y 336 horas.

[0338] Para las formulaciones de dosis, las concentraciones de las muestras de formulación analizadas fueron 88,6% y 92,0% de su respectiva concentración teórica, para los grupos 1 y 2, respectivamente. La actividad cromogénica de las muestras de formulación analizadas (después de repetidos análisis) estuvieron en un rango inferior y fueron 70,5% y 64,9% de su respectiva concentración teórica, para los grupos 1 y 2, respectivamente.

[0339] La concentración de proteína efanesoctocog alfa se determinó mediante ELISA. La concentración de proteína efanesoctocog alfa a lo largo del tiempo se muestra en la FIG. 20. La actividad de proteína efanesoctocog alfa se determinó mediante el ensayo cromogénico. La actividad de efanesoctocog alfa a lo largo del tiempo se muestra en la

FIG. 21. Ambos perfiles de concentración y actividad de proteína fueron comparables para composiciones que comprendían PS80 o P188.

[0340] Los parámetros PK para la concentración y actividad de proteína efanesoctocog alfa se determinaron y se presentan en la Tabla 2. Los valores se presentan como media ($\pm$ DT) y se generaron a partir de 4 animales para cada grupo. Como se puede observar en la Tabla 2, los parámetros PK fueron comparables para las composiciones que comprendían PS80 o P188.

[0341] Los parámetros de concentración y actividad de proteína efanesoctocog alfa se compararon directamente entre sujetos que recibieron composiciones con P188 o PS80. Para la concentración de proteína, se determinó que la razón C_{max} y la razón $AUC_{(0-t)}$ eran 91,8% y 89,8%, respectivamente. Para la actividad cromogénica, se determinó que la razón C_{max} y la razón $AUC_{(0-t)}$ eran 106% y 105%, respectivamente.

[0342] Se observó la T_{max} en el primer momento después de la dosificación (es decir, 0,25 horas después de la dosis) para efanesoctocog alfa y la actividad de efanesoctocog alfa. La C_{max} media fue de 841 y 772 ng/mL para la concentración de efanesoctocog alfa y 2110 y 2230 mUI/mL para la actividad de efanesoctocog alfa, con el Vehículo 1 y 2, respectivamente. El $AUC_{(0-t)}$ media fue de 25400 y 22800 hr*ng/mL para la concentración de efanesoctocog alfa y 59600 y 62800 hr*mUI/mL para la actividad de efanesoctocog alfa, con el Vehículo 1 y 2, respectivamente. El $t_{1/2}$ medio fue de 36,1 y 35,8 horas para la concentración de efanesoctocog alfa y 34,4 y 35,3 horas para la actividad de efanesoctocog alfa, con el vehículo 1 y 2, respectivamente. El CL_{plasma} medio fue de 1,33 y 1,44 mL/hr/kg para la concentración de efanesoctocog alfa y 1,29 y 1,20 mL/hr/kg para la actividad de efanesoctocog alfa, con el vehículo 1 y 2, respectivamente. El Vd medio fue de 69,0 y 74,4 mL/kg para la concentración de efanesoctocog alfa y 63,8 y 61,4 mL/kg para la actividad de BIVV001, con el vehículo 1 y 2, respectivamente.

[0343] En conclusión, los parámetros PK de las composiciones de efanesoctocog alfa fueron relativamente similares independientemente de la selección del vehículo entre PS80 y P188. No se observaron signos clínicos relacionados con el elemento de prueba ni se observó irritación en el lugar de la inyección después de la administración a los sujetos. Todos los parámetros toxicocinéticos para cada grupo se generaron a partir de 4 animales. Los valores se redondean a 3 cifras significativas (excepto T_{max}).

Tabla 2. Parámetros PK para composiciones de efanesoctocog alfa en monos cinomolgos.

Analito	Vehículo	C _{max} (ng/mL)	T _{max} Mediana (rango) (hr)	AUC _(0-t) (hr*ng/mL)	t _{1/2} (hr)	CL _{plasma} (mL/hr/kg)	Vd (mL/kg)
Concentración de Efa		841 ± 119	0,25 (0,25 – 0,25)	25400 ± 4940	36,1 ± 3,53	1,33 ± 0,300	69,0 ± 14,2
		772 ± 101	0,25 (0,25 – 0,25)	22800 ± 2200	35,8 ± 5,50	1,44 ± 0,133	74,4 ± 15,4
Analito	Vehículo	C _{max} (mUI/mL)	T _{max} Mediana (rango) (hr)	AUC _(0-t) (hr*mUI/mL)	t _{1/2} (hr)	CL _{plasma} (mL/hr/kg)	Vd (mL/kg)
Actividad de Efa	PS80	2110 ± 382	0,25 (0,25 – 0,25)	59600 ± 14300	34,4 ± 3,05	1,29 ± 0,276	63,8 ± 11,7
	P188	2230 ± 342	0,25 (0,25 – 0,25)	62800 ± 8640	35,3 ± 5,96	1,20 ± 0,153	61,4 ± 16,2

[0344] La descripción anterior de las realizaciones específicas revelará tan completamente la naturaleza general de la divulgación que otros pueden, aplicando el conocimiento dentro de la capacidad de la técnica, modificar y/o adaptar fácilmente para diversas aplicaciones tales realizaciones específicas, sin experimentación indebida, sin apartarse del concepto general de la presente divulgación. Por lo tanto, se pretende que tales adaptaciones y modificaciones estén dentro del significado y rango de equivalentes de las realizaciones divulgadas, según las enseñanzas y directrices presentadas en el presente documento. Se debe entender que la fraseología o terminología del presente documento tienen fines de descripción y no de limitación, de modo que la terminología o fraseología de la presente memoria descriptiva deben ser interpretadas por el experto a la luz de las enseñanzas y directrices.

[0345] Otras realizaciones de la divulgación serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la memoria descriptiva y práctica de la divulgación divulgadas en el presente documento. Se pretende que la memoria descriptiva y los ejemplos sean considerados únicamente a modo de ejemplo, siendo el verdadero alcance y espíritu de la divulgación el indicado por las siguientes reivindicaciones.

[0346] Todas las patentes y publicaciones citadas en el presente documento se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

