

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS PARA ADMINISTRACIÓN OCULAR**REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS**

[0001] Esta solicitud reclama el beneficio de la
5 solicitud de patente provisional de los Estados Unidos No.
63/435,168, presentada el 23 de diciembre de 2022, cuya
divulgación se incorpora por referencia en su totalidad.

REFERENCIA A UN LISTADO DE SECUENCIAS ELECTRÓNICO

10 [0002] El contenido del listado electrónico de
secuencias (OPHT_037_01WO_SeqList_ST26.xml; Tamaño: 17,715
bytes; y Fecha de Creación: 21 de noviembre de 2023) se
incorpora en este documento por referencia en su totalidad.

15 **CAMPO DE LA INVENCION**

[0003] La invención se refiere a composiciones
farmacéuticas de avacincaptad pegol que tienen la pureza
suficiente para ser adecuadas para administrarse a pacientes
humanos en el tratamiento de diferentes trastornos y
20 enfermedades oculares.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0004] Las enfermedades y lesiones de tejidos del
segmento posterior del ojo, incluyendo la retina y la
25 coroides, están implicadas en muchas de las enfermedades que

provocan ceguera más comunes en el mundo industrializado. Sólo la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) afecta a más de 10 millones de estadounidenses. La pérdida grave de visión por DMAE y otras enfermedades que afectan al segmento posterior, que incluyen retinopatía diabética, glaucoma y retinitis pigmentaria, son responsables de la mayoría de los casos de ceguera irreversible en todo el mundo. La DMAE se clasifica en uno de dos subgrupos generales: la forma no neovascular (seca) de la enfermedad (DMAE seca) y la forma neovascular de la enfermedad (DMAE húmeda). La DMAE seca es la más prevalente y representa aproximadamente el 90% de todos los casos de DMAE. La DMAE seca se caracteriza por la presencia de drusas (depósitos cristalinos amarillos que se desarrollan dentro de la mácula) ubicadas bajo las células epiteliales pigmentarias de la retina (EPR). Cuando la afección es grave, la DMAE seca provoca un marcado adelgazamiento y/o atrofia de la mácula, como consecuencia de la pérdida del EPR y de los capilares asociados (coriocapilares). Esta forma de DMAE seca en fase tardía se asocia con el adelgazamiento y la pérdida de función de la retina neural ubicada por encima del EPR afectado. Este fenotipo colectivo de la DMAE seca en fase tardía se denomina atrofia geográfica (AG). La degeneración progresiva de las células fotorreceptoras sensibles a la luz en la AG provoca una pérdida visual grave en los ojos afectados. En la

actualidad, el tratamiento de la enfermedad del segmento posterior está limitado en gran medida por la dificultad de administrar dosis eficaces de fármacos a los tejidos objetivo del ojo posterior.

5 [0005] En consecuencia, a pesar de los importantes esfuerzos dirigidos al tratamiento de la AG, la DMAE u otros trastornos oftalmológicos, siguen siendo escasas las composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración a pacientes humanos con el fin de tratar enfermedades
10 oculares que requieren la administración de agentes terapéuticos directamente en el ojo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

 [0006] La presente invención proporciona una
15 sustancia farmacológica altamente purificada y un producto farmacológico de avacincaptad pegol (ACP). En una modalidad, la invención proporciona una composición que comprende un aptámero intermedio no pegilado que tiene la secuencia 5' NH₂-

20 fCmGfCfCGfCmGmGfUfCfUfCmAmGmGfCGfCfUmGmAmGfUfCfUmGmAmGfUfUfUA
 fCfCfUmGf CmG-3T-3' (ID de SEC NO: 1), en donde la composición tiene un perfil de pureza como el siguiente:

 (a) más del 85% del aptámero en la composición es aptámero de longitud completa;

25 (b) menos del 3% en total de fluoro degradantes y

productos de deleción n-1; y

(c) 1% o menos de productos de fallo de desprotección.

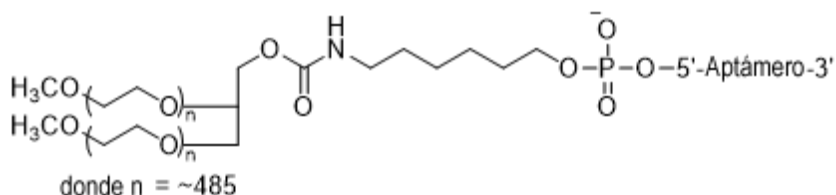
En algunas modalidades la composición tiene adicionalmente:

5 (d) menos del 1.8% de producto de escisión G;

(e) menos del 0.1% de producto de escisión A; y

(f) menos del 1.1% en total de productos de deleción n-4, n-3 y n-2.

En algunas modalidades, la invención proporciona un
10 aptámero PEGilado que comprende las composiciones ultrapuras en las modalidades anteriores, que tiene la estructura:



15

o una sal del mismo.

[0007] En otra modalidad, la invención proporciona una sustancia farmacológica ultrapura que comprende avacincaptad pegol en donde la sustancia farmacológica tiene
20 un perfil de pureza como el siguiente:

(a) más del 92% del aptámero en la sustancia farmacológica es aptámero de longitud completa;

(b) menos del 1.5% de la sustancia farmacológica es tiempo de retención relativo (RRT, Relative Retention Time) 1
25 (≥ 0.93 - < producto de longitud completa (FLP, Full Length

Product)); y

(c) menos del 5% de la sustancia farmacológica es RRT2 (>FLP - ≤ 1.2).

[0008] En otra modalidad, la invención proporciona una sustancia farmacológica en donde la potencia de la sustancia farmacológica, medida por ELISA, es superior al 95%.

[0009] En otra modalidad, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende la sustancia farmacológica ultrapura descrita en este documento, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades, la composición farmacéutica se formula a una concentración de 20 mg/mL (masa de oligonucleótidos) en solución salina tamponada con fosfato con pH 6.8 a 7.8 como una solución acuosa estéril. En algunas modalidades, la composición farmacéutica tiene una osmolalidad de entre 350 y 500 mOsm/kg.

[0010] En otra modalidad, la invención proporciona métodos para tratar una enfermedad, trastorno y/o afección oftalmológica que comprende la administración intravítrea de la composición farmacéutica ultrapura de Avacincaptad pegol descrita en este documento en una dosis de entre 3 y 5 mg/ojo a un sujeto que la necesite. En una modalidad preferida, el método de la invención proporciona que la dosis administrada sea de aproximadamente 2 mg/ojo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0011] La **Figura 1** muestra las fracciones de impurezas previas y posteriores al FLP recogidas en un proceso de purificación para ACP PEGilado.

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0012] En este documento se proporciona una sustancia farmacológica altamente purificada y un producto farmacológico que comprende avacincaptad pegol (ACP). Estas composiciones se producen mediante un proceso de fabricación mejorado. Las composiciones altamente purificadas son convenientes en comparación con las composiciones producidas por un proceso del arte previo, al menos en parte porque las composiciones altamente purificadas contienen una proporción menor de impurezas o variantes de ACP que no contribuyen a la eficacia pero están disponibles para inducir una respuesta inmunitaria.

[0013] Tal como se utilizan en este documento, incluyendo las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares de palabras tales como "un", "una", "la" y "el", incluyen sus correspondientes referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Todas las referencias citadas en este documento se incorporan por referencia en la misma medida que si se indicara específica e individualmente que cada publicación, solicitud de patente o

25

patente individual se incorpora por referencia.

