

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 070**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 39/395</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/485</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/10</b>	(2007.01)
<b>A61K 47/22</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/26</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/18</b>	(2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2011 PCT/US2011/020457**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11085158**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2011 E 11703294 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2521536**

54 Título: **Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-receptor de la interleucina 6 (IL-6R)**

30 Prioridad:

**08.01.2010 US 293227 P**  
**07.01.2011 US 986223**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.10.2018**

73 Titular/es:

**REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.**  
**(100.0%)**  
**777 Old Saw Mill River Road**  
**Tarrytown, NY 10591-6707, US**

72 Inventor/es:

**DIX, DANIEL, B.;**  
**GRAHAM, KENNETH, S.;**  
**KAMEN, DOUGLAS, E. y**  
**WALSH, SCOTT, M.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 688 070 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-receptor de la interleucina 6 (IL-6R)

### 5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de las formulaciones de anticuerpos terapéuticos. De manera más específica, la presente invención se refiere al campo de las formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une de modo específico al receptor de la interleucina 6 humana.

10

### **Antecedentes**

Las macromoléculas terapéuticas (por ejemplo, anticuerpos) deben formularse de manera que no solo las moléculas sean adecuadas para la administración a pacientes sino también para que mantengan su estabilidad durante la conservación. Por ejemplo, los anticuerpos terapéuticos en disolución líquida son propensos a la degradación, la agregación y/o a modificaciones químicas indeseables a menos que la disolución haya sido formulada de modo adecuado. La estabilidad de un anticuerpo en una formulación líquida depende no solo del tipo de excipientes utilizados en la formulación sino también de las cantidades y proporciones de los excipientes entre sí. Además, deben tomarse en cuenta otras consideraciones, además de la estabilidad, cuando se prepara una formulación líquida de anticuerpos. Los ejemplos de estas otras consideraciones incluyen la viscosidad de la disolución y la concentración de anticuerpo que puede alojar una formulación dada. Por lo tanto, cuando se formula un anticuerpo terapéutico debe ponerse mucha atención en conseguir una formulación que permanezca estable, que contenga una concentración adecuada de anticuerpo, y que posea una viscosidad adecuada, así como otras propiedades que permitan que la formulación se administre de forma conveniente a los pacientes.

25

Los anticuerpos contra el receptor de la interleucina 6 humana (hIL-6R) son un ejemplo de una macromolécula terapéuticamente importante que requiere una formulación adecuada. Los anticuerpos anti-hIL-6R tienen una utilidad clínica para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, tales como la artritis reumatoide, la espondilitis anquilosante y otras afecciones. Los ejemplos de anticuerpos anti-IL-6R se describen, entre otros, en las patentes US-7.582.298; US-6.410.691; US-5.817.790; US-5.795.695; y US-6.670.373. Un anticuerpo anti-hIL-6R particularmente importante con un gran potencial terapéutico es el anticuerpo denominado VQ8F-11-21 en la patente US-7.582.298 (también denominado en la presente "mAb1").

30

Aunque los anticuerpos anti-hIL-6R son conocidos, siguen siendo necesarias en la técnica nuevas formulaciones farmacéuticas que comprendan anticuerpos anti-hIL-6R que sean suficientemente estables y también adecuadas para la administración a pacientes.

35

### **Breve resumen de la invención**

La presente invención satisface la necesidad mencionada anteriormente proporcionando formulaciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo humano que se une de modo específico a un receptor de la interleucina 6 humana (hIL-6R).

40

La presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor de la interleucina 6 humana (hIL-6R), en la que el anticuerpo está en una concentración de 5 mg/ml a 200 mg/ml y comprende una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una región variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26; (ii) histidina a una concentración de 10 mM a 25 mM; (iii) arginina a una concentración de 25 mM a 50 mM; (iv) sacarosa en una cantidad de 5 % a 10 % p/v; y (v) polisorbato 20 en una cantidad de 0,1 % a 0,2 % p/v.

45

50

Las formulaciones de anticuerpos pueden estar contenidas en cualquier envase adecuado útil para almacenar formulaciones farmacéuticas. Ejemplos de tales envases adecuados incluyen, p.ej., viales, jeringas y cartuchos de vidrio o plástico. El envase puede ser transparente u opaco (p.ej., color ámbar).