SECUENCIAS

Tabla 3: Secuencias de proteínas quiméricas ilustrativas

A-FVIII(ELNN)-Fc: SEQ ID NO: 1						
ATRRYYLGAV	ELSWDYMQSD	LGELPVDARF	PPRVPKSFFP	NTSVVYKCTL	FVEFTDHLFN	60
IAKPRPPWMG	LLGPTIQAEV	YDTVVITLKN	MASHPVSLHA	VGVSYWKA	GAEYDDQTSQ	120
REKEDDKVFP	GGSHYVWQV	LKENGPMASD	PLCLTYSYLS	HVDLVKDLNS	GLIGALLVCR	180
EGSLAKEKTQ	TLHKFILLFA	VFDEGKSWHS	ETKNSLMQDR	DAASARAWPK	MHTVNGYVNR	240
SLPLGLIGCHR	KSVYWHVIGM	GTTPEVHSIF	LEGHTFLVRN	HRQASLEISP	ITFLTAQTLL	300
MDLGQFLLFC	HISSHQHDM	EAYVKVDSCP	EEPQLRMKNN	EEAEDYDDDL	TDSEMDVVR	360
DDDNSPSFIQ	IRSVAKKHPK	TWVHYIAAEE	EDWDYAPLVL	APDDRSYKQ	YLNNGPQRIG	420
RKYKVRFMA	YDDETFKTRE	AIQHESGILG	PLLYGEVGD	LLIIFKNQAS	RPYNIYPHGI	480
TDVRPLYSRR	LPGVKHLKD	FPILPGEIFK	YKWTVTVEDG	PTKSDPRCLT	RYYSFVNME	540
RDLASGLIGP	LLICYKESVD	QRGNQIMSDK	RNVILFSVFD	ENRSWYLTEN	IQRFLPNPAG	600
VQLEDPEFQA	SNIMHSINGY	VFDSLQLSVC	LHEVAYWYIL	SIGAQTDFLS	VFFSGYTFKH	660
KMVYEDTLTL	FFFSGETVFM	SMENPGLWIL	GCHNSDFRNR	GMTALLKVSS	CDKNTGDYDE	720
DSYEDISAYL	LSKNAIEPR	SFSQNGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG	TSESATPESG	780
PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGTSTE	PSEGSAPGSP	AGSPTSTEEG	TSESATPESG	840
PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGSPAG	SPTSTEEGSP	AGSPTSTEEG	TSTEPSEGS	900
PGTSESATPE	SGPGTSESAT	PESGPGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG	SEPATSGSET	960
PGSPAGSPTS	TEEGTSTEPS	EGSAPGTSTE	PSEGSAPGSE	PATSGSETPG	TSESATPESG	1020
PGTSTEPSEG	SAPASSEITR	TTLQSDQEEI	DYDDTISVEM	KKEDFDIYDE	DENQSPRSFQ	1080
KKTRHYFIAA	VERLWDYGMS	SSPHVLRNRA	QSGSVQFKK	VVFQFTDGS	FTQPLYRGEL	1140
NEHLGLLGPY	IRAEVEDNIM	VTFRNQASRP	YSFYSSLISY	EEDQRQGAEP	RKNFVKPNET	1200
KTYFWKVQHH	MAPTKEFD	KAWAYFSDVD	LEKDVHSGLI	GPLLVCHTNT	LNPAHGRQVT	1260
VQEFALFFTI	FDETKSWYFT	ENMERNCRAP	CNIQMEDPTF	KENYRFHAIN	GYIMDTLPGL	1320
VMAQDQRIRW	YLLSMGSNEN	IHSIHFSGHV	FTVRKKEEYK	MALYNLYPGV	FETVEMLP	1380
AGIWRVECLI	GEHLHAGMST	LFLVYSNKCQ	TPLGMASGHI	RDFQITASGQ	YGQWAPKLAR	1440
LHYSGSINAW	STKEPFSWIK	VLLAPMIH	GIKTQGARQK	FSSLYISQFI	IMYSLDGKKW	1500
QTYRGNSTGT	LMVFFGNVDS	SGIKHNIFNP	PIIARYIRLH	PTHYSIRSTL	RMELMGCDLN	1560
SCSMPLGMES	KAISDAQITA	SSYFTNMFAT	WSPSKARLHL	QGRSNAWRPQ	VNNPKEWLQV	1620
DFQKTMKVTV	VTTQGVKSL	TSMYVKEFLI	SSSQDGHQWT	LFFQNGKVKV	FQGNQDSFTP	1680
VVNSLDPELL	TRYLRIHPQS	WVHQIALRME	VLGCEAQDLY	DKTHTCPPCP	APELLGGPSV	1740
FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY	1800
RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSRDELTK	1860
NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	1920
NVFCSCVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSPG				
VWF(D'D3)-ELNN-Conector a2-Fc: SEQ ID NO: 2						
SLSCRPPMVK	LVC PADNLRA	EGLECTKTCQ	NYDLECMSMG	CVSGCLCPPG	MVRHENRCVA	60
LERPCFCHQ	KEYAPGETVK	IGCNTCVCRD	RKWNCTDHVC	DATCSTIGMA	HYLTFDGLKY	120
LFPGEQYVL	VQDYCGSNPG	TFRILVGNKG	CSHPSVKCKK	RVITLVEGGE	IELFDGEVNV	180
KRPMKDETHF	EVVESGRYII	LLLGKALS	WDRHLSISV	LKQTYQEKVC	GLCGNFDGIQ	240
NNDLTSSNLQ	VEEDPVDFGN	SWKVSSQCAD	TRKVPLDSSP	ATCHNNIMKQ	TMVDSSCRIL	300
TSDVFQDCNK	LVDPEPYLDV	CIYDTCSCES	IGDCAAFCDT	IAAYAHVCAQ	HGKVVTWRTA	360
TLCPQSCEER	NLRENGYEA	WRYNSCAPAC	QVTCQHPEPL	ACPVQCVEGC	HAHCPPGKIL	420
DELLQTCVDP	EDCPVCEVAG	RRFASGKKVT	LNPSDPEHCQ	ICHCDVNL	CEACQEPGTS	480
ESATPESGPG	SEPATSGSET	PGTSESATPE	SGPGSEPATS	GSETPGTSES	ATPESGPGTS	540
TEPSEGSAPG	SPAGSPTSTE	EGTSESATPE	SGPGSEPATS	GSETPGTSES	ATPESGPGSP	600
AGSPTSTEEG	SPAGSPTSTE	EGASSDKNTG	DYEDSYEDI	SAYLLSKNNA	IEPRSFSDKT	660
HTCPPCPAPE	LLGGPSVFLF	PPKPKDTLMI	SRTPEVTCVV	VDVSHEDPEV	KFNWYVDGVE	720
VHNAKTKPRE	EQYNSTYRVV	SVLTVLHQDW	LNGKEYKCKV	SNKALPAPIE	KTISKAKGQP	780
REPQVYTLPP	SRDELTKNQV	SLTCLVKGFY	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT	TPPVLDSDGS	840
FFLYSKLTVD	KSRWQQGNVF	SCSVMHEALH	NHYTQKSLSL	SPG		883
Secuencia de aminoácidos de proteína de FVIII (312A) – incluye péptido señal: SEQ ID NO: 3						
1	MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP					

51	PRVPKSFPFN	TSVVYKKTLE	VEFTDHLFNI	AKPRPPWMGL	LGPTIQAEVY
101	DTVVITLKNM	ASHPVSLHAV	GVSYWKASEG	AEYDDQTSQR	EKEDDKVFPG
151	GSHTYVWQVL	KENGPMASDP	LCLTYSYLSH	VDLVKDLNSG	LIGALLVCRE
201	GSLAKEKTQT	LHKFILLFAV	FDEGKSWHSE	TKNSLMQDRD	AASARAWPKM
251	HTVNGYVNR	LPGLIGCHRK	SVYWHVIGMG	TTPEVHSIFL	EGHTFLVRNH
301	RQASLEISPI	TFLTAQTLLM	DLGQFLLFCH	ISSHQHDGME	AYVKVDSCPE
351	EPQLRMKNNE	EAEDYDDDLT	DSEMDVVRFD	DDNSPSFIQI	RSVAKKHPKT
401	WVHYIAAEEE	DWDYAPLVLA	PDDRSYKSQY	LNNGPQRIGR	KYKKVRFMAY
451	TDETFKTREA	IQHESGILGP	LLYGEVGDTL	LIIFKNQASR	PYNIYPHGIT
501	DVRPLYSRRL	PKG VKHLKDF	PILPGEIFKY	KWTVTVEDGP	TKSDPRCLTR
551	YYSSFVNMER	DLASGLIGPL	LICYKESVDQ	RGNQIMSDKR	NVILFSVFDE
601	NRSWYL TENI	QRFLPNPAGV	QLEDPEFQAS	NIMHSINGYV	FDSLQLSVCL
651	HEVAYWYILS	IGAQTDFLSV	FFSGYTFKHK	MVYEDTLTLF	PFSGETVFMS
701	MENPGLWILG	CHNSDFRNRG	MTALLKVSSC	DKNTGDYED	SYEDISAYLL
751	SKNNAIEPRS	FSQNGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP
801	GSEPATSGSE	TPGTSESATP	ESGPGTSTEP	SEGSAPGSPA	GSPTSTEEGT
851	SESATPESGP	GSEPATSGSE	TPGTSESATP	ESGPGSPAGS	PTSTEEGSPA
901	GSPTSTEEGT	STEPSEGSAP	GTSESATPES	GPGTSESATP	ESGPGTSESA
951	TPESGPGSEP	ATSGSETPGS	EPATSGSETP	GSPAGSPTST	EEGTSTEPSE
1001	GSAPGTSTEP	SEGSAPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	GTSTEPSEGS
1051	APASSEITRT	TLQSDQEEID	YDDTISVEMK	KEDEFDIYED	ENQSPRSFQK
1101	KTRHYFIAAV	ERLWDYGMSS	SPHVLRNRAQ	SGSV PQFKKV	VFQEFDTGSF
1151	TQPLYRGELN	EHLGLLGPYI	RAEVEDNIMV	TFRNQASRPY	SFYSSLISYE
1201	EDQRQGAEP	KNFVKPNETK	TYFWKVQHMM	APTKDEFDCK	AWAYFSDVDL
1251	EKDVHSLIG	PLL VCHTNTL	NPAHGRQVTV	QEFALFFTIF	DETKSWYFTE
1301	NMERNCRAPC	NIQMEDPTFK	ENYRFHAING	YIMDTLPGLV	MAQDQRIRWY
1351	LLSMG SNENI	HSIHFSGHVF	TVRKKEEYKM	ALYNLYPGVF	ETVEMLPSKA
1401	GIWRVECLIG	EHLHAGMSTL	FLVYSNKCQT	PLGMASGHIR	DFQITASGQY
1451	GQWAPKLARL	HYSGSINAWS	TKEPFSWIKV	DLLAPMI IHG	IKTQGARQKF
1501	SSLYISQFII	MYSLDGKKWQ	TYRGNSTGTL	MVFFGNVDSS	GIKHNIFNPP
1551	IIARYIRLHP	THYSIRSTLR	MELMGCDLNS	CSMPLGMESK	AISDAQITAS
1601	SYFTNM FATW	SPSKARLHLQ	GRSNAWRPQV	NNPKEWLQVD	FQKTMKVTGV
1651	TTQGVKSLLT	SMYVKEFLIS	SSQDGHQWTL	FFQNGKV KVF	QGNQDSFTPV
1701	VNSLD PPLLT	RYLRIHPQSW	VHQIALRMEV	LGCEAQDLYD	KTHTCPPCPA
1751	PELLGGPSVF	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSHEDP	EVKFNWYVDG
1801	VEVHNAKTKP	REEQYNSTYR	VVSVLTVLHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKALPAP
1851	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL	PPSRDELTKN	QVSLTCLVKG	FYP SDIAVEW
1901	ESNGQPENNY	KTT PPVLDS	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN	VFSCSV MHEA
1951	LHNHYTQKSL	SLSPG*			