Definiciones

[0014] A lo largo de esta solicitud, el término
5 "aproximadamente" se utiliza para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para el dispositivo o el método que se está empleando para determinar el valor, o la variación que existe entre las muestras que se están midiendo. Salvo que se indique lo contrario o resulte
10 evidente lo contrario a partir del contexto, el término "aproximadamente" significa dentro de un 10% por encima o por debajo del valor numérico indicado (excepto cuando dicho número supere el 100% de un valor posible o se sitúe por debajo del 0%). Cuando se utiliza junto con un intervalo o
15 una serie de valores, el término "aproximadamente" se aplica a los extremos del intervalo o a cada uno de los valores enumerados en la serie, a menos que se indique lo contrario. Tal como se utilizan en esta solicitud, los términos "alrededor de" y "aproximadamente" se utilizan como
20 equivalentes.

[0015] El término "ocular" tal como se utiliza en la presente invención hace referencia al ojo en general, o a cualquier parte o porción del ojo (ya que un "implante ocular" de acuerdo con la invención puede administrarse en
25 principio a cualquier parte o porción del ojo) o a cualquier

enfermedad del ojo (ya que en un aspecto la presente invención hace referencia en general al tratamiento de cualquier enfermedad del ojo (enfermedades oculares), de origen y naturaleza diferentes. La presente invención en
5 ciertas modalidades está dirigida a la inyección intravítrea de un implante ocular (en este caso el "implante ocular" es por lo tanto un "implante intravítreo), y al tratamiento de enfermedades oculares que afectan al segmento posterior del ojo, como se divulgará más adelante.

10 [0016] El término "paciente" en este documento incluye tanto a los pacientes humanos como a los animales. Un "paciente" es un sujeto que necesita tratamiento debido a una condición fisiológica o patológica particular.

[0017] El término "red de polímeros" describe una
15 estructura formada por cadenas de polímeros (de la misma o diferente estructura molecular y del mismo o diferente peso molecular) reticuladas entre sí. Los tipos de polímeros adecuados para los fines de la presente invención se divulgan en este documento. La red de polímeros también puede formarse
20 con la ayuda de un agente reticulante, como también se divulga en este documento,

[0018] Los términos abiertos como "incluye, "incluyendo", "contiene, "conteniendo" y similares, tal y como se utilizan en este documento, se refieren a
25 "comprendiendo" y pretenden referirse a listas o

enumeraciones abiertas de elementos, pasos del método o similares y, por lo tanto, no pretenden limitarse a los elementos, pasos del método o similares mencionados, sino que pretenden incluir también elementos adicionales, pasos del
5 método o similares no mencionados.

[0019] El término "hasta", cuando se utiliza en este documento junto con un determinado valor o número, se entiende que incluye el valor o número respectivo. Cuando en este documento se utilizan intervalos de valores o números,
10 los extremos del intervalo se incluyen en el intervalo.

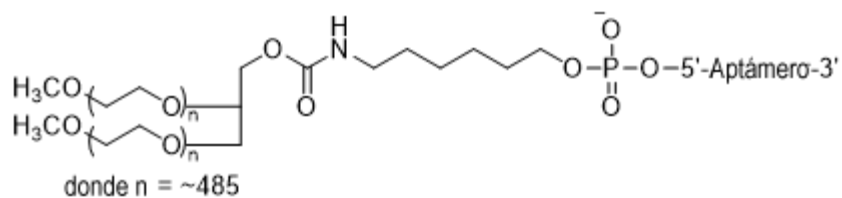
[0020] Los términos "IFA", "ingrediente (farmacéutico) activo", "agente (farmacéutico) activo", "principio (farmacéutico) activo", "agente terapéutico (activo)", "activo", "fármaco" y "sustancia farmacológica" se
15 utilizan de manera intercambiable en este documento y se refieren a la sustancia utilizada en un producto farmacéutico terminado (PFT) o "producto farmacológico", así como la sustancia utilizada en la preparación de este producto farmacéutico terminado que tiene el propósito de proporcionar
20 una actividad farmacológica o a tener un efecto directo de otro tipo en el diagnóstico, la cura, la mitigación, el tratamiento o la prevención de una enfermedad, o a tener un efecto directo en el restablecimiento, la corrección o la modificación de las funciones fisiológicas de un paciente.

25 [0021] El término "aptámero", tal como se utiliza en

este documento, se refiere a un oligonucleótido y/o análogos de ácido nucleico que pueden unirse a una molécula objetivo-específica. Los aptámeros pueden incluir ARN, ADN, ARN/ADN, cualquier análogo de ácido nucleico y/o combinaciones de los mismos. Los aptámeros pueden ser oligonucleótidos de cadena sencilla. Sin querer atarnos a la teoría, se cree que los aptámeros se unen a una estructura tridimensional de una molécula objetivo. Los aptámeros pueden ser monoméricos (compuestos de una sola unidad) o multiméricos (compuestos de múltiples unidades). Los aptámeros multiméricos pueden ser homoméricos (compuestos de múltiples unidades idénticas) o heteroméricos (compuestos de múltiples unidades no idénticas).

Sustancia Farmacológica

[0022] La sustancia farmacológica es un agente anti-C5 pegilado que es un aptámero = 5' NH₂-fCmGfCfCGfCmGmGfUfCfUfCmAmGmGfCGfCfUmGmAmGfUfCfUmGmAmGfUfUfUAfCfCfUmGf CmG-3T-3', (ID de SEC NO: 1), en donde fC y fU = 2' fluoro nucleótidos, mG y mA = 2'-OMe nucleótidos, G y A = ribonucleótidos, y 3T indica una desoxitimidina invertida. La estructura se muestra más adelante:



[0023] El ARC1905 (avacincaptad pegol) es un aptámero de ARN PEGilado que es un inhibidor potente y específico de la activación del complemento que se está desarrollando como terapia para el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), la atrofia geográfica (AG) secundaria a la DMAE y la enfermedad de Stargardt. La fórmula molecular del avacincaptad pegol (forma ácida libre) es $C_{395}H_{492}N_{142}O_{262}P_{39}F_{21}((CH_2)_2O)_n$ donde $n \sim 970$ y el peso molecular es de aproximadamente 56 kDa. El ARC1905 consiste en un aptámero de ARN modificado de 12,882 Dalton que se conjuga en el terminal 5' con una fracción de polietilenglicol (PEG). La porción de aptámero del ARC1905 (ARC672) tiene 39 nucleótidos de longitud y está modificada con una amina primaria en el terminal 5' para proporcionar un sitio reactivo para la conjugación específica del sitio (PEGilación). Específicamente, el ARC1905 es un aptámero PEGilado que contiene 39 unidades monoméricas (39-mer) con una estructura de horquilla. Ciertas fracciones activadas de PEG para su conjugación con el aptámero de ARN al que se hace referencia anteriormente están disponibles comercialmente. Pueden prepararse otras fracciones activadas de PEG utilizando métodos conocidos. Se entiende que las fracciones de PEG utilizadas en la invención son una colección de moléculas individuales de PEG de peso molecular variable. Además, las fracciones de PEG se caracterizan generalmente por una

descripción numérica que indica el peso molecular promedio de los polímeros de PEG contenidos en las mismas. Por ejemplo, una fracción de PEG de 40 kDa se refiere a una fracción de PEG con un peso molecular promedio de aproximadamente 40 kDa.