55

Según ciertos aspectos, las formulaciones farmacéuticas permanecen relativamente estables tras una conservación durante varios días, meses o años a una temperatura dada. Por ejemplo, en ciertos ejemplos de realizaciones, un alto porcentaje del anticuerpo (por ejemplo, 90 %, 95 %, 96 % o más) se mantiene en su forma nativa tras al menos 3, 6, 9 o más meses de conservación. El porcentaje de la forma nativa del anticuerpo puede medirse, por ejemplo, mediante SE-HPLC, o mediante cualquier otro método conocido en la técnica. La temperatura de conservación a la cual se mantiene la estabilidad del anticuerpo puede ser, por ejemplo, -80 °C, -40 °C, -20 °C, 0 °C, 5 °C, 25 °C, 45 °C, o mayor.

60

### **Breve descripción de las figuras**

La Figura 1 muestra el porcentaje de mAb1 nativo restante, medido mediante SE-HPLC, tras diversas cantidades de tiempo de conservación a -20 °C (triángulos negros), -30 °C (cuadrados negros), y -80 °C (rombos negros).

65

La Figura 2 muestra el porcentaje de especies ácidas del mAb1, medido mediante CEX-HPLC, tras diversos períodos de tiempo de conservación a -20 °C (triángulos negros), -30 °C (cuadrados negros), y -80 °C (rombos negros).

5 La Figura 3 muestra el porcentaje de mAb1 nativo restante en diversas formulaciones con una cantidad mínima de excipientes, medido mediante SE-HPLC, tras diversas cantidades de tiempo de conservación a -30 °C. Los rombos negros representan la formulación 1 (mAb1 80 mg/ml, polisorbato 20 0,13 %, sacarosa 6 %, histidina 10 mM); los cuadrados negros representan la formulación 2 (mAb1 80 mg/ml, polisorbato 20 0,13 %, histidina 10 mM); los triángulos negros representan la formulación 3 (mAb1 80 mg/ml, sacarosa 1 %, histidina 10 mM); los cuadrados blancos representan la formulación 4 (mAb1 80 mg/ml, sacarosa 2 %, histidina 10 mM); los asteriscos representan la formulación 5 (mAb1 80 mg/ml, sacarosa 4 %, histidina 10 mM); los círculos negros representan la formulación 6 (mAb1 80 mg/ml, sacarosa 6 %, histidina 10 mM); las cruces representan la formulación 7 (anticuerpo 80 mg/ml, histidina 10 mM); y los círculos blancos representan la formulación 8 (anticuerpo 65 mg/ml, histidina 10 mM). Todas las formulaciones se indican en la tabla 6 (véase el ejemplo 2, a continuación).

15 La Figura 4 muestra el porcentaje de mAb1 nativo restante en diversas formulaciones con una cantidad mínima de excipientes, medido mediante SE-HPLC, después de diversos períodos de tiempo de conservación a -20 °C. Los rombos negros representan la formulación 1 (mAb1 80 mg/ml, polisorbato 20 0,13 %, sacarosa 6 %, histidina 10 mM); los cuadrados negros representan la formulación 2 (mAb1 80 mg/ml, polisorbato 20 0,13 %, histidina 10 mM); los triángulos negros representan la formulación 3 (mAb 80 mg/ml, sacarosa 1 %, histidina 10 mM); los cuadrados blancos representan la formulación 4 (mAb1 80 mg/ml, sacarosa 2 %, histidina 10 mM); los asteriscos representan la formulación 5 (mAb1 80 mg/ml, sacarosa 4 %, histidina 10 mM); los círculos negros representan la formulación 6 (mAb1 80 mg/ml, sacarosa 6 %, histidina 10 mM); las cruces representan la formulación 7 (anticuerpo 80 mg/ml, histidina 10 mM); y los círculos blancos representan la formulación 8 (anticuerpo 65 mg/ml, histidina 10 mM). Todas las formulaciones se indican en la tabla 6 (véase el ejemplo 2, a continuación).