Secuencia de nucleótidos que codifica FVIII 312A: SEQ ID NO: 4

1	ATGCAAATAG	AGCTCTCCAC	CTGCTTCTTT	CTGTGCCTTT	TGCGATTCTG
51	CTTTAGTGCC	ACCAGAAGAT	ACTACCTGGG	TGCAGTGGAA	CTGTCATGGG
101	ACTATATGCA	AAGTGATCTC	GGTGAGCTGC	CTGTGGACGC	AAGATTTCTT
151	CCTAGAGTGC	CAAAATCTTT	TCCATTCAAC	ACCTCAGTCG	TGTACAAAAA
201	GACTCTGTTT	GTAGAATTCA	CGGATCACCT	TTTCAACATC	GCTAAGCCAA
251	GGCCACCCTG	GATGGGTCTG	CTAGGTCCTA	CCATCCAGGC	TGAGGTTTAT
301	GATACAGTGG	TCATTACACT	TAAGAACATG	GCTTCCCATC	CTGT CAGTCT
351	TCATGCTGTT	GGTGTATCCT	ACTGGAAAGC	TTCTGAGGGA	GCTGAATATG
401	ATGATCAGAC	CAGTCAAAGG	GAGAAAGAAG	ATGATAAAGT	CTTCCCTGGT
451	GGAAGCCATA	CATATGTCTG	GCAGGTCCTG	AAAGAGAATG	GTCCAATGGC
501	CTCTGACCCA	CTGTGCCTTA	CCTACTCATA	TCTTTCTCAT	GTGGACCTGG
551	TAAAAGACTT	GAATTCAGGC	CTCATTGGAG	CCCTACTAGT	ATGTAGAGAA
601	GGGAGTCTGG	CCAAGGAAAA	GACACAGACC	TTGCACAAAT	TTATACTACT
651	TTTTGCTGTA	TTTGATGAAG	GGAAAAGTTG	GCACTCAGAA	ACAAAAGAACT

701	CCTTGATGCA	GGATAGGGAT	GCTGCATCTG	CTCGGGCCTG	GCCTAAAATG
751	CACACAGTCA	ATGGTTATGT	AAACAGGTCT	CTGCCAGGTC	TGATTGGATG
801	CCACAGGAAA	TCAGTCTATT	GGCATGTGAT	TGGAATGGGC	ACCACTCCTG
851	AAGTGCACTC	AATATTCCCTC	GAAGGTCACA	CATTTCTTGT	GAGGAACCAT
901	CGCCAGGCGT	CCTTGGAAT	CTCGCCAATA	ACTTTCCTTA	CTGCTCAAAC
951	ACTCTTGATG	GACCTTGAC	AGTTTCTACT	GTTTTGTCAT	ATCTCTTCCC
1001	ACCAACATGA	TGGCATGGAA	GCTTATGTCA	AAGTAGACAG	CTGTCCAGAG
1051	GAACCCCAAC	TACGAATGAA	AAATAATGAA	GAAGCGGAAG	ACTATGATGA
1101	TGATCTTACT	GATTCTGAAA	TGGATGTGGT	CAGGTTTGAT	GATGACAAC
1151	CTCCTTCCTT	TATCCAAATT	CGCTCAGTTG	CCAAGAAGCA	TCCTAAAAC
1201	TGGGTACATT	ACATTGCTGC	TGAAGAGGAG	GACTGGGACT	ATGCTCCCTT
1251	AGTCTCGCC	CCCGATGACA	GAAGTTATAA	AAGTCAATAT	TTGAACAATG
1301	GCCCTCAGCG	GATTGGTAGG	AAGTACAAAA	AAGTCCGATT	TATGGCATA
1351	ACAGATGAAA	CCTTTAAGAC	TCGTGAAGCT	ATTCAGCATG	AATCAGGAAT
1401	CTTGGGACCT	TTACTTTATG	GGGAAGTTGG	AGACACACTG	TTGATTATAT
1451	TTAAGAATCA	AGCAAGCAGA	CCATATAACA	TCTACCCTCA	CGGAATCACT
1501	GATGTCCGTC	CTTTGTATTC	AAGGAGATTA	CCAAAAGGTG	TAAAACATTT
1551	GAAGGATTTT	CCAATTCTGC	CAGGAGAAAT	ATTCAAATAT	AAATGGACAG
1601	TGACTGTAGA	AGATGGGCCA	ACTAAATCAG	ATCCTCGGTG	CCTGACCCGC
1651	TATTACTCTA	GTTTCGTTAA	TATGGAGAGA	GATCTAGCTT	CAGGACTCAT
1701	TGGCCCTCTC	CTCATCTGCT	ACAAAGAATC	TGTAGATCAA	AGAGGAAACC
1751	AGATAATGTC	AGACAAGAGG	AATGTCATCC	TGTTTTCTGT	ATTTGATGAG
1801	AACCGAAGCT	GGTACCTCAC	AGAGAATATA	CAACGCTTTC	TCCCCAATCC
1851	AGCTGGAGTG	CAGCTTGAGG	ATCCAGAGTT	CCAAGCCTCC	AACATCATGC
1901	ACAGCATCAA	TGGCTATGTT	TTTGATAGTT	TGCAGTTGTC	AGTTTGTTTG
1951	CATGAGGTGG	CATACTGGTA	CATTCTAAGC	ATTGGAGCAC	AGACTGACTT
2001	CCTTTCTGTC	TTCTTCTCTG	GATATACCTT	CAAAACAAAA	ATGGTCTATG
2051	AAGACACACT	CACCCTATTC	CCATTCTCAG	GAGAACTGT	CTTCATGTCG
2101	ATGGAAGAAC	CAGGTCTATG	GATTCTGGGG	TGCCACAAC	CAGACTTTCG
2151	GAACAGAGGC	ATGACCGCCT	TACTGAAGGT	TTCTAGTTGT	GACAAGAACA
2201	CTGGTGATTA	TTACGAGGAC	AGTTATGAAG	ATATTTCAGC	ATACTTGCTG
2251	AGTAAAAACA	ATGCCATTGA	ACCAAGAAGC	TTCTCTCAAA	ACGGTACCTC
2301	AGAGTCTGCT	ACCCCCGAGT	CAGGGCCAGG	ATCAGAGCCA	GCCACCTCCG
2351	GGTCTGAGAC	ACCCGGGACT	TCCGAGAGTG	CCACCCCTGA	GTCCGGACCC
2401	GGGTCCGAGC	CCGCCACTTC	CGGCTCCGAA	ACTCCCGGCA	CAAGCGAGAG
2451	CGCTACCCCA	GAGTCAGGAC	CAGGAACATC	TACAGAGCCC	TCTGAAGGCT
2501	CCGCTCCAGG	GTCCCCAGCC	GGCAGTCCCA	CTAGCACCGA	GGAGGGAACC
2551	TCTGAAAGCG	CCACACCCGA	ATCAGGGCCA	GGGTCTGAGC	CTGTACCAG
2601	CGGCAGCGAG	ACACAGGCCA	CCTCTGAGTC	CGCCACACCA	GAGTCCGGAC
2651	CCGGATCTCC	CGCTGGGAGC	CCCACCTCCA	CTGAGGAGGG	ATCTCCTGCT
2701	GGCTCTCCAA	CATCTACTGA	GGAAGGAACC	TCAACCGAGC	CATCCGAGGG
2751	ATCAGCTCCC	GGCACCTCAG	AGTCGGCAAC	CCCGGAGTCT	GGACCCGGAA
2801	CTTCCGAAAG	TGCCACACCA	GAGTCCGGTC	CCGGGACTTC	AGAATCAGCA
2851	ACACCCGAGT	CCGGCCCTGG	GTCTGAACCC	GCCACAAGTG	GTAGTGAGAC
2901	ACCAGGATCA	GAACCTGCTA	CCTCAGGGTC	AGAGACACCC	GGATCTCCGG
2951	CAGGCTCACC	AACCTCCACT	GAGGAGGGCA	CCAGCACAGA	ACCAAGCGAG
3001	GGCTCCGCAC	CCGGAACAAG	CACTGAACCC	AGTGAGGGTT	CAGCACCCGG
3051	CTCTGAGCCG	GCCACAAGTG	GCAGTGAGAC	ACCCGGCACT	TCAGAGAGTG
3101	CCACCCCCGA	GAGTGGCCCA	GGCACTAGTA	CCGAGCCCTC	TGAAGGCAGT
3151	GCGCCAGCCT	CGAGCGAAAT	AACTCGTACT	ACTCTTCAGT	CAGATCAAGA
3201	GGAAATTGAC	TATGATGATA	CCATATCAGT	TGAAATGAAG	AAGGAAGATT
3251	TTGACATTTA	TGATGAGGAT	GAAATCAGA	GCCCCGCAG	CTTTCAAAAG
3301	AAAACACGAC	ACTATTTTAT	TGCTGCAGTG	GAGAGGCTCT	GGGATTATGG
3351	GATGAGTAGC	TCCCCACATG	TTCTAAGAAA	CAGGGCTCAG	AGTGGCAGTG
3401	TCCCTCAGTT	CAAGAAAGTT	GTTTTCAGG	AATTTACTGA	TGGCTCCTTT
3451	ACTCAGCCCT	TATACCGTGG	AGAATAAAT	GAACATTTGG	GACTCCTGGG
3501	GCCATATATA	AGAGCAGAAG	TTGAAGATAA	TATCATGGTA	ACTTTCAGAA
3551	ATCAGGCCTC	TCGTCCCTAT	TCCTTCTATT	CTAGCCTTAT	TTCTTATGAG