5 En algunas modalidades, la porción de PEG del ARC1905 es un PEG ramificado de 2 brazos. En algunas modalidades, la porción de PEG del ARC1905 es un PEG ramificado de 2 brazos que tiene un peso molecular promedio que oscila entre aproximadamente 39 kDa y 47 kDa (incluyendo los extremos del

10 intervalo). En algunas modalidades, la porción de PEG del ARC1905 es un PEG ramificado de 2 brazos que tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 40 kDa. En otras modalidades, la porción de PEG del ARC1905 es un PEG ramificado de 2 brazos con un peso molecular promedio de

15 aproximadamente 43 kDa. En algunas modalidades, la porción de PEG del ARC1905 es un PEG de carbonato NHS ramificado de 2 brazos. En algunas modalidades, el reactivo de PEG para el ARC1905 es SUNBRIGHT® GL2-400TS (PEG de carbonato NHS ramificado de 2 brazos) (NOF America Corporation). De acuerdo

20 con las especificaciones del fabricante, SUNBRIGHT® GL2-400TS tiene un peso molecular promedio (Mp) que oscila entre 39 y 47 kDa. En algunas modalidades, el peso molecular promedio (Mp) del éster mPEG2-NHS, determinado por cromatografía de permeación en gel (GPC, Gel Permeation Chromatography), es de

25 39 a 47 kDa. Otros reactivos de PEG adecuados incluyen, sin

limitación, SUNBRIGHT® GL2-400NP, ME-200TS, ME-300TS, ME-400TS, ME-400HS, ME-400GS, ME-400CS, GL2-200TS, GL2-600TS o LY-400NS (NOF America Corporation).

[0024] La composición nucleotídica consiste en
5 ribopurinas y 2'-fluoro pirimidinas y 2'-metoxi purinas modificadas. Los nucleótidos modificados minimizan la susceptibilidad a la digestión por endonucleasas. El terminal 3' se cubre con un enlace fosfodiéster 3'-3' "invertido" a un nucleótido de desoxitimidina (idT) para maximizar la
10 resistencia a la degradación por 3'-exonucleasas. La PEGilación se emplea para mejorar la vida útil *in vivo* sin disminuir la afinidad ni la actividad. El aptámero ARC1905 forma una estructura en horquilla con una protuberancia interna asimétrica funcionalmente importante, un bucle
15 interno y un bucle terminal en horquilla.

[0025] El ARC1905 inhibe el C5, un componente central de la cascada del complemento, que desempeña múltiples funciones en la inmunidad innata y las enfermedades inflamatorias. El ARC1905 se une al C5 humano con alta
20 especificidad y afinidad ($K_D = 0.69 \pm 0.148$ nM a 37°C) y es un potente inhibidor del C5 resultante de la activación de las vías clásica y alterna del complemento (C').

[0026] Las sustancias farmacológicas, el producto farmacológico y las composiciones provistas en este documento
25 comprenden avacincaptad pegol. En esta especificación,

"avacincaptad pegol" o "ACP" se refiere a la forma de su base libre o a la forma de su sal. En algunas modalidades, la avacincaptad pegol puede estar presente en la forma de su sal. En algunas modalidades, una sal de avacincaptad pegol es una sal farmacéuticamente aceptable de avacincaptad pegol. En una modalidad preferida, una sal de avacincaptad pegol es una sal sódica de avacincaptad pegol. En algunas modalidades, una sal de avacincaptad pegol es, por ejemplo, una sal de metal alcalino tal como sal sódica, sal de potasio, sal de litio y similares. En algunas modalidades, una sal de avacincaptad pegol es, por ejemplo, una sal de metal alcalinotérreo tal como la sal de calcio, sal de magnesio y similares. En algunas modalidades, las sales de avacincaptad pegol incluyen, sin limitación, sales con bases orgánicas tales como trietilamina, dicitclohexilamina, pirrolidina, morfolina, piridina y similares; sales de amonio y similares. En algunas modalidades, las sales de avacincaptad pegol incluyen, sin limitación, ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; y sales con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido p-toluensulfónico y similares.

[0027] Los ejemplos de una sal farmacéuticamente aceptable incluyen, pero sin limitación, sulfato, citrato,

acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, canforesulfonato, pamoato, fenilacetato, trifluoroacetato, acrilato, clorobenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, metilbenzoato, o-acetoxibenzoato, naftaleno-2-benzoato, isobutirato, fenilbutirato, α -hidroxibutirato, butileno-1,4-dicarboxilato, hexino-1,4-dicarboxilato, caprato, caprilato, cinamato, glicolato, heptanoato, hipurato, malato, hidroximaleato, malonato, mandelato, mesilato, nicotinato, ftalato, teraftalato, propiolato, propionato, fenilpropionato, sebacato, suberato, p-bromobencenosulfonato, clorobencenosulfonato, etilsulfonato, 2-hidroxietilsulfonato, metilsulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, naftaleno-1,5-sulfonato, xilenosulfonato y sales de tartarato. El término "sal farmacéuticamente aceptable" incluye, pero sin limitarse a, un hidrato de avacincaptad pegol y también puede referirse a una sal de avacincaptad pegol que tiene un grupo funcional ácido, tal como, pero sin limitarse a, un grupo funcional ácido carboxílico o un grupo funcional fosfato de hidrógeno,

y una base. Las bases adecuadas incluyen, entre otras, hidróxidos de metales alcalinos, tales como sodio, potasio y litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos, tales como calcio y magnesio; hidróxidos de otros metales, tales como aluminio y zinc; amoníaco, y aminas orgánicas, tales como monoalquilaminas, dialquilaminas o trialquilaminas no sustituidas o hidroxisustituidas, diciclohexilamina; tributilamina; piridina; N-metilo, N-etilamina; dietilamina; trietilamina; mono-, bis-, o tris-(2-OH-alquilo bajo aminas), tales como mono-, bis-, o tris-(2-hidroxietil)amina, 2-hidroxiterc-butilamina, o tris-(hidroximetil)metilamina; N,N-di-alquilo bajo-N-(hidroxil-alquilo bajo)-aminas, tales como N,N-dimetil-N-(2-hidroxietil)amina o tri-(2-hidroxietil)amina; N-metil-D-glucamina; y aminoácidos tales como arginina, lisina y similares.

[0028] En algunas modalidades, la invención proporciona una composición que comprende un aptámero intermedio no pegilado que tiene la secuencia 5' NH₂-fCmGfCfCGfCmGmGfUfCfUfCmAmGmGfCGfCfUmGmAmGfUfCfUmGmAmGfUfUfUAfCfCfUmGf CmG-3T-3' (ID de SEC NO: 1), en donde la composición tiene un perfil de pureza como el siguiente:

- (a) más del 85% del aptámero en la composición es aptámero de longitud completa;
- (b) menos del 3% en total de fluoro degradantes y productos de delección n-1; y

(c) 1% o menos de productos de fallo de desprotección.