#### Descripción detallada

30 Salvo que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el significado habitualmente asignado por los expertos en la materia a la que pertenece esta invención. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “aproximadamente”, cuando se emplea haciendo referencia a un valor numérico citado concreto, significa que el valor puede variar desde el valor citado en no más del 1 %. Por ejemplo, tal como se utiliza en la presente memoria la expresión “aproximadamente 100” incluye 99 y 101, y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

35 Aunque se pueden usar cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria para la práctica o ensayo de la presente invención, se describen a continuación los métodos y materiales preferidos.

#### 40 FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

Tal como se utiliza en la presente memoria la expresión “formulación farmacéutica” significa una combinación de al menos un principio activo (por ejemplo, una molécula pequeña, una macromolécula, un compuesto, etc., que es capaz de ejercer un efecto biológico en un ser humano o en un animal no humano), y al menos un ingrediente inactivo que, cuando se combina con el principio activo y/o uno o más ingredientes inactivos adicionales, es adecuada para la administración terapéutica a un ser humano o a un animal no humano. El término “formulación”, tal como se utiliza en la presente memoria significa “formulación farmacéutica” a menos que se indique lo contrario de modo específico. Ejemplos específicos de componentes y formulaciones incluidos dentro de la presente invención se describen con detalle a continuación.

50 Las formulaciones farmacéuticas pueden, en ciertas realizaciones, ser formulaciones líquidas. Como se usa en la presente memoria, la expresión “formulación líquida” significa una mezcla de al menos dos componentes que existe predominantemente en el estado líquido a aproximadamente 5 °C a aproximadamente 45 °C. Las formulaciones líquidas incluyen, entre otras, formulaciones líquidas. Las formulaciones líquidas pueden ser de baja, moderada o alta viscosidad dependiendo de sus constituyentes particulares

#### ANTICUERPOS QUE SE UNEN ESPECÍFICAMENTE A hIL-6R

60 Las formulaciones farmacéuticas invención comprenden un anticuerpo humano, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une de modo específico a hIL-6R. Tal como se utiliza en la presente memoria el término “hIL-6R” significa un receptor de citocina humano que se une de modo específico a la interleucina 6 (IL-6). En ciertas realizaciones, el anticuerpo contenido en las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación se une de modo específico al dominio extracelular de hIL-6R. El dominio extracelular de hIL-6R está representado por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:74.

65 El término “anticuerpo”, tal como se usa en la presente memoria, pretende hacer referencia, en general, a moléculas

de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como a sus multímeros (por ejemplo, IgM); sin embargo, las moléculas de inmunoglobulina que están compuestas solo por cadenas pesadas (es decir, que carecen de cadenas ligeras) también se incluyen dentro de la definición del término "anticuerpo". Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (que se abrevia en la presente memoria como HCVR o VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de la cadena pesada está compuesta por tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera está compuesta por una región variable de la cadena ligera (que se abrevia en la presente memoria como LCVR o VL) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones VH y VL pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones flanqueantes (FR). Cada VH y VL está compuesta de tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxílico en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

A menos que se indique específicamente lo contrario, deberá entenderse que el término "anticuerpo", tal como se utiliza en la presente memoria, incluye moléculas de anticuerpo completas así como fragmentos de unión al antígeno del mismo. La expresión "porción de unión al antígeno" o "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de un anticuerpo" o "fragmento de un anticuerpo"), tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse de modo específico a hIL-6R.

Un "anticuerpo aislado", tal como se utiliza en la presente memoria pretende hacer referencia a un anticuerpo que está sustancialmente exento de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une de modo específico a hIL-6R está sustancialmente exento de anticuerpos que se unen de modo específico a antígenos diferentes de hIL-6R).

La expresión "se une de modo específico," o similares, significa que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. La unión específica puede caracterizarse por una constante de disociación de al menos aproximadamente  $1 \times 10^{-6}$  M o mayor. En la técnica son bien conocidos los métodos para determinar si dos moléculas se unen de modo específico, e incluyen, por ejemplo, la diálisis en equilibrio, la resonancia de plasmón de superficie, y similares. Un anticuerpo aislado que se une de modo específico a hIL-6R, sin embargo, puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de IL-6R de otras especies. En el contexto de la presente divulgación, se considera que los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) que se unen a hIL-6R, así como a uno o más antígenos adicionales, se "unen de modo específico" a hIL-6R. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente exento de otros materiales celulares y/o productos químicos.