3601	GAAGATCAGA	GGCAAGGAGC	AGAACCTAGA	AAAAACTTTG	TCAAGCCTAA
3651	TGAAACCAAA	ACTTACTTTT	GGAAAGTGCA	ACATCATATG	GCACCCACTA
3701	AAGATGAGTT	TGACTGCAAA	GCCTGGGCTT	ATTTCTCTGA	TGTTGACCTG
3751	GAAAAAGATG	TGCACTCAGG	CCTGATTGGA	CCCCTTCTGG	TCTGCCACAC
3801	TAACACACTG	AACCCTGCTC	ATGGGAGACA	AGTGACAGTA	CAGGAATTTG
3851	CTCTGTTTTT	CACCATCTTT	GATGAGACCA	AAAGCTGGTA	CTTCACTGAA
3901	AATATGGAAA	GAAACTGCAG	GGCTCCCTGC	AATATCCAGA	TGGAAGATCC
3951	CACTTTTAAA	GAGAATTATC	GCTTCCATGC	AATCAATGGC	TACATAATGG
4001	ATACACTACC	TGGCTTAGTA	ATGGCTCAGG	ATCAAAGGAT	TCGATGGTAT
4051	CTGCTCAGCA	TGGGCAGCAA	TGAAAACATC	CATTCTATTC	ATTTTCAGTGG
4101	ACATGTGTTT	ACTGTACGAA	AAAAAGAGGA	GTATAAAATG	GCACTGTACA
4151	ATCTCTATCC	AGGTGTTTTT	GAGACAGTGG	AAATGTTACC	ATCCAAAGCT
4201	GGAATTTGGC	GGGTGGAATG	CCTTATTGGC	GAGCATCTAC	ATGCTGGGAT
4251	GAGCACACTT	TTTCTGGTGT	ACAGCAATAA	GTGTCAGACT	CCCCTGGGAA
4301	TGGCTTCTGG	ACACATTAGA	GATTTTTCAGA	TTACAGCTTC	AGGACAATAT
4351	GGACAGTGGG	CCCCAAAGCT	GGCCAGACTT	CATTATTCCTG	GATCAATCAA
4401	TGCCTGGAGC	ACCAAGGAGC	CCTTTTCTTG	GATCAAGGTG	GATCTGTTGG
4451	CACCAATGAT	TATTCACGGC	ATCAAGACCC	AGGGTGCCCG	TCAGAAGTTC
4501	TCCAGCCTCT	ACATCTCTCA	GTTTATCATC	ATGTATAGTC	TTGATGGGAA
4551	GAAGTGGCAG	ACTTATCGAG	GAAATTCCAC	TGGAACCTTA	ATGGTCTTCT
4601	TTGGCAATGT	GGATTCATCT	GGGATAAAAC	ACAATATTTT	TAACCCCTCA
4651	ATTATTGCTC	GATACATCCG	TTTGCACCCA	ACTCATTATA	GCATTTCGAG
4701	CACTCTTCGC	ATGGAGTTGA	TGGGCTGTGA	TTTAAATAGT	TGCAGCATGC
4751	CATTGGGAAT	GGAGAGTAAA	GCAATATCAG	ATGCACAGAT	TACTGCTTCA
4801	TCCTACTTTA	CCAATATGTT	TGCCACCTGG	TCTCCTTCAA	AAGCTCGACT
4851	TCACCTCCAA	GGGAGGAGTA	ATGCCTGGAG	ACCTCAGGTG	AATAATCCAA
4901	AAGAGTGGCT	GCAAGTGGAC	TTCCAGAAGA	CAATGAAAGT	CACAGGAGTA
4951	ACTACTCAGG	GAGTAAAATC	TCTGCTTACC	AGCATGTATG	TGAAGGAGTT
5001	CCTCATCTCC	AGCAGTCAAG	ATGGCCATCA	GTGGACTCTC	TTTTTTTCAGA
5051	ATGGCAAAGT	AAAGGTTTTT	CAGGGAAAATC	AAGACTCCTT	CACACCTGTG
5101	GTGAACTCTC	TAGACCCACC	GTTACTGACT	CGCTACCTTC	GAATTACCCC
5151	CCAGAGTTGG	GTGCACCAGA	TTGCCCTGAG	GATGGAGGTT	CTGGGCTGCG
5201	AGGCACAGGA	CCTCTACGAC	AAAACCTACA	CATGCCCCACC	GTGCCCAGCT
5251	CCAGAACTCC	TGGGCGGACC	GTCAGTCTTC	CTCTTCCCCC	CAAAACCCAA
5301	GGACACCCTC	ATGATCTCCC	GGACCCCTGA	GGTCACATGC	GTGGTGGTGG
5351	ACGTGAGCCA	CGAAGACCCCT	GAGGTCAAGT	TCAACTGGTA	TGTGGACGGC
5401	GTGGAAGTGC	ATAATGCCAA	GACAAAGCCG	CGGGAGGAGC	AGTACAACAG
5451	CACGTACCGT	GTGGTCAGCG	TCCCTACCGT	CCTGCACCAA	GACTGGCTGA
5501	ATGGCAAGGA	GTACAAGTGC	AAGGTCTCCA	ACAAAGCCCT	CCCAGCCCCC
5551	ATCGAGAAAA	CCATCTCCAA	AGCCAAAAGG	CAGCCCCGAG	AACCACAGGT
5601	GTACACCCTG	CCCCCATCCC	GGGATGAGCT	GACCAAGAAC	CAAGTTAGCC
5651	TGACCTGCCT	GGTCAAAGGC	TTCTATCCCA	GCGACATCGC	CGTGGAGTGG
5701	GAGAGCAATG	GGCAGCCGGA	GAACAACACT	AAGACCACGC	CTCCCGTGTT
5751	GGACTCCGAC	GGCTCCTTCT	TCCTCTACTC	CAAGCTCACC	GTGGACAAGA
5801	GCAGGTGGCA	GCAGGGGAAC	GTCTTCTCAT	GCTCCGTGAT	GCATGAGGCT
5851	CTGCACAACC	ACTACACGCA	GAAGAGCCTC	TCCCTGTCTC	CGGGTTGA

Secuencia de aminoácidos de la proteína VWF059A– incluye péptido señal y región D1D2: SEQ ID NO: 5

1	MIPARFAGVL	LALALILPGT	LCAEGTRGRS	STARCSLFGS	DFVNTFDGSM
51	YSFAGYCSYL	LAGGCQKRSE	SIIGDFQNGK	RVSLSVYLGE	FFDIHLFVNG
101	TVTQGDQRVS	MPYASKGLYL	ETEAGYYKLS	GEAYGFVARI	DGSGNFQVLL
151	SDRYFNKTCG	LCGNFNIFAE	DDFMTQEGTL	TSDPYDFANS	WALSSGEQWC
201	ERASFPSSSC	NISSGEMQKG	LWEQCQLLKS	TSVFARCHPL	VDPEPFVALC
251	EKTLCECAGG	LECACPALLE	YARTCAQEGM	VLYGWDHSA	CSPVCPAGME
301	YRQCVSPCAR	TCQSLHINEM	CQERCVDGCS	CPEGQLLDEG	LCVESTTEPCP

351	VHSGKRYPPG	TSLSRDCNTC	ICRNSQWICS	NEECPGECVL	TGQSHFKSFD
401	NRYFTFSGIC	QYLLARDCQD	HSFSIVIETV	QCADDRDAVC	TRSVTVRLPG
451	LHNSLVKLKH	GAGVAMDGQD	IQLPLLKGD	RIQHTVTASV	RLSYGEDLQM
501	DWDGRGRLLV	KLSPVYAGKT	CGLCGNYNGN	QGDDFLTPSG	LAEPERVEDFG
551	NAWKLHGDCQ	DLQKQHSDFC	ALNPRMTRFS	EEACAVLTSP	TFEACHRAVS
601	PLPYLRNCRY	DVCSCSDGRE	CLCGALASYA	AACAGRGVRV	AWREPGRCEL
651	NCPKGQVYLQ	CGTPCNLTCT	SLSYPDEECN	EACLEGCFCP	PGLYMDERGD
701	CVPKAQCPCY	YDGEIFQPED	IFSDHHTMCY	CEDGFMHCTM	SGVPGSLLPD
751	AVLSSPLSHR	SKRSLSCRPP	MVKLVCPADN	LRAEGLECTK	TCQNYDLECM
801	SMGCVSGCLC	PPGMVRHENR	CVALERCPCF	HQKEYAPGE	TVKIGCNTCV
851	CRDRKWNCTD	HVCDATCSTI	GMAHYLTFDG	LKYLFPGECQ	YVLVQDYCGS
901	NPGTFRILVG	NKGCSHPSVK	CKKRVTLIVE	GGEIELFDGE	VNVKRPMDKE
951	THFEVVESGR	YIILLGKAL	SVVWDRHLSI	SVVLKQTYQE	KVCGLCGNFD
1001	GIQNNDLTSS	NLQVEEDPVD	FGNSWKVSSQ	CADTRKVPLD	SSPATCHNNI
1051	MKQTMVDSSC	RILTSDVFDQ	CNKLVDPPEY	LDVCIYDTCS	CESIGDCAAF
1101	CDTIAAYAHV	CAQHKGKVVW	RTATLCPQSC	EERNLRENGY	EAEWRYNNSCA
1151	PACQVTCQHP	EPLACPVCQV	EGCHAHCPPG	KILDELLQTC	VDPEDCPVCE
1201	VAGRRFASGK	KVTLNPSDPE	HCQICHCDVV	NLTCEACQEP	GTSESATPES
1251	GPGSEPATSG	SETPGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP
1301	GTSTEPSEGS	APGSPAGSPT	STEEGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT
1351	SESATPESGP	GSPAGSPTST	EEGSPAGSPT	STEEGASSDK	NTGDYIEDSY
1401	EDISAYLLSK	NNAIEPRSF	DKTHTCPPCP	APELLGGPSV	FLFPPKPKDT
1451	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY
1501	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKAK	GQPREPQVYT
1551	LPPSRDELTK	NQVSLTCLVK	GFYPDSIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVPLDS
1601	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NVFSCSVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSPG*