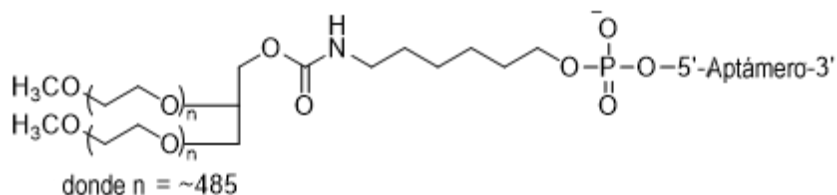
En algunas modalidades la composición tiene adicionalmente:

(d) menos del 1.8% de producto de escisión G;

5 (e) menos del 0.1% de producto de escisión A; y

(f) menos del 1.1% en total de productos de delección n-4, n-3 y n-2.

En algunas modalidades, la invención proporciona un aptámero PEGilado que comprende las composiciones ultrapuras
10 de las modalidades anteriores, que tiene la estructura:



15 o una sal del mismo.

[0029] En algunas modalidades, se genera una sustancia farmacológica ultrapura que comprende avacincaptad pegol, en donde la sustancia farmacológica tiene las siguientes características:

20 (a) más del 92% del aptámero en la sustancia farmacológica es aptámero de longitud completa;

(b) menos del 1.5% de la sustancia farmacológica es RRT1 ($\geq 0.93 - < \text{FLP}$); y

(c) menos del 5% de la sustancia farmacológica es RRT2
25 ($> \text{FLP} - \leq 1.2$).

[0030] La potencia del intermedio ultrapuro y de la sustancia farmacológica puede medirse mediante ELISA. El ensayo ELISA se basa en la inducción de la cascada de complemento por el lipopolisacárido (LPS) y la cuantificación de la formación de C5b9. Cuanto mayor sea la potencia del ARC1905, menor será la cantidad de C5b9 detectada. El resultado se expresa como potencia relativa (%) en comparación con el material de referencia estándar de ARC1905.

10 [0031] Con base en los resultados de ELISA, la sustancia farmacológica ultrapura fue al menos un 5% más potente en comparación con el producto elaborado de acuerdo con la síntesis del arte previo. En algunas modalidades, la potencia de la sustancia farmacológica ultrapura, medida por ELISA, es superior al 95%.

[0032] En algunas modalidades, el contenido de endotoxina en la sustancia farmacológica ultrapura es inferior a 0.2 unidades de endotoxinas por dosis (UE/dosis). En una modalidad, el contenido de endotoxina en el producto farmacéutico es de aproximadamente 0.14 UE/dosis, preferiblemente de aproximadamente 0.05 UE/dosis.

[0033] En el ejemplo 2 se proporcionan métodos ejemplares para producir la sustancia farmacológica ultrapura.

Producto Farmacéutico

[0034] El producto farmacológico ARC1905 es una solución acuosa estéril sin conservantes para inyección intravítrea. Está formulado a una concentración de 20 mg/mL (masa de oligonucleótidos) en solución salina tamponada con fosfato con pH 6.8 a 7.8 como una solución acuosa estéril. El producto farmacológico se presenta en un vial de vidrio transparente de Tipo I de 2.0 mL, tapado con un tapón de caucho y sellado con un sello de aluminio con tapa abatible. El producto farmacológico es estable de 2 a 8°C durante 43 meses.

[0035] La osmolalidad (medida por depresión del punto de congelación) del ARC1905 a una concentración de 20 mg/mL tiene un intervalo de entre 350 y 500 mOsm/kg, preferiblemente de entre 400 y 450 mOsm/kg (incluyendo los extremos del intervalo).

Administración y Dosis

[0036] El ARC1905 está previsto para la dosificación por inyección intravítrea en una dosis de entre 1 y 5 mg/ojo por administración. En algunas modalidades, la dosificación por inyección intravítrea es preferiblemente de 2 mg/ojo por administración. En algunas modalidades, la dosificación por inyección intravítrea es preferiblemente de 4 mg/ojo por administración (en una o más inyecciones por ojo en la misma visita del paciente). La dosificación puede ser quincenal,

mensual, cada dos meses o trimestral. En algunas modalidades, la dosificación puede ser una vez al mes. En algunas modalidades, la dosificación puede ser una vez al mes hasta 12 meses. En algunas modalidades, la dosificación puede ser
5 aproximadamente cada 28 ± 7 días.

[0037] En algunas modalidades, puede administrarse un régimen de dosificación que comprende una fase de carga y una fase de mantenimiento.

[0038] En algunas modalidades, el avacincaptad pegol
10 o una sal del mismo puede administrarse en un régimen de dosificación que comprende una fase de carga que comprende una dosis de aproximadamente 2 mg/ojo administrada una vez al mes durante una duración de hasta un año, seguida de una fase de mantenimiento que comprende una dosis de avacincaptad
15 pegol de aproximadamente 0.3 mg/ojo, o aproximadamente 0.5 mg/ojo, o aproximadamente 0.75 mg/ojo, o aproximadamente 1 mg/ojo, o aproximadamente 1.25 mg/ojo, o aproximadamente 1.50 mg/ojo, o aproximadamente 1.75 mg/ojo, o aproximadamente 2.25 mg/ojo, o aproximadamente 2.50 mg/ojo, o aproximadamente 2.75
20 mg/ojo, o aproximadamente 3 mg/ojo, o aproximadamente 3.25 mg/ojo, o aproximadamente 3.50 mg/ojo, o aproximadamente 3.75 mg/ojo, o aproximadamente 4 mg/ojo, administrados una vez cada 8 semanas, una vez cada 9 semanas, una vez cada 10 semanas, una vez cada 11 semanas, una vez cada 12 semanas,
25 una vez cada 13 semanas, una vez cada 14 semanas, una vez

cada 15 semanas, una vez cada 16 semanas, una vez cada 17
semanas, una vez cada 18 semanas, una vez cada 19 semanas,
una vez cada 20 semanas, una vez cada 21 semanas, una vez
cada 22 semanas, una vez cada 23 semanas, una vez cada 24
5 semanas, una vez cada 25 semanas, o una vez cada 26 semanas.

Métodos de Uso

[0039] El producto farmacéutico descrito en este
documento es adecuado para uso en cualquiera de los métodos
10 de la invención descritos en este documento.

[0040] En algunas modalidades, la presente invención
es un método para tratar una enfermedad o trastorno del ojo
en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar el
producto farmacológico de la presente invención en un área
15 ocular del sujeto.

[0041] Tal y como se utilizan en este documento, los
términos "tratar", "tratamiento" y "tratando" se refieren a
tratamientos terapéuticos que incluyen la reducción o mejora
de la progresión, gravedad y/o duración de una enfermedad,
20 trastorno o afección, o la mejora de uno o más síntomas
(específicamente, uno o más síntomas perceptibles) de una
enfermedad, trastorno o afección, como resultado de la
administración de las composiciones o el implante de la
invención. En modalidades específicas, el tratamiento
25 terapéutico incluye la mejora de al menos un parámetro físico

medible de una enfermedad, trastorno o afección. En otras modalidades, el tratamiento terapéutico incluye la inhibición de la progresión de una afección, ya sea físicamente, por ejemplo, mediante la estabilización de un síntoma
5 perceptible, fisiológicamente, por ejemplo, mediante la estabilización de un parámetro físico, o ambos. En otras modalidades, el tratamiento terapéutico incluye la reducción o estabilización de una enfermedad, trastorno o afección.