El anticuerpo anti-hIL-6R comprende una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 18. El anticuerpo anti-hIL-6R comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 26.

Un ejemplo de anticuerpo no limitante utilizado en los ejemplos de la presente memoria se denomina "mAb1". Este anticuerpo también se menciona en la patente US-7.582.298 como VQ8F11-21. El mAb1 (VQ8F11-21) comprende un par de secuencias de aminoácidos HCVR/LCVR que tienen SEQ ID NOs: 18/26, y dominios HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 representados por las SEQ ID NOs: 20 - 22 - 24/SEQ ID NOs: 28 - 30 - 32.

La formulación farmacéutica de acuerdo con la invención contiene de 5 mg/ml a 200 mg/ml de anticuerpo; aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 180 mg/ml de anticuerpo; de aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml de anticuerpo; o de aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 180 mg/ml de anticuerpo. Por ejemplo, las formulaciones pueden comprender 5 mg/ml; aproximadamente 10 mg/ml; aproximadamente 15 mg/ml; aproximadamente 20 mg/ml; aproximadamente 25 mg/ml; aproximadamente 30 mg/ml; aproximadamente 35 mg/ml; aproximadamente 40 mg/ml; aproximadamente 45 mg/ml; aproximadamente 50 mg/ml; aproximadamente 55 mg/ml; aproximadamente 60 mg/ml; aproximadamente 65 mg/ml; aproximadamente 70 mg/ml; aproximadamente 75 mg/ml; aproximadamente 80 mg/ml; aproximadamente 85 mg/ml; aproximadamente 86 mg/ml; aproximadamente 87 mg/ml; aproximadamente 88 mg/ml; aproximadamente 89 mg/ml; aproximadamente 90 mg/ml; aproximadamente 95 mg/ml; aproximadamente 100 mg/ml; aproximadamente 105 mg/ml; aproximadamente 110 mg/ml; aproximadamente 115 mg/ml; aproximadamente 120 mg/ml; aproximadamente 125 mg/ml; aproximadamente 130 mg/ml; aproximadamente 131 mg/ml; aproximadamente 132 mg/ml; aproximadamente 133 mg/ml; aproximadamente 134 mg/ml; aproximadamente 135 mg/ml; aproximadamente 140 mg/ml; aproximadamente 145 mg/ml; aproximadamente 150 mg/ml; aproximadamente 155 mg/ml; aproximadamente 160 mg/ml; aproximadamente 165 mg/ml; aproximadamente 170 mg/ml; aproximadamente 175 mg/ml; aproximadamente 180 mg/ml; aproximadamente 185 mg/ml; aproximadamente 190 mg/ml; aproximadamente 195 mg/ml; o 200 mg/ml de un anticuerpo que se une específicamente a hIL-6R.

**EXCIPIENTES Y PH**

5 Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación comprenden uno o más excipientes. El término "excipiente", como se usa en la presente memoria, significa cualquier agente no terapéutico añadido a la formulación para proporcionar una consistencia deseada, viscosidad o efecto estabilizante. La formulación farmacéutica de la invención comprende dos aminoácidos: histidina a una concentración de 10 a 25 mM y arginina a una concentración de 25 a 50 mM.

10 En ciertas realizaciones, las formulaciones pueden contener histidina a una concentración de 10 mM; aproximadamente 10,5 mM; aproximadamente 11 mM; aproximadamente 11,5 mM; aproximadamente 12 mM; aproximadamente 12,5 mM; aproximadamente 13 mM; aproximadamente 13,5 mM; aproximadamente 14 mM; aproximadamente 14,5 mM; aproximadamente 15 mM; aproximadamente 15,5 mM; 16 mM; aproximadamente 16,5 mM; aproximadamente 17 mM; aproximadamente 17,5 mM; aproximadamente 18 mM; aproximadamente 18,5 mM; aproximadamente 19 mM; aproximadamente 19,5 mM; aproximadamente 20 mM; aproximadamente 20,5 mM; aproximadamente 21 mM; aproximadamente 21,5 mM; aproximadamente 22 mM; aproximadamente 22,5 mM; aproximadamente 23 mM; aproximadamente 23,5 mM; aproximadamente 24 mM; aproximadamente 24,5 mM; o 25 mM.