Secuencia de nucleótidos que codifica la proteína VWF059A: SEQ ID NO: 6

1	ATGATTCTCTG	CCAGATTTG	CGGGGTGCTG	CTTGCTCTGG	CCCTCATTTT
51	GCCAGGGACC	CTTTGTGCAG	AAGGAACCTG	CGGCAGGTCA	TCCACGGCCC
101	GATGCAGCCT	TTTCGGAAGT	GACTTCGTCA	ACACCTTTGA	TGGGAGCATG
151	TACAGCTTTG	CGGGATACTG	CAGTTACCTC	CTGGCAGGGG	GCTGCCAGAA
201	ACGCTCCTTC	TCGATTATTG	GGGACTTCCA	GAATGGCAAG	AGAGTGAGCC
251	TCTCCGTGTA	TCTTGGGGAA	TTTTTTGACA	TCCATTTGTT	TGTCAATGGT
301	ACCGTGACAC	AGGGGGACCA	AAGAGTCTCC	ATGCCCTATG	CCTCCAAAGG
351	GCTGTATCTA	GAAACTGAGG	CTGGGTACTA	CAAGCTGTCC	GGTGAGGCC
401	ATGGCTTTGT	GGCCAGGATC	GATGGCAGCG	GCAACTTTCA	AGTCTGCTG
451	TCAGACAGAT	ACTTCAACAA	GACCTGCGGG	CTGTGTGGCA	ACTTTAACAT
501	CTTTGCTGAA	GATGACTTTA	TGACCCAAGA	AGGGACCTTG	ACCTCGGACC
551	CTTATGACTT	TGCCAACTCA	TGGGCTCTGA	GCAGTGGAGA	ACAGTGGTGT
601	GAACGGGCAT	CTCCTCCCAG	CAGCTCATGC	AACATCTCCT	CTGGGGAAAT
651	GCAGAAGGGC	CTGTGGGAGC	AGTGCCAGCT	TCTGAAGAGC	ACCTCGGTGT
701	TTGCCCCTG	CCACCCTCTG	GTGGACCCCG	AGCCTTTTGT	GGCCCTGTGT
751	GAGAAGACTT	TGTGTGAGTG	TGCTGGGGGG	CTGGAGTGCG	CCTGCCCTGC
801	CCTCCTGGAG	TACGCCCCGA	CCTGTGCCCA	GGAGGGAATG	GTGCTGTACG
851	GCTGGACCGA	CCACAGCGCG	TGCAGCCCAG	TGTGCCCTGC	TGGTATGGAG
901	TATAGGCAGT	GTGTGTCCCC	TTGCGCCAGG	ACCTGCCAGA	GCCTGCACAT
951	CAATGAAATG	TGTCAGGAGC	GATGCGTGGA	TGGCTGCAGC	TGCCCTGAGG
1001	GACAGCTCCT	GGATGAAGGC	CTCTGCGTGG	AGAGCACCGA	GTGTCCCCTGC
1051	GTGCATTCCG	GAAAGCGCTA	CCCTCCCGGC	ACCTCCCTCT	CTCGAGACTG
1101	CAACACCTGC	ATTTGCCGAA	ACAGCCAGTG	GATCTGCAGC	AATGAAGAAT
1151	GTCCAGGGGA	GTGCCTTGTC	ACTGGTCAAT	CCCACTTCAA	GAGCTTTGAC
1201	AACAGATACT	TCACCTTCAG	TGGGATCTGC	CAGTACCTGC	TGGCCCGGGA
1251	TTGCCAGGAC	CACTCCTTCT	CCATTGTCAT	TGAGACTGTC	CAGTGTGCTG
1301	ATGACCGCGA	CGCTGTGTGC	ACCCGCTCCG	TCACCGTCCG	GCTGCCCTGGC
1351	CTGCACAACA	GCCTTGTGAA	ACTGAAGCAT	GGGGCAGGAG	TTGCCATGGA
1401	TGGCCAGGAC	ATCCAGCTCC	CCCTCCTGAA	AGGTGACCTC	CGCATCCAGC

1451	ATACAGTGAC	GGCCTCCGTG	CGCCTCAGCT	ACGGGGAGGA	CCTGCAGATG
1501	GACTGGGATG	GCCGCGGGAG	GCTGCTGGTG	AAGCTGTCCC	CCGTCTATGC
1551	CGGGAAGACC	TGCGGCCTGT	GTGGGAATTA	CAATGGCAAC	CAGGGCGACG
1601	ACTTCCTTAC	CCCCTCTGGG	CTGGCGGAGC	CCCGGGTGGA	GGACTTCGGG
1651	AACGCCTGGA	AGCTGCACGG	GGACTGCCAG	GACCTGCAGA	AGCAGCACAG
1701	CGATCCCTGC	GCCCTCAACC	CGCGCATGAC	CAGGTTCTCC	GAGGAGGCGT
1751	GCGCGGTCC	GACGTCCCC	ACATTGAGG	CCTGCCATCG	TGCCGTCAGC
1801	CCGCTGCCCT	ACCTGCGGAA	CTGCCGCTAC	GACGTGTGCT	CCTGCTCGGA
1851	CGGCCGCGAG	TGCCTGTGCG	GCGCCCTGGC	CAGCTATGCC	GCGGCCGTGCG
1901	CGGGGAGAGG	CGTGCGCGTC	GCGTGGCGCG	AGCCAGGCCG	CTGTGAGCTG
1951	AACTGCCCCA	AAGGCCAGGT	GTACCTGCAG	TGCGGGACCC	CCTGCAACCT
2001	GACCTGCCGC	TCTCTCTCTT	ACCCGGATGA	GGAATGCAAT	GAGGCCTGCC
2051	TGGAGGGCTG	CTTCTGCCCC	CCAGGGCTCT	ACATGGATGA	GAGGGGGGAC
2101	TGCGTGCCCC	AGGCCCAGTG	CCCCTGTTAC	TATGACGGTG	AGATCTTCCA
2151	GCCAGAAGAC	ATCTTCTCAG	ACCATCACAC	CATGTGCTAC	TGTGAGGATG
2201	GCTTCATGCA	CTGTACCATG	AGTGGAGTCC	CCGGAAGCTT	GCTGCCGTGAC
2251	GCTGTCTCTA	GCAGTCCCC	GTCTCATCGC	AGCAAAAAGGA	GCCTATCCTG
2301	TCGGCCCCCC	ATGGTCAAGC	TGGTGTGTCC	CGCTGACAAC	CTGCGGGCTG
2351	AAGGGCTCGA	GTGTACCAAA	ACGTGCCAGA	ACTATGACCT	GGAGTGACATG
2401	AGCATGGGCT	GTGTCTCTGG	CTGCCTCTGC	CCCCCGGGCA	TGGTCCGGCA
2451	TGAGAACAGA	TGTGTGGCCC	TGGAAAGGTG	TCCCTGCTTC	CATCAGGGCA
2501	AGGAGTATGC	CCCTGGAGAA	ACAGTGAAGA	TTGGCTGCAA	CACTTGTGTC
2551	TGTCGGGACC	GGAAGTGGAA	CTGCACAGAC	CATGTGTGTG	ATGCCACGTG
2601	CTCCACGATC	GGCATGGCCC	ACTACCTCAC	CTTCGACGGG	CTCAAATACC
2651	TGTTCCCCCG	GGAGTGCCAG	TACGTTCTGG	TGCAGGATTA	CTGCGGCAGT
2701	AACCCTGGGA	CCTTTCGGAT	CCTAGTGGGG	AATAAGGGAT	GCAGCCACCC
2751	CTCAGTGAAA	TGCAAGAAAC	GGGTCACCAT	CCTGGTGGAG	GGAGGAGAGA
2801	TTGAGCTGTT	TGACGGGGAG	GTGAATGTGA	AGAGGCCCAT	GAAGGATGAG
2851	ACTCACTTTG	AGGTGGTGGA	GTCTGGCCGG	TACATCATTC	TGCTGCTGGG
2901	CAAAGCCCTC	TCCGTGGTCT	GGGACCGCCA	CCTGAGCATC	TCCGTGGTCC
2951	TGAAGCAGAC	ATACCAGGAG	AAAGTGTGTG	GCCTGTGTGG	GAATTTTGAT
3001	GGCATCCAGA	ACAATGACCT	CACCAGCAGC	AACCTCCAAG	TGGAGGAAGA
3051	CCCTGTGGAC	TTTGGGAAC	CCTGGAAGT	GAGCTCGCAG	TGTGCTGACA
3101	CCAGAAAAGT	GCCTCTGGAC	TCATCCCCTG	CCACCTGCCA	TAACAACATC
3151	ATGAAGCAGA	CGATGGTGGA	TTCTCCTGT	AGAATCCTTA	CCAGTGACGT
3201	CTTCCAGGAC	TGCAACAAGC	TGGTGGACCC	CGAGCCATAT	CTGGATGTCT
3251	GCATTTACGA	CACCTGCTCC	TGTGAGTCCA	TTGGGGACTG	CGCCGCATTC
3301	TGCGACACCA	TTGCTGCCTA	TGCCCACGTG	TGTGCCCAGC	ATGGCAAGGT
3351	GGTGACCTGG	AGGACGGCCA	CATTGTGCCC	CCAGAGCTGC	GAGGAGAGGA
3401	ATCTCCGGGA	GAACGGGTAT	GAGGCTGAGT	GGCGCTATAA	CAGCTGTGCA
3451	CCTGCCTGTC	AAGTCACGTG	TCAGCACCTT	GAGCCACTGG	CCTGCCCTGT
3501	GCAGTGTGTG	GAGGGCTGCC	ATGCCCCTG	CCCTCCAGGG	AAAATCCTGG
3551	ATGAGCTTTT	GCAGACCTGC	GTTGACCCTG	AAGACTGTCC	AGTGTGTGAG
3601	GTGGCTGGCC	GGCGTTTTGC	CTCAGGAAAAG	AAAGTCACCT	TGAATCCCAG
3651	TGACCCTGAG	CACTGCCAGA	TTTGCCACTG	TGATGTTGTC	AACCTCACCT
3701	GTGAAGCCTG	CCAGGAGCCG	GGTACATCAG	AGAGCGCCAC	CCCTGAAAAGT
3751	GGTCCCGGGA	GCGAGCCAGC	CACATCTGGG	TCGGAAACGC	CAGGCACATC
3801	CGAGTCTGCA	ACTCCCGAGT	CCGGACCTGG	CTCCGAGCCT	GCCACTAGCG
3851	GCTCCGAGAC	TCCGGGAAC	TCCGAGAGCG	CTACACCAGA	AAGCGGACCC
3901	GGAACCAGTA	CCGAACCTAG	CGAGGGCTCT	GCTCCGGGCA	CCCCAGCCGG
3951	CTCTCCTACA	TCCACGGAGG	AGGGCACTTC	CGAATCCGCC	ACCCCGGAGT
4001	CAGGGCCAGG	ATCTGAACCC	GCTACCTCAG	GCAGTGAGAC	GCCAGGAACG
4051	AGCGAGTCCG	CTACACCGGA	GAGTGGGCCA	GGGAGCCCTG	CTGGATCTCC
4101	TACGTCCACT	GAGGAAGGGT	CACCAGCGGG	CTCGCCACC	AGCACTGAAG
4151	AAGGTGCCTC	GTCTGACAAG	AACACTGGTG	ATTATTACGA	GGACAGTTAT
4201	GAAGATATTT	CAGCATACTT	GCTGAGTAAA	AACAATGCCA	TTGAACCAAG
4251	AAGCTTCTCT	GACAAAAC	ACACATGCCC	ACCGTGCCCA	GCTCCAGAAC
4301	TCCTGGGCGG	ACCGTCAGTC	TTCTCTTCC	CCCCAAAACC	CAAGGACACC
4351	CTCATGATCT	CCCGGACCCC	TGAGGTCACA	TGCGTGGTGG	TGGACGTGAG