[0042] En algunas modalidades, la enfermedad ocular
10 se refiere a cualquier enfermedad que esté afectando a la retina, al epitelio pigmentario de la retina (EPR) y a la coroides. En algunas modalidades, la enfermedad ocular es seleccionada del grupo que consiste en: atrofia geográfica secundaria a degeneración macular asociada a la edad (DMAE),
15 degeneración macular asociada a la edad seca (DMAE seca), degeneración macular asociada a la edad húmeda (DMAE húmeda), degeneración macular asociada a la edad neovascular (DMAEn), oclusión venosa retiniana (OVR), edema macular diabético (EMD), retinopatía diabética (RD), síndrome de Usher tipo 1,
20 síndrome de Usher tipo 2, síndrome de Usher tipo 3, enfermedad de Stargardt, uveítis, daltonismo rojo-verde, monocromía de conos azules, amaurosis congénita de Leber (ACL), neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL), neuromielitis óptica (NMO), coroideremia, retinosquiasis
25 ligada al cromosoma X (RSLX), síndrome de Bardet-Biedl,

distrofia de conos, atrofia óptica, retinitis pigmentaria, degeneración de las células ganglionares de la retina (CGR) relacionada con la edad, enfermedad de Best, glaucoma, oftalmopatía de Graves, pérdida de visión asociada a la
5 esclerosis múltiple (EM), miopía, albinismo ocular recesivo ligado al cromosoma X, albinismo oculocutáneo tipo 1, neuritis óptica, vasculopatía coroidea polipoidea, retinitis pigmentaria ligada al cromosoma X (RPLX), acromatopsia (ACHM), distrofia retiniana asociada a la mutación bialélica
10 de RPE65, vasculopatía coroidea polipoidea idiopática, drusas de alto riesgo y una afección seleccionada del grupo que consiste en factores de riesgo para la progresión a atrofia incompleta del EPR y de la retina exterior (iRORA, incomplete RPE and Outer Retinal Atrophy), iRORA, atrofia geográfica
15 incipiente (nGA, nascent Geographic Atrophy) y atrofia completa del EPR y de la retina exterior (cRORA, complete RPE and Outer Retinal Atrophy). En modalidades preferidas, la enfermedad ocular es la atrofia geográfica secundaria a la DMAE, o la enfermedad de Stargardt (STGD1) autosómica
20 recesiva. En algunas modalidades, la enfermedad ocular es la atrofia geográfica secundaria a la DMAE.

[0043] Las referencias a métodos de tratamiento en esta descripción deben interpretarse como referencias a compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la
25 presente invención para uso en esos métodos.

[0044] En algunas modalidades, se proporciona en este documento una sustancia farmacológica o una composición farmacéutica para uso como medicamento. En algunas modalidades, se proporciona en este documento una sustancia
 5 farmacológica o una composición farmacéutica divulgada en este documento para el tratamiento de una enfermedad, trastorno y/o afección oftalmológica.

[0045] La sustancia farmacológica puede utilizarse como monoterapia o en combinación con una segunda terapia
 10 ocular adecuada. En modalidades preferidas, la segunda terapia ocular es un antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor), tal como aflibercept, ranibizumab, bevacizumab o faricimab.

15 **Modalidades Numeradas**

[0046] No obstante las reivindicaciones adjuntas, la divulgación establece las siguientes modalidades numeradas:

[0047] Modalidad 1. Una composición que comprende el aptámero no pegilado 5' NH₂-
 20 fCmGfCfCGfCmGmGfUfCfUfCmAmGmGfCGfCfUmGmAmGfUfCfUmGmAmGfUfUfUA
 fCfCfUmGf CmG-3T-3' (ID de SEC NO: 1), en donde la composición comprende:

- (a) más del 85% del aptámero en la composición es aptámero de longitud completa;
- 25 (b) menos del 1.8% de producto de escisión G; y

(c) 1% o menos de productos de fallo de desprotección.

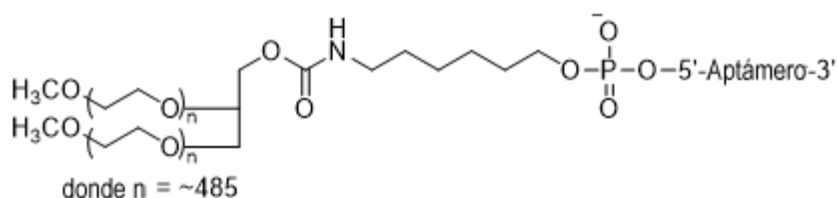
[0048] Modalidad 2. La composición de la modalidad 1, en donde la composición tiene adicionalmente:

(d) menos del 0.1% de producto de escisión A;

5 (e) menos del 1.1% en total de productos de deleción n-4, n-3 y n-2; y

(f) menos del 3% en total de fluoro degradantes y productos de deleción n-1.

[0049] Modalidad 3. Un aptámero PEGilado que
10 comprende la composición de la modalidad 1 o 2 que tiene la estructura:



15

o una sal del mismo.

[0050] Modalidad 4. El aptámero PEGilado de la modalidad 3, en donde el aptámero PEGilado comprende un PEG ramificado de 2 brazos que oscila entre aproximadamente 39
20 kDa y 47 kDa.

[0051] Modalidad 5. El aptámero PEGilado de la modalidad 3, en donde el aptámero PEGilado comprende un PEG ramificado de 2 brazos de aproximadamente 40 kDa.

[0052] Modalidad 6. El aptámero PEGilado de la
25 modalidad 3, en donde el aptámero PEGilado comprende un PEG

ramificado de 2 brazos de aproximadamente 43 kDa.

[0053] Modalidad 7. El aptámero PEGilado de cualquiera de las modalidades 3 a 6, en donde la sal es una sal sódica.

5 [0054] Modalidad 8. Una sustancia farmacológica que comprende avacincaptad pegol de la misma en donde la sustancia farmacológica comprende:

(a) más del 92% del aptámero en la sustancia farmacológica es aptámero de longitud completa;

10 (b) menos del 1.5% de la sustancia farmacológica es tiempo de retención relativo (RRT) 1 (≥ 0.93 - $<$ producto de longitud completa (FLP)); y

(c) menos del 5% de la sustancia farmacológica es RRT2 ($> \text{FLP} - \leq 1.2$).

15 [0055] Modalidad 9. La sustancia farmacológica de la modalidad 8, en donde la sustancia farmacológica comprende una sal sódica de avacincaptad pegol.

[0056] Modalidad 10. La sustancia farmacológica de la modalidad 8 o 9, en donde la potencia de la sustancia
20 farmacológica, medida por ELISA, es superior al 95%.

[0057] Modalidad 11. Una composición farmacéutica que comprende la sustancia farmacológica de cualquiera de las modalidades 8 a 10 y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

25 [0058] Modalidad 12. La composición farmacéutica de

la modalidad 11, en donde la composición se formula a una concentración de 20 mg/mL (masa de oligonucleótidos) en solución salina tamponada con fosfato con pH 6.8 a 7.8 como una solución acuosa estéril.

5 [0059] Modalidad 13. La composición farmacéutica de la modalidad 12, en donde la composición tiene una osmolalidad de entre 350 y 500 mOsM/kg.

 [0060] Modalidad 14. Un método para tratar una enfermedad, trastorno y/o afección oftalmológica, el método
10 que comprende la administración intravítrea de la composición farmacéutica de cualquiera de las modalidades 6 a 8 en una dosis de entre 3 y 5 mg/ojo a un sujeto que la necesite.