20 En ciertas realizaciones, las formulaciones pueden contener arginina a una concentración de 25 mM; aproximadamente 25,5 mM; aproximadamente 26 mM; aproximadamente 26,5 mM; aproximadamente 27 mM; aproximadamente 27,5 mM; aproximadamente 28 mM; aproximadamente 28,5 mM; aproximadamente 29 mM; aproximadamente 29,5 mM; aproximadamente 30 mM; aproximadamente 35 mM; aproximadamente 40 mM; aproximadamente 45 mM; o 50 mM.

25 La cantidad de azúcar contenida dentro de las formulaciones farmacéuticas es de 5 % a 10 % p/v. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden comprender 5,0 %; aproximadamente 5,5 %; aproximadamente 6,0 %; 6,5 %; aproximadamente 7,0 %; aproximadamente 7,5 %; aproximadamente 8,0 %; aproximadamente 8,5 %; aproximadamente 9,0 %; aproximadamente 9,5 %; 10 %. El azúcar es sacarosa

30 Las formulaciones farmacéuticas comprenden un tensioactivo, concretamente polisorbato 20. El polisorbato 20 también se conoce como TWEEN 20, monolaurato de sorbitán y monolaurato de polioxietilensorbitán.

35 La cantidad de tensioactivo contenido dentro de las formulaciones farmacéuticas es de 0,1 % a 0,2 % p/v. Por ejemplo, las formulaciones pueden comprender 0,10 %; aproximadamente 0,11 %; aproximadamente 0,12 %; aproximadamente 0,13 %; aproximadamente 0,14 %; aproximadamente 0,15 %; aproximadamente 0,16 %; aproximadamente 0,17 %; aproximadamente 0,18 %; aproximadamente 0,19 %; 0,20 %.

40 Las formulaciones farmacéuticas pueden tener un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 8,0. Por ejemplo, las formulaciones pueden tener un pH de aproximadamente 5,0; aproximadamente 5,2; aproximadamente 5,4; aproximadamente 5,6; aproximadamente 5,8; aproximadamente 6,0; aproximadamente 6,2; aproximadamente 6,4; aproximadamente 6,6; aproximadamente 6,8; aproximadamente 7,0; aproximadamente 7,2; aproximadamente 7,4; aproximadamente 7,6; aproximadamente 7,8; o aproximadamente 8,0.

**EJEMPLOS DE FORMULACIONES**

45 De acuerdo con un aspecto de la presente divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-6R (p.ej., mAb1); (ii) un aminoácido (p.ej., histidina); y (iii) un azúcar (p.ej., sacarosa). Ejemplos de realizaciones específicas, no limitativas, abarcadas por este aspecto de la divulgación, se exponen en la Tabla 1. Estas formulaciones no están dentro del alcance de las reivindicaciones

50 **Tabla 1: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina y sacarosa**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	1	1	1	1	2	2	2	2	4	4	4	4	6	6	6	6

55 De acuerdo con otro aspecto de la presente divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-6R (por ejemplo, mAb1); (ii) un aminoácido (por ejemplo, histidina); (iii) un azúcar (por ejemplo, sacarosa); y (iv) un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 20). Las realizaciones específicas, no limitativas, abarcadas por este aspecto de la divulgación se exponen en las Tablas 2A y 2B (que no están en el alcance de las reivindicaciones).

**Tabla 2A: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa y polisorbato 20**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

5 **Tabla 2B: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa y polisorbato 20**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

10 De acuerdo con otro aspecto de la presente divulgación, la formulación farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo humano que se une específicamente a hIL-6R (por ejemplo, mAb1); (ii) un primer aminoácido (por ejemplo, histidina); (iii) un azúcar (por ejemplo, sacarosa); (iv) un tensioactivo (por ejemplo, polisorbato 20); y (v) un segundo aminoácido (por ejemplo, arginina). En las Tablas 3A, 3B, 3C, 3D, 3E y 3F se exponen realizaciones específicas, no limitativas, abarcadas por este aspecto de la divulgación. Las formulaciones de las Tablas 3A y 3C no están dentro del alcance de las reivindicaciones. Las formulaciones de las primeras cuatro columnas en las Tablas 3B, 3D, 3E, 3F no están dentro del alcance de las reivindicaciones.