4401	CCACGAAGAC	CCTGAGGTCA	AGTTCAACTG	GTATGTGGAC	GGCGTGGAAG	
4451	TGCATAATGC	CAAGACAAAG	CCGCGGGAGG	AGCAGTACAA	CAGCACGTAC	
4501	CGTGTGGTCA	GCGTCCTCAC	CGTCCTGCAC	CAAGACTGGC	TGAATGGCAA	
4551	GGAGTACAAG	TGCAAGGTCT	CCAACAAAGC	CCTCCCAGCC	CCCATCGAGA	
4601	AAACCATCTC	CAAAGCCAAA	GGGCAGCCCC	GAGAACCACA	GGTGTACACC	
4651	CTGCCCCCAT	CCCGGGATGA	GCTGACCAAG	AACCAAGTTA	GCCTGACCTG	
4701	CCTGGTCAAA	GGCTTCTATC	CCAGCGACAT	CGCCGTGGAG	TGGGAGAGCA	
4751	ATGGGCAGCC	GGAGAACAAC	TACAAGACCA	CGCCTCCCGT	GTTGGACTCC	
4801	GACGGCTCCT	TCTTCCTCTA	CTCCAAGCTC	ACCGTGGACA	AGAGCAGGTG	
4851	GCAGCAGGGG	AACGTCTTCT	CATGCTCCGT	GATGCATGAG	GCTCTGCACA	
4901	ACCACTACAC	GCAGAAGAGC	CTCTCCCTGT	CTCCGGGTTG	A	

FVIII(ELNN)-Fc: SEQ ID NO: 7						
TRRYYLGA	VE	FTDHLFNI	60			
AKPRPPWM	GL	LGPTIQAEVY	120			
EKEDDKVF	PG	GSHTYVWQVL	180			
GSLAKEKTQ	T	LHKFILLFAV	240			
LPGLIGCHR	K	SVYWHVIGMG	300			
DLGGQFLLF	CH	ISSHQHDGME	360			
DDNSPSFIQ	I	RSVAKKHPKT	420			
KYKKVRFMA	Y	TDETFFKTREA	480			
DVRPLYSRRL	L	PKGKHLKDF	540			
DLASGLIGPL	L	LICYKESVDQ	600			
QLEDPEFQAS	N	NIMHSINGYV	660			
MVYEDTLTL	F	PFSGETVFMS	720			
SYEDISAYLL	L	SKNNAIEPRS	780			
GSEPATSGSE	T	PGTSESATP	840			
GSEPATSGSE	T	PGTSESATP	900			
GTSESATPES	G	PGTSESATP	960			
GSPAGSPTST	E	EGTSTEPSE	1020			
GTSTEPSEGS	A	PASSEITRT	1080			
KTRHYFIAAV	E	RLWDYGMSS	1140			
EHLGLLGPYI	R	AEVEDNIMV	1200			
TYFWKVQHMH	A	PTKDEFCK	1260			
QEFALFFTIF	D	ETKSWYFTE	1320			
MAQDQIRIRW	L	LSMGSNENI	1380			
GIWRVECLIG	E	LHLHAGMSTL	1440			
HYSGSINAW	S	TKEPFSWIKV	1500			
TYRGNSTGTL	M	VFFGNVDSS	1560			
CSMPLGMESK	A	ISDAQITAS	1620			
FQKTMKVTVG	T	TQGVKSLLT	1680			
VNSLDPPLLT	R	YLRIHPQSW	1740			
LFPKPKKDTL	M	ISRTPEVTC	1800			
VVSVLTVLHQ	D	WLNGKEYKC	1860			
QVSLTCLVKG	F	YPSDIAVEW	1920			
VFSCSVMHEA	L	HNHYTQKSL	1945			

Tabla 4. Secuencias de proteínas quiméricas adicionales

Descripción / SEQ ID NO.	Secuencia
FVIII de longitud completa	ATRRYYLGAV ELSWDYMQSD LGELPVDARF PPRVPKSFPF NTSVVYKKTLL FVEFTDHLFN 60
	IAKPRPPWMG LLGPTIQAEV YDTVITLKN MASHPVSLHA VGVSYWKASE GAIEDDQTSQ 120
	REKEDDKVFP GGSHTYVWQV LKENGPMASD PLCLTYSYLS HVDLVKDLNS GLIGALLVCR 180
	EGSLAKEKTQ TLHKFILLFA VFDEGKSWHS ETKNSLMQDR DAASARAWPK MHTVNGYVNR 240
SEQ ID NO: 8	SLPGLIGCHR KSVYWHVIGM GTTPEVHSIF LEGHTFLVRN HRQASLEISP ITFLTAQTLL 300
	MDLGQFLLFC HISSHQHDGM EAYVKVDSCP EEPQLRMKN EEAEDYDDDL TDSEMDVVR 360
	DDNSPSFIQ IRSVAKKHPK TWVHYIAEE EDWDYAPLVL APDDRSYKSQ YLNNGPQRIG 420
	RKYKKVRFMA YTDETFKTRE AIQHESGILG PLYGEVGD LLIIFKNQAS RPYNIYPHGI 480
	TDVRLYSRR LPKGVKHLKDF FIPILGEIFK YKWTVTVEDG PTKSDPRCLT RYSSSFVNME 540
	RDLASGLIGP LLICYKESVD QRGNQIMSDK RNVLFSVFD ENRSWYLTE IQRFLPNPAG 600
	VQLEDPEFQA SNIMHSINGY VFDSLQLSVC LHEVAYWYIL SIGAQTDFLS VFFSGYTFKH 660