 [0061] Modalidad 15. El método de la modalidad 14, en donde la dosis administrada es de aproximadamente 2 mg/ojo.

15 [0062] Modalidad 16. El método de la modalidad 15, en donde se inyectan 100 µl por ojo.

 [0063] Modalidad 17. El método de cualquiera de las modalidades 14 a 16, en donde la enfermedad, trastorno y/o afección oftalmológica se selecciona del grupo que consiste en
20 atrofia geográfica secundaria a degeneración macular asociada a la edad, degeneración macular asociada a la edad seca (DMAE seca), degeneración macular asociada a la edad húmeda (DMAE húmeda), degeneración macular asociada a la edad neovascular (DMAEn), oclusión venosa retiniana (OVR), edema macular
25 diabético (EMD), retinopatía diabética (RD), síndrome de Usher

tipo 1, síndrome de Usher tipo 2, síndrome de Usher tipo 3,
 enfermedad de Stargardt, uveítis, daltonismo rojo-verde,
 monocromía de conos azules, amaurosis congénita de Leber
 (ACL), neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL),
 5 neuromielitis óptica (NMO), coroideremia, retinosquiasis ligada
 al cromosoma X (RSLX), síndrome de Bardet-Biedl, distrofia de
 conos, atrofia óptica, retinitis pigmentaria, degeneración de
 las células ganglionares de la retina (CGR) relacionada con la
 edad, enfermedad de Best, glaucoma, oftalmopatía de Graves,
 10 pérdida de visión asociada a la esclerosis múltiple (EM),
 miopía, albinismo ocular recesivo ligado al cromosoma X,
 albinismo oculocutáneo tipo 1, neuritis óptica, vasculopatía
 coroidea polipoidea, retinitis pigmentaria ligada al cromosoma
 X (RPLX), acromatopsia (ACHM), distrofia retiniana asociada a
 15 la mutación bialélica de RPE65, vasculopatía coroidea
 polipoidea idiopática, drusas de alto riesgo y una afección
 seleccionada del grupo que consiste en factores de riesgo para
 la progresión a atrofia incompleta del EPR y de la retina
 exterior (iRORA), iRORA, atrofia geográfica incipiente (nGA) y
 20 atrofia completa del EPR y de la retina exterior (cRORA).

[0064] Modalidad 18. El método de cualquiera de las
 modalidades 14 a 17, en donde la dosis se administra una vez
 al mes.

[0065] Modalidad 19. El método de cualquiera de las
 25 modalidades 14 a 18, en donde la dosis se administra una vez

al mes hasta 12 meses.

[0066] Modalidad 20. La sustancia farmacológica de cualquiera de las modalidades 8 a 10 o la composición farmacéutica de cualquiera de las modalidades 11 a 13 para
5 uso como medicamento.

[0067] Modalidad 21. La sustancia farmacológica de cualquiera de las modalidades 8 a 10 o la composición farmacéutica de cualquiera de las modalidades 11 a 13 para uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno y/o
10 afección oftalmológica.

[0068] Modalidad 22. La sustancia farmacológica o la composición farmacéutica para uso de la modalidad 21, en donde la enfermedad, trastorno y/o afección oftalmológica se selecciona del grupo que consiste en atrofia geográfica
15 secundaria a degeneración macular asociada a la edad, degeneración macular asociada a la edad seca (DMAE seca), degeneración macular asociada a la edad húmeda (DMAE húmeda), degeneración macular asociada a la edad neovascular (DMAEn), oclusión venosa retiniana (OVR), edema macular diabético
20 (EMD), retinopatía diabética (RD), síndrome de Usher tipo 1, síndrome de Usher tipo 2, síndrome de Usher tipo 3, enfermedad de Stargardt, uveítis, daltonismo rojo-verde, monocromía de conos azules, amaurosis congénita de Leber (ACL), neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL), neuromielitis óptica
25 (NMO), coroideremia, retinosquiasis ligada al cromosoma X

(RSLX), síndrome de Bardet-Biedl, distrofia de conos, atrofia
 óptica, retinitis pigmentaria, degeneración de las células
 ganglionares de la retina (CGR) relacionada con la edad,
 enfermedad de Best, glaucoma, oftalmopatía de Graves, pérdida
 5 de visión asociada a la esclerosis múltiple (EM), miopía,
 albinismo ocular recesivo ligado al cromosoma X, albinismo
 oculocutáneo tipo 1, neuritis óptica, vasculopatía coroidea
 polipoidea, retinitis pigmentaria ligada al cromosoma X
 (RPLX), acromatopsia (ACHM), distrofia retiniana asociada a la
 10 mutación bialélica de RPE65, vasculopatía coroidea polipoidea
 idiopática, drusas de alto riesgo y una afección seleccionada
 del grupo que consiste en factores de riesgo para la
 progresión a iRORA, iRORA, nGA y cRORA.

[0069] Los siguientes ejemplos se proporcionan
 15 únicamente con fines ilustrativos y no pretenden limitar la
 invención en modo alguno.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis del avacincaptad pegol de acuerdo con el
 20 **arte previo**

[0070] El oligonucleótido 5' NH₂-
 fCmGfCfCGfCmGmGfUfCfUfCmAmGmGfCGfCfUmGmAmGfUfCfUmGmAmGfUfUfUA
 fCfCfUmGf CmG-3T-3' (ID de SEC NO: 1), se sintetizó en un
 sintetizador de ADN Expedite (ABI, Foster City, Calif.) de
 25 acuerdo con los procedimientos recomendados por el fabricante

utilizando ARN 2'-OMe y ARN 2'-F estándar disponibles
comercialmente y fosforamiditas de ARN protegidas con terc-
butildimetilsililo (TBDMS) (Glen Research, Sterling, VA) y un
soporte de vidrios de poros controlados (CPG, Controlled Pore
5 Glass) invertido de desoxitimidina. La función amina terminal
se fijó con un modificador 5'-amino C6-TFA (Glen Research,
Sterling, VA). Tras la desprotección, los oligonucleótidos se
purificaron mediante cromatografía de intercambio iónico en
resina Super Q 5PW (30) (ToSoh BioSciences) y se precipitaron
10 con etanol.

[0071] El aptámero modificado con aminas se conjugó
con diferentes fracciones de PEG de manera sintética
posteriormente. El aptámero se disolvió en una solución de
agua/DMSO (1:1) hasta una concentración entre 1.5 y 3 mM. Se
15 añadió tampón de carbonato de sodio, pH 8.5, hasta una
concentración final de 100 mM, y el oligo se hizo reaccionar
durante la noche con un exceso molar de 1.7 del reactivo de
PEG deseado (por ejemplo, SUNBRIGHT® GL2-400NP, SUNBRIGHT®
GL2-400TS (NOF Corp, Japón), o éster ARC187 40 kDa mPEG2-NHS
20 (Nektar, Huntsville, Ala.)) disuelto en volumen igual de
acetonitrilo. Los productos resultantes se purificaron
mediante cromatografía de intercambio iónico en resina Super
Q 5PW (30) (Tosoh Biosciences) y se desalaron utilizando
cromatografía de fase inversa realizada en resina Amberchrom™
25 CG300-S (Rohm and Haas), y se liofilizaron.

Ejemplo 2: Método sintético mejorado para Avacincaptad pegol ultrapuro

[0072] Más adelante se describe el método sintético mejorado que produce el Avacincaptad pegol ultrapuro de esta
5 invención.