15

**Tabla 3A: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

20 **Tabla 3B: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

**Tabla 3C: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

5 **Tabla 3D: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

10 **Tabla 3E: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina**

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

**Tabla 3F: Ejemplos de formulaciones farmacéuticas que comprenden mAb1, histidina, sacarosa, polisorbato 20 y arginina**

mAb1 (mg/ml)	160	170	175	180	160	170	175	180	160	170	175	180
histidina (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sacarosa (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polisorbato 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginina (mM)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

Otros ejemplos no limitantes de formulaciones farmacéuticas incluidas en la presente divulgación se indican en otros

apartados en la presente, incluyendo los ejemplos de trabajo presentados a continuación.

### ESTABILIDAD Y VISCOSIDAD DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS

5 Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación muestran generalmente unos altos niveles de estabilidad. El término “estable”, tal como se emplea en la presente memoria en referencia a las formulaciones farmacéuticas, significa que los anticuerpos en las formulaciones farmacéuticas conservan un grado aceptable de estructura y/o función y/o actividad biológica después de su conservación durante una cantidad definida de tiempo. Una formulación puede ser estable incluso si el anticuerpo contenido en ella no conserva el 100 % de su estructura y/o función y/o actividad biológica después de una conservación durante un período de tiempo definido. En ciertas circunstancias, el mantenimiento de aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 % o aproximadamente 99 % de la estructura y/o función y/o actividad biológica de un anticuerpo después de una conservación durante un período de tiempo definido puede considerarse “estable”.

15 La estabilidad puede medirse, entre otras formas, determinando el porcentaje de anticuerpo nativo restante en la formulación después de una conservación durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. El porcentaje de anticuerpo nativo puede determinarse, entre otras formas, mediante cromatografía de exclusión molecular (por ejemplo, una cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión molecular [SE-HPLC]). Un “grado aceptable de estabilidad”, tal como se emplea esta expresión en la presente memoria, significa que al menos 90 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después de una conservación durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. En ciertas realizaciones, al menos aproximadamente 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de la forma nativa del anticuerpo puede detectarse en la formulación después de una conservación durante un período de tiempo definido a una temperatura dada. El período de tiempo definido después del cual se mide la estabilidad puede ser de al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, o más. La temperatura a la que se puede conservar la formulación farmacéutica cuando se evalúa la estabilidad puede ser cualquier temperatura de aproximadamente -80 °C a aproximadamente 45 °C, por ejemplo, una conservación a aproximadamente -30 °C, aproximadamente -20 °C, aproximadamente 0 °C, aproximadamente 5 °C, aproximadamente 25 °C, o aproximadamente 45 °C. Por ejemplo, puede considerarse que una formulación farmacéutica es estable si después de 3 meses de conservación a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. También puede considerarse que una formulación farmacéutica es estable si después de 6 meses de conservación a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. También puede considerarse que una formulación farmacéutica es estable si después de 9 meses de conservación a 5 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. También puede considerarse que una formulación farmacéutica es estable si después de 3 meses de conservación a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. También puede considerarse que una formulación farmacéutica es estable si después de 6 meses de conservación a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC. También puede considerarse que una formulación farmacéutica es estable si después de 9 meses de conservación a 25 °C, se detecta más de aproximadamente 90 %, 95 %, 96 % o 97 % del anticuerpo nativo mediante SE-HPLC.

45 Pueden utilizarse otros métodos para evaluar la estabilidad de las formulaciones de la presente divulgación, como por ejemplo calorimetría de barrido diferencial (DSC) para determinar la estabilidad térmica, la agitación controlada para determinar la estabilidad mecánica, y la absorbancia a aproximadamente 350 nm o a aproximadamente 405 nm para determinar las turbideces de la disolución. Por ejemplo, una formulación de la presente divulgación puede considerarse estable si después de 6 o más meses de conservación de aproximadamente 5 °C a aproximadamente 25 °C, el cambio en la  $DO_{405}$  de la formulación es menor que aproximadamente 0,05 (por ejemplo, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, o menor) con respecto a la  $DO_{405}$  de la formulación a  $t = 0$ .