	KMVEDTLTL	FPFSGETVFM	SMENPGLWIL	GCHNSDFRNR	GMTALLKVSS	CDKNTGDYYE	720
	DSYEDISAYL	LSKNNAIIEPR	SFSQNSRHPS	TRQKQFNATT	IPENDIEKTD	PWFAHRTMP	780
	KIQNVSSDDL	LMLLRQSPTP	HGLSLSDLQE	AKYETFSDDP	SPGAIDSNN	LSEMTFRPQ	840
	LHHSGLDMVFT	PESGLQLRLN	EKLGTAAATE	LKKLDFKVSS	TSNNLISTIP	SDNLAAGTDN	900
	TSSLGPPSMP	VHYDSQLDTH	LFGKSSPLT	ESGGPLSLSE	ENNDKLLLES	GLMNSQESSW	960
	GKNVSSSTESG	RLFKGKRAHG	PALLTKDNAL	FKVSISSLKT	NKTSNNSATN	RKTHIDGPSL	1020
	LIENSFSPVWQ	NILESDTEFK	KVTPLIHDRM	LMDKNATALR	LNHMSNKTTS	SKNMEMVQQK	1080
	KEGPIPPDAQ	NPDMSEFFKML	FLPESARWIQ	RTHGKNSLNS	GQGPSPKQLV	SLGPEKSVEG	1140
	QNFLSEKNKV	VVGKGEFTKD	VGLKEMVFP	SRNLFLTNLD	NLHENNTHNQ	EKKIQEEIEK	1200
	KETLIQENVV	LPQIHTVTGT	KNFMKNLFL	STRQNVEGSY	DGAYAPVLQD	FRSLNDSTNR	1260
	TKKHTAHFSK	KGEEENLEGL	GNQTKQIVEK	YACTTRISPN	TSQQNFVTQR	SKRALKQFRL	1320
	PLEETELEKR	IIVDDTSTQW	SKNMKHLTPS	TLTQIDYNEK	EKGAITQSPL	SDCLTRSHSI	1380
	PQANRSLPI	AKVSSFPSIR	PIYLTRVLQ	DNSSHLPAS	YRKKDSGVQE	SSHFLQGAKK	1440
	NNLSLAILTL	EMTDGQREV	SLGTSATNSV	TYKKVENTVL	PKPDLPKTSG	KVELLPKVHI	1500
	YQKDLFPTET	SNGSPGHLDL	VEGSLQGTE	GAIKWNEANR	PGKVPFLRVA	TESSAKTPSK	1560
	LLDPLAWDNH	YGTQIPKEEW	KSQEKSPKPT	AFKKKDTILS	LNACESNHAI	AAINEGQNK	1620
	EIEVTWAKQG	RTERLCSQNP	PVLKRHQREI	TRTTLQSDQE	EIDYDDTISV	EMKKEDFDIY	1680
	DEDENQSPRS	FQKKTRHYFI	AAVERLWDYG	MSSSPHVLNR	RAQSGSVPPQ	KKVVFQEFDT	1740
	GSFTQPLYRG	ELNEHLGLLG	PYIRAEVEDN	IMVTFRNQAS	RPYSFYSSLI	SYEEDQRQGA	1800
	EPRKNFVKPN	ETKTYFWKVQ	HHMPTKDEF	DKAWAYFSD	VDLEKDVHSG	LIGPLLVCHT	1860
	NTLNPAGHRQ	VTVQEFALFF	TIFDETKSWY	FTENMERNCR	APCNIQMEDP	TFKENYRFHA	1920
	INGYIMDTLP	GLVMAQDQRI	RWYLLSMGSN	ENIHSIHFSG	HVFTVRKKEE	YKMALYNLYP	1980
	GVFETVEMLP	SKAGIWRVEC	LIGEHLHAGM	STLFLVYSNK	CQTPLGMASG	HIRDFQITAS	2040
	GQYQGWAPKL	ARLHYSGSIN	AWSTKEPFSW	IKVDLLAPMI	IHGKTKQGAR	QKFSSLYISQ	2100
	FIIMYSLDGK	KWQTYRGNST	GTLMVFFGNV	DSSGIKHNI	NPPIIARYIR	LHPHYSIRS	2160
	TLRMELMGCD	LNCSMPLGM	ESKAISDAQI	TASSYFTNMF	ATWSPSKARL	HLQGRSNAWR	2220
	PQVNNPKEWL	QVDFQKTMKV	TGVTQGVKS	LLTSMYVKEF	LISSSQDGHQ	WTLFFQNGKV	2280
	KVFQGNQDSF	TPVVNSLDP	LLTRYLRIHP	QSWVHQIALR	MEVLGCEAQD	LY	2332
AE288	GTSESATPES	GPGSEPATSG	SETPGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	60
SEQ ID NO: 9	GTSTEPSEGS	APGSPAGSPT	STEEGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	120
	GSPAGSPTST	EEGSPAGSPT	STEEGTSTEP	SEGSAPGTSE	SATPESGPBT	SESATPESGP	180
	GTSESATPES	GPGSEPATSG	SETPGSEPAT	SGSETPGSPA	GSPTSTEEGT	STEPSEGSAP	240
	GTSTEPSEGS	APGSEPATSG	SETPGTSESA	TPESGPGTST	EPSEGSAP		288
pSYN VWF059	TSTEEGASIS	DKNTGDYYED	SYEDISAYLL	SKNNAIEPRS	FSDKTH		
SEQ ID NO: 10							
pSYN VWF059A	TSTEEGASSD	KNTGDYYEDS	YEDISAYLLS	KNNAIEPRSF	SDKTH		
SEQ ID NO: 11							
pSYN FVIII 312	ATRRYYLGAV	ELSWDYMOSD	LGELPVDARF	PPRPVKSFFF	NTSVVYKCTL	FVEFTDHLFN	60
SEQ ID NO: 12	IAKPRPPWMG	LLGPTIQAEV	YDTVVITLKN	MASHPVSLHA	VGVSYWKASE	GAEYDDQTSQ	120
	REKEDDKVFP	GGSHTYVWQV	LKENGPMASD	PLCLTYSYLS	HVDLVKDLNS	GLIGALLVCR	180
	EGSLAKEKTQ	TLHKFILLFA	VFDEGKSWHS	ETKNSLMQDR	DAASARAWPK	MHTVNGYVNR	240
	SLPGLIGCHR	KSVYWHVIGM	GTTPEVHSIF	LEGHTFLVRN	HRQASLEISP	ITFLTAQTLL	300
	MDLGQFLLFC	HISSHQHDGM	EAYVKVDSCP	EEPQLRMKNN	EEAEDYDDL	TDSEMDVVR	360
	DDDNPSFQI	IRSAKKHHPK	TWVHYIAAEE	EDWDYAPLVL	APDDRSYKSQ	YLNNGPQRIG	420
	RKYKKVRFMA	YDTEFTKTRE	AIQHESGILG	PLLYGEVGD	LLIIFKNQAS	RPYNIYPHGI	480
	TDVRPLYSR	LPKGVKHLKD	FPILPGEIFK	YKWTVTVEDG	PTKSDPRCLT	RYYSSFNME	540
	RDLASGLIGP	LLICYKESVD	QRGNQIMSDK	RNVILFSVFD	ENRSWYLTEN	IQRFLPNPAG	600
	VQLEDPEFQA	SNIMHSINGY	VFDLSQLSVC	LHEVAYWYIL	SIGAQTDFLS	VFFSGYTFKH	660
	KMVEDTLTL	FPFSGETVFM	SMENPGLWIL	GCHNSDFRNR	GMTALLKVSS	CDKNTGDYYE	720
	DSYEDISAYL	LSKNNAIIEPR	SFSQNGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG	TSESATPESG	780
	PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGTSTE	PSEGSAPGSP	AGSPTSTEEG	TSESATPESG	840
	PGSEPATSGS	ETPGTSESAT	PESGPGSPAG	SPTSTEEGSP	AGSPTSTEEG	TSTEPSEGS	900
	PGTSESATPE	SGPGTSESAT	PESGPGTSES	ATPESGPGSE	PATSGSETPG	SEPATSGSET	960
	PGSPAGSPTS	TTEGTSTEPS	EGSAPGTSTE	PSEGSAPGSE	PATSGSETPG	TSESATPESG	1020
	PGTSTEPSEG	SAPASSEITR	TTLQSDQEEI	DYDDTISVEM	KKEDFDIYDE	DENQSPRSFQ	1080
	KKTRHYFIAA	VERLWDYGMS	SSPHVLNRRA	QSGSVPPQFK	VVFQEFDTGS	FTQPLYRGEL	1140
	NEHLGLLGPY	IRAEVEDNIM	VTFRNQASRP	YSFYSSLISY	EEDQRQGAEP	RKNFVKPNET	1200
	KTYFWKVQHH	MAPTKDEFDC	KAWAYFSDVD	LEKDVHSGLI	GPLLVCNTNT	LNPAGHRQVT	1260
	VQEFALFFTI	FDETKSWYFT	ENMERNCRAP	CNIQMEDPTF	KENYRFHAIN	GYIMDTLPGL	1320
	VMAQDQIRIR	YLLSMGSNEN	IHSIHFSGHV	FTVRKKEEYK	MALYNLYPGV	FETVEMLP	1380
	AGIWRVECLI	GEHLHAGMST	LFLVYSNKCQ	TPLGMASGHI	RDFQITASGQ	YGQWAPKLAR	1440
	LHYSGSINAW	STKEPFSWIK	VDLLAPMIH	GIKTQGARQK	FSSLYISQFI	IMYSLDGKKW	1500
	QTYRGNSTGT	LMVFFGNVDS	SGIKHNIFNP	PIIARYIRLH	PTHYSIRSTL	RMELMGCDLN	1560