[0073] El oligonucleótido (ARC672) 5' NH₂-
fCmGfCfCGfCmGmGfUfCfUfCmAmGmGfCGfCfUmGmAmGfUfCfUmGmAmGfUfUfUA
fCfCfUmGf CmG-3T-3' (ID de SEC NO: 1), se sintetizó en un
OligoPilot 400 (Cytiva life sciences, Marlborough, MA) u otro
10 sintetizador similar de acuerdo con los procedimientos
recomendados por el fabricante utilizando ARN 2'-OMe y ARN
2'-F disponibles comercialmente y fosforamiditas de ARN
protegidas con TBDMS (Thermo Scientific, Milwaukee, WI;
Hongene Biotech, Shanghai, China; Sigma-Aldrich, Hamburgo,
15 Alemania) y un soporte de CPG invertido de desoxitimidina
(Prime Synthesis, Aston, PA). La función amina terminal se
fijó con un modificador 5'-amino C6-TFA (Sigma-Aldrich,
Hamburgo, Alemania). Tras la escisión y la desprotección, los
oligonucleótidos (ARC672) se concentraron y desalaron
20 mediante membranas Hydrosart de corte (Sartorius Stedim
Biotech) de 5 kDa de peso molecular (PM) o membranas
similares de otros fabricantes, seguidas de purificación
utilizando cromatografía de intercambio iónico con resina TSK
Gel SuperQ-5PW (ToSoh BioSciences). Antes de la PEGilación,
25 la fracción de purificación de oligonucleótidos (ARC672) se

concentra y se desala mediante membranas de corte de PM de 5 kDa y se concentra de nuevo.

[0074] El aptámero (ARC672) modificado por aminos se conjugó con fracciones de PEG de manera sintética
 5 posteriormente. La solución concentrada del aptámero (ARC672) se diluyó en tampón de borato sódico (pH 8-10) y DMSO. El aptámero se hizo reaccionar durante menos de una hora con menos de 1.5 equivalentes del reactivo de PEG deseado (por ejemplo, SUNBRIGHT® GL2-400TS de NOF Corp, Japón) disuelto en
 10 DMSO. El producto resultante ARC1905 se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico utilizando resina TSK Gel SuperQ-5PW (Tosoh Biosciences). La ultrafiltración de la fracción de purificación del ARC1905 se llevó a cabo utilizando una membrana de corte de peso molecular de 10 kDa
 15 para desalarlo y, luego, se liofilizó.

[0075] El método sintético mejorado se describe detalladamente más adelante:

Etapa I: Síntesis y Aislamiento de ACP no PEGilado

20 1. Síntesis

[0076] La fabricación del avacincaptad pegol comenzó con la síntesis iterativa del avacincaptad pegol no PEGilado (ACP no PEGilado) en soporte sólido. El oligonucleótido 5' NH₂-
 fCmGfCfCGfCmGmGfUfCfUfCmAmGmGfCGfCfUmGmAmGfUfCfUmGmAmGfUfUfUA
 25 fCfCfUmGf CmG-3T-3' (ID de SEC NO: 1), se sintetizó en un

sintetizador de oligonucleótidos OligoProcess™ (Cytiva Life Sciences, Marlborough, MA) o en un sintetizador de oligonucleótidos de diferentes proveedores de acuerdo con los procedimientos recomendados por el fabricante utilizando ARN 2'-OMe y ARN 2'-F disponibles comercialmente y fosforamiditas de ARN protegidas con TBDMS y un soporte de CPG invertido de desoxitimidina (LGC BioSearch Technologies, Novato, CA). El proceso de síntesis de oligonucleótidos se comprendió de cuatro reacciones químicas llevadas a cabo en la siguiente secuencia:

1. Desbloqueo del nucleósido protegido o del oligonucleótido inicial (Destritilación)
2. Activación y acoplamiento del fosforamidito entrante (Acoplamiento)
3. Oxidación del triéster fosfito resultante P(III) al enlace fosfato P(V) (Oxidación); y
4. Bloqueo (*capping*) de las cadenas de oligonucleótidos que no se acoplaron con éxito (Bloqueo)

[0077] Los cuatro pasos anteriores se repitieron en secuencia hasta que se sintetizó el oligonucleótido deseado, terminado en el enlazador hexilamino. La función amina terminal se fijó con un modificador 5'-amino C6-TFA (Sigma-Aldrich, Hamburgo, Alemania).

[0078] El uso de amidita 0.2M y activador 0.5M durante el paso de síntesis condujo a una mejora de la pureza. Al finalizar la síntesis, la columna de síntesis se

lavó con dietilamina para remover los grupos protectores cianoetilo, lo que también condujo a una pureza mejorada.

2. Escisión y Desprotección

5 [0079] Los siguientes pasos implicaron la escisión del ACP no PEGilado del soporte sólido, la remoción de los grupos protectores de la base y la desprotección de los ribonucleósidos protegidos con sililo. Se añadió amoníaco y/o base de alquilamina al tanque de desprotección caliente, que
10 luego se recirculó a través de la columna de síntesis. Se recogió la mezcla de reacción de escisión y desprotección. Se añadió trihidrofluoruro de trietilamina (TEA-3HF) al tanque de desprotección y se calentó la mezcla para facilitar la desililación y se ajustó el pH a 6 - 8.

15 [0080] El uso de volúmenes definidos de amoníaco y de base de alquilamina resultó en menos especies no pEGilables y sin sililo (*silyl-off*) en la reacción de desprotección y de esta manera condujo a una mejora de la pureza. Realizar la reacción de desililación durante un tiempo definido resultó
20 en un aumento del rendimiento, generando de esta manera a una mejora de la pureza.

Etapas II: Purificación del ACP no PEGilado

1. Ultrafiltración/Diafiltración del Material Bruto

25 [0081] Tras la escisión y desprotección, se realizó

una ultrafiltración/diafiltración del material bruto para conseguir la reducción de volumen y la remoción de disolventes. La mezcla del material bruto del paso de escisión y desprotección se concentró y se diafiltró
5 utilizando membranas Hydrosart de ultrafiltración (UF) (Sartorius Stedim Biotech) de corte de peso molecular nominal (MWCO, Molecular Weight Cut-Off) o membranas similares de otros fabricantes.

10 2. Cromatografía de Intercambio Aniónico Previa a la PEGilación

[0082] A continuación se realizó una cromatografía de intercambio aniónico (IA) para purificar el ACP no PEGilado antes de la PEGilación. El retentado material bruto se cargó
15 en una columna de cromatografía que contenía resina de cromatografía TSKgel® SuperQ-5PW de Tosoh Bioscience o una resina similar de otros fabricantes. Se utilizó un gradiente de sal de bromuro de sodio para purificar el ACP no PEGilado a una temperatura mayor que 45°C.

20

3. Ultrafiltración/ Diafiltración (UF/DF2) Previa a la PEGilación

[0083] Luego, se realizó un paso de ultrafiltración/diafiltración previa a la PEGilación para
25 lograr la reducción de volumen y el intercambio de tampones.

La solución de ACP purificada no PEGilada se concentró y desaló utilizando una membrana de ultrafiltración de MWCO de 5 kDa o 10 kDa o una membrana similar de otros fabricantes.