La estabilidad también puede evaluarse midiendo la actividad biológica y/o la afinidad de unión del anticuerpo a su diana. Por ejemplo, una formulación de la presente divulgación puede considerarse estable si, después de una conservación, por ejemplo, a 5 °C, 25 °C, 45 °C, etc. durante un período de tiempo definido (por ejemplo, de 1 a 12 meses), el anticuerpo anti-IL-6R contenido en la formulación se une a IL-6R con una afinidad que es al menos 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, o más de la afinidad de unión del anticuerpo antes de dicha conservación. Otros métodos para evaluar la estabilidad de un anticuerpo en una formulación se demuestran en los ejemplos que se presentan a continuación.

60 En la forma líquida, las formulaciones farmacéuticas pueden, en ciertas realizaciones, mostrar unos niveles de viscosidad de bajos a moderados. La “viscosidad”, tal como se utiliza en la presente memoria puede ser la “viscosidad cinemática” o la “viscosidad absoluta.” La “viscosidad cinemática” es una medida de la resistencia de flujo de un fluido bajo la influencia de la gravedad. Cuando dos fluidos de igual volumen se colocan en viscosímetros capilares idénticos y se deja que fluyan por gravedad, un fluido viscoso tarda más que un fluido menos viscoso en fluir a través del capilar. Por ejemplo, si un fluido tarda 200 segundos en completar su flujo y otro fluido tarda 400

segundos, el segundo fluido es el doble de viscoso que el primero en una escala de viscosidad cinemática. La “viscosidad absoluta”, a veces denominada viscosidad dinámica o simple, es el producto de la viscosidad cinemática y la densidad del fluido (Viscosidad absoluta = Viscosidad cinemática x Densidad). La dimensión de la viscosidad cinemática es  $L^2/T$ , siendo L una longitud y T un tiempo. Habitualmente, la viscosidad cinemática se expresa en centistokes (cSt). La unidad del SI de la viscosidad cinemática es  $mm^2/s$ , que es 1 cSt. La viscosidad absoluta se expresa en unidades de centipoise (cP). La unidad del SI de la viscosidad absoluta es el milipascal-segundo (mPa-s), donde 1 cP = 1 mPa-s.

Tal como se utiliza en la presente memoria, un nivel bajo de viscosidad, referido a una formulación líquida de la presente divulgación, mostrará una viscosidad absoluta menor de aproximadamente 20 cPoise (cP). Por ejemplo, se considera que una formulación líquida de la divulgación tiene “baja viscosidad” si, cuando se mide utilizando técnicas de medición de la viscosidad convencionales, la formulación muestra una viscosidad absoluta de aproximadamente 19 cP, aproximadamente 18 cP, aproximadamente 17 cP, aproximadamente 16 cP, aproximadamente 15 cP, aproximadamente 14 cP, aproximadamente 13 cP, aproximadamente 12 cP, aproximadamente 11 cP, aproximadamente 10 cP, aproximadamente 9 cP, aproximadamente 8 cP, aproximadamente 7 cP, aproximadamente 6 cP, aproximadamente 5 cP, aproximadamente 4 cP, o menor. Tal como se utiliza en la presente memoria un nivel moderado de viscosidad, referido a una formulación líquida de la presente divulgación, mostrará una viscosidad absoluta entre aproximadamente 30 cP y aproximadamente 20 cP. Por ejemplo, se considera que una formulación líquida de la divulgación tiene “viscosidad moderada” si, cuando se mide utilizando técnicas de medición de la viscosidad convencionales, la formulación muestra una viscosidad absoluta de aproximadamente 30 cP, aproximadamente 29 cP, aproximadamente 28 cP, aproximadamente 27 cP, aproximadamente 26 cP, aproximadamente 25 cP, aproximadamente 24 cP, aproximadamente 23 cP, aproximadamente 22 cP, aproximadamente 21 cP o aproximadamente 20 cP.

Tal como se ilustra en el ejemplo 6 siguiente, los presentes inventores han realizado el sorprendente descubrimiento de que pueden obtenerse formulaciones líquidas de viscosidad de baja a moderada que comprenden altas concentraciones de un anticuerpo anti-hIL-6R (por ejemplo, hasta al menos 175 mg/ml) formulando el anticuerpo con histidina 25 mM a