	SCSMPLGMES KAISDAQITA SSYFTNMFAT WSPSKARLHL QGRSNAWRPQ VNNPKEWLQV 1620 DFQKTMKVTG VTTQGVKSLT TSMYVKEFLI SSSQDGHQWT LFFQNGKVKV FQGNQDSFTP 1680 VVNSLDPPLL TRYLRHPQS WVHQIALRME VLGCQAQDLY DKHTHTCPPCP APELLGGPSV 1740 FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY 1800 RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPFSRDELTK 1860 NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDL DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG 1920 NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK
ELNN_AE288_2 SEQ ID NO: 13	GSPAGSPTST EEGTSESATP ESGPGSEPAT SGSETPGTSE SATPESGPPT STEPSEGSAP 60 GTSTEPSEGS APGTSTEPSE GSAPGTSTEP SEGSAAPTST EPSEGSAPTST STEPSEGSAP 120 GSPAGSPTST EEGTSTEPSE GSAPGTSESA TPESGPGSEP ATSGSETPGT SESATPESGP 180 GSEPATSGSE TPGTSESATP ESGPGTSTEP SEGSAAPTSE SATPESGPGS PAGSPTSTEE 240 GSPAGSPTST EEGSPAGSPT STEEGTSESA TPESGPGTST EPSEGSAP 288
ELNN AE144_5A SEQ ID NO: 14	TSESATPESG PGSEPATSGS ETPGTSESAT PESGPGSEPA TSGSETPGTS ESATPESGPG 60 TSTEPSEGS PGSPAGSPTS TEEGTSESAT PESGPGSEPA TSGSETPGTS ESATPESGPG 120 SPAGSPTSTE EGSPAGSPTS TEEG
Conector a2 de proteína quimérica SEQ ID NO: 15	DKNTGDYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FS 32
Péptido Señal de FVIII SEQ ID NO: 16	MQIELSTCFFLCLLRFCFS
Fragmento 1 de FVIII de proteína quimérica SEQ ID NO. 17	ATRRYYLGAV ELSWDYMQSD LGELPVDARF PPRVPKSPFF NTSVVYKCTL FVEFTDHLFN 60 IAKPRPPWVG LLGPTIQAEV YDTVITLKN MASHFVSLHA VGVSYWKASE GAEYDDQTSQ 120 REKEDDKVFP GGSHTYVWQV LKENGPMASD PLCLTYSYLS HVDLVKDLNS GLIGALVCR 180 EGSLAKEKTQ TLHKFILLFA VFDEGKSWHS ETKNSLMQDR DAASARAWPK MHTVNGYVNR 240 SLPGLIGCHR KSVYWHVIGM GTTPEVHSIF LEGHTFLVRN HRQASLEISP ITFLTAQTLL 300 MDLGQFLLC HISSHQHDGM EAYVKVDSCP EEPQLRMKN EEAEDYDDL TDSEMDVVR 360 DDNSPSFIQ IRSVAKKHPK TWVHYIAAEE EDWDYAPLVL APDDRSYKSQ YLNNGPQRIG 420 RKYKKVRFMA YDTEFTKTRE AIQHESGILG PLYGEVGD LLIIFKNQAS RPYNIYPHGI 480 TDVRPLYSRP LPKGVKHLKD FPILPGEIFK YKWTVTVEDG PTKSDPRCLT RYSSSFVNME 540 RDLASGLIGP LLICYKESVD QRGNQIMSDK RNVLFSVFD ENRSWYLTEN IQRFLPNPAG 600 VQLEDPEFQA SNIMHSINGY VFDSLQLSVC LHEVAYWYIL SIGAQTDFLS VFFSGYTFKH 660 KMYEDTTLT FPFSGETVFM SMENPGLWIL GCHNSDFRNR GMTALLKVSS CDKNTGDYEE 720 DSYEDISAYL LSKNNAIEPR SFSQN
Fragmento 2 de FVIII de proteína quimérica SEQ ID NO. 18	EITRTTLQSD QEEIDYDDTI SVMKKEDFD IYDEDENQSP RSFQKKTRHY FIAAVERLWD 60 YGMSSSPHVL RNRAQSGSVP QFKKVVVFQEF TDGSFTQPLY RGELNEHLGL LGPYIRAEVE 120 DNIMVTFRNQ ASRPYSFYSS LISYEDQQRQ GAEPKKNFVK PNETKTYFWK VQHHMAPTKD 180 EFDCKAWAYF SDVDLEKDVH SGLIGPLLVC HTNTLNPAHG RQVTVQEFAL FFTIFDETKS 240 WYFTENMERN CRAPCNIQME DPTFKENYRF HAINGYIMDT LPGLVMAQDQ RIRWYLLSMG 300 SNENIHSIHF SGHVFTVRKK EYKMALYNL YPGVFETVEM LPSKAGIWRV ECLIGEHLHA 360 GMSTLFLVYS NKCQTPLGMA SGHIRDFQIT ASGQYQWAP KLARLHYS GS INAWSTKEPF 420 SWIKVDLLAP MIIHGKIQG ARQKFSSLYI SQFIIMYSLD GKKWQTYRGN STGTLMVFFG 480 NVDSSGIKHN IFNPPIIARY IRLHPHYSI RSTLRMELMG CDLNSCSMPL GMESKAISDA 540 QITASSYFTN MFATWSPSKA RLHLQGRSNA WRPVNNPKE WLQVDFQKTM KVTGVTTQGV 600 KSLTSMYVK EFLISSQDG HQWTLFFQNG KVKVFQGNQD SFTPVVNSLD PPLLTRYLRI 660 HPQSVVHQIA LRMEVLGCEA QDLY
Péptido Señal de VWF SEQ ID NO: 19	MIPARFAGVL LALALILPGT LC
Dominio D1D2 de VWF de proteína quimérica	AEGTRGRSST ARCSLFGSDF VNTFDGSMYS FAGYCSYLLA GGCQKRFSI IGDFQNGKRV 60 SLSVYLGEFF DIHLFVNGTV TQGDQRVSMF YASKGLYLET EAGYKLSGE AYGFVARIDG 120 SGNFQVLLSD RYFNKTCGLC GNFNIFAEDD FMTQEGTLTS DPYDFANSWA LSSGEQWCER 180 ASPPSSSCNI SSGEMQKGLW EQCQLLKSTS VFARCHPLVD PEPFVALCEK TLCECAGGLE 240

SEQ ID NO: 20	CACPALLEYA	RTCAQEGMVL	YGWTDHSACS	PVCPAGMEYR	QCVSPCARTC	QSLHINEMCQ	300
	ERCVDCGSCP	EGQLLDEGLC	VESTECPCVH	SGKRYPPGTS	LSRDCNTCIC	RNSQWICSNE	360
	ECPGECCLVTG	QSHFKSFDNR	YFTFSGICQY	LLARDCQDHS	FSIVIETVQC	ADDRDAVCTR	420
	SVTVRLPGLH	NSLVKLKHGA	GVAMDGDQDIQ	LPLLKGDLRI	QHTVTASVRL	SYGEDLQMDW	480
	DGRGRLLVKL	SPVYAGKTCG	LCGNYNGNQG	DDFLTPSGLA	EPRVEDFGNA	WKLHGDCQDL	540
	QKQHSDDPCAL	NPRMTRFSEE	ACAVLTSPTF	EACHRAVSPL	PYLRNCRYDV	CSCSDGRECL	600
	CGALASYAAA	CAGRGRVVAW	REPGRCELNC	PKGQVYLQCG	TPCNLTCSRSL	SYPDEECNEA	660
	CLEGCFCPPG	LYMDERGDCV	PKAQCPCYD	GEIFQPEDIF	SDHHTMCYCE	DGFMHCTMSG	720
	VPGSLLPDAV	LSSPLSHRSK	R				
Dominio D' de VWF de proteína quimérica SEQ ID NO: 21	SLSCRPPMVK	LVCPADNLRA	EGLECTKTCQ	NYDLECMSMG	CVSGCLCPPG	MVRHENRCVA	60
	LERPCPFHQG	KEYAPGETVK	IGCNTCVCRD	RKWNCTDHVC	DAT		103
Dominio D3 de VWF de proteína quimérica SEQ ID NO: 22	CSTIGMAHYL	TFDGLKYLFP	GECQYVLVQD	YCGSNPGTFR	ILVGNKGCSH	PSVKCKKRV	60
	ILVEGGEIEL	FDGEVNVKRP	MKDETHFEVV	ESGRYIILL	GKALSVVWDR	HLSISVVLKQ	120
	TYQEKVCGLC	GNFDGIQNND	LTSSNLQVEE	DPVDFGNSWK	VSSQCADTRK	VPLDSSPATC	180
	HNNIMKQTMV	DSSCRILTSD	VFQDCNKLVD	PEPYLDVCIY	DTCSCSIGD	CAAFCDTIAA	240
	YAHVCAQHKG	VVTWRTATLC	PQSCBERNLR	ENGYEAERY	NSCAPACQVT	CQHPEPLACP	300
	VQCVEGCHAH	CPPGKILDEL	LQTCVDPEDC	PVCEVAGRRF	ASGKKVTINP	SDPEHCQICH	360
	CDVVNLTCOA	CQEP					374
Región Fc SEQ ID NO: 23	DKTHTCPPCP	APELLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSHED	PEVKFNWYVD	60
	GVEVHNAKTK	PREEQYNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK	CKVSNKALPA	PIEKTISKAK	120
	GQPREPQVYT	LPPSRDELTK	NQVSLTCLVK	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTTTPVLDS	180
	DGSFFLYSKL	TVDKSRWQQG	NVFSCSVME	ALHNHYTQKS	LSLSPG		
ELNN AE288_3 SEQ ID NO: 24	GTSESATPES	GPGSEPATSG	SETPGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	60
	GTSTEPSEGS	APGSPAGSPT	STEEGTSESA	TPESGPGSEP	ATSGSETPGT	SESATPESGP	120
	GSPAGSPTST	EEGSPAGSPT	STEEGTSTEP	SEGSAPGTSE	SATPESGPST	SESATPESGP	180
	GTSESATPES	GPGSEPATSG	SETPGSEPAT	SGSETPGSPA	GSPTSTEEGT	STEPSEGSAP	240
	GTSTEPSEGS	APGSEPATSG	SETPGTSESA	TPESGPGTST	EPSEGSAPAS	S	291