5 4. Concentración

[0084] El retentado del paso anterior se concentró aún más antes de la PEGilación utilizando destilación al vacío (es decir, evaporador rotativo, concentrador) o evaporador de película fina para reducir el volumen.

10

Etapas III. PEGilación

[0085] Se formó un enlace covalente específico del sitio entre la amina primaria en el extremo 5' del ACP no-PEGilado y el reactivo de PEGilación (éster mPEG2-NHS) para
15 formar la sustancia farmacológica bruta avacincaptad pegol. La solución de ACP no-PEGilado se diluyó con tampón de borato sódico y DMSO y con un pH de 8.8 a 9.5. La cantidad necesaria de reactivo de PEGilación, éster mPEG2-NHS, con base en una relación molar definida con el ACP no PEGilado se disolvió en
20 DMSO y luego se añadió la solución tamponada de ACP no PEGilado para iniciar la PEGilación. Una vez completada, la PEGilación se enfrió añadiendo agua

[0086] El éster mPEG2-NHS mejoró la eficacia de la reacción y redujo el tiempo del proceso. El uso de 1.1 a 1.5
25 equivalentes de éster de mPEG2-NHS resultó en menos PEG libre

residual que remover, y la PEGilación realizada por encima de la temperatura ambiente resultó en una reducción de exposición térmica, aumentando de esta manera el rendimiento y la eficacia.

5

Etapas IV. Purificación del Avacincaptad Pegol

1. Cromatografía de Intercambio Aniónico Posterior a la PEGilación

[0087] Se utilizó cromatografía de intercambio
10 aniónico (IA) para purificar la sustancia farmacológica bruta tras la PEGilación. La sustancia farmacológica bruta procedente de la etapa de PEGilación se cargó en una columna de cromatografía que contenía resina de cromatografía TSKgel® SuperQ-5PW de Tosoh Bioscience o una resina similar de otros
15 fabricantes. Se utilizó un gradiente de sal de bromuro de sodio para purificar la sustancia farmacológica a una temperatura mayor que 45°C.

2. Ultrafiltración/Diafiltración Posterior a la PEGilación

20 [0088] Luego se realizó un paso de ultrafiltración/desfiltración posterior a la PEGilación para lograr la reducción de volumen y el intercambio de tampones. El avacincaptad pegol purificado se concentró y desaló utilizando una membrana de MWCO nominal de 10 kDa o una
25 membrana similar de otros fabricantes, lo que llevó a

aumentar la retención del producto.

Etapas V. Liofilización

[0089] La solución de la sustancia farmacológica se
5 filtró y se secó por congelación para reducir el contenido de
agua y el producto se empaquetó.

Ejemplo 3: Producto Farmacéutico

[0090] El producto farmacéutico ARC1905 se formuló
10 como una solución acuosa estéril sin conservantes para
inyección intravítrea. Se formuló a una concentración de 20
mg/mL (masa de oligonucleótidos) en solución salina tamponada
con fosfato con pH 6.8 a 7.8 como una solución acuosa
estéril. El producto farmacológico fue estable de 2 a 8°C
15 durante 43 meses.

[0091] La osmolalidad de un lote del producto
farmacéutico se muestra en la Tabla 1 de más adelante:

Tabla 1

Concentración de Oligonucleótidos (mg/mL)	Medios	Osmolalidad Promedio (mOsm/kg) (n=2)
20	10 mM PBS pH 7.3	429

Ejemplo 4: Comparación del Perfil de Pureza del Arte Previo y Métodos de Fabricación Ultrapura

[0092] Las diferencias en el perfil de pureza del
25 producto ACP elaborado por el método del arte previo y por el

método mejorado se describen en la tabla 2 y en la tabla 3 de más adelante:

Tabla 2

Aptámero pre-PEGilado	Proceso del Arte Previo	Intervalos desde Mejora
FLP	80.9%*	88.3 a 91.8 %
Intervalo RRT 1 (escisión G)	2.07%	1.06 a 1.71 %
Intervalo RRT 2 (escisión A)	0.17%	0 a 0.08 %
Intervalo RRT 3 (deleción n-4, n-3, n-2)	1.86%	0.79 a 1.05 %
Intervalo RRT 4 (Fluoro Degradantes, deleción n -1)	5.45%	2.12 a 2.86 %
Intervalo RRT 5 (n+1 Adiciones)	0.66%	0.38 a 0.66 %
Intervalo RRT 6 (Fallos de Desprotección)	3.94%	0.55 a 1.00 %

* FLP puede contener ~4% de impurezas de metilación

FLP = producto de longitud completa

Escisión G = productos de la escisión del ACP no PEGilado en la posición(es) de G en la secuencia

Escisión A = productos de la escisión del ACP no PEGilado en la posición de A en la secuencia

Tabla 3

ACP	Proceso del Arte Previo	Intervalos de Mejora
FLP	90.6%*	93.0 a 94.0 %
RRT 1 (≥ 0.93 - <FLP)	1.30%	1.97 a 2.65 %
RRT 2 (>FLP - ≤ 1.20)	8.15%	3.00 a 4.74 %

* FLP puede contener ~4% de impurezas de metilación

[0093] En algunas modalidades, el contenido de endotoxina en la sustancia farmacéutica ultrapura es menor que 0.2 UE/dosis. En una modalidad, el contenido de endotoxina en el producto farmacéutico es de aproximadamente

0.14 UE/dosis, preferiblemente de aproximadamente 0.05 UE/dosis.

Ejemplo 5: Potencia de la Sustancia Farmacológica Ultrapura

5 [0094] La potencia del intermedio ultrapuro y de la sustancia farmacológica se midió mediante ELISA. El ensayo ELISA se basa en la inducción de la cascada del complemento por el lipopolisacárido (LPS) y la cuantificación de la formación de C5b9. Cuanto mayor sea la potencia que tenga la sustancia farmacológica ACP, menor será la cantidad de C5b9
10 que se detecte. El resultado se expresa como potencia relativa (%) en comparación con el material de referencia estándar de ACP.

 [0095] Con base en los resultados de ELISA, la
15 sustancia farmacológica ultrapura fue al menos un 5% más potente en comparación con el producto elaborado de acuerdo con la técnica anterior de síntesis.

Ejemplo 6: Comparación de la Potencia de los Métodos de 20 Fabricación del Arte Previo y Ultrapura

 [0096] La potencia de las fracciones de impureza del producto ACP fabricado por el método del arte previo y el método mejorado se midió mediante ELISA. Las fracciones de impurezas recogidas se muestran en la **Figura 1**. La
25 comparación de los datos se muestra en la Tabla 4.

[0097] Los resultados muestran que las fracciones de impurezas previas y posteriores al FLP del proceso del arte previo tienen mayor potencia que las del proceso de fabricación mejorado. Esto demuestra que el proceso mejorado

5 tiene una alta resolución y eficacia de purificación.

Tabla 4. Comparación de los Datos de Potencia para las Fracciones de Impurezas entre el Proceso del Arte Previo y el Proceso de Fabricación Mejorado

10	Fracciones de Purificación Posteriores a la PEGilación	Proceso Mejorado	Arte Previo
	Fracción de Impureza previa al FLP1	12%	21%
	Fracción de Impureza previa al FLP2	53%	53%
	Fracción de Impureza posterior al FLP1	22%	57%
15	Fracción de Impureza posterior al FLP2	21%	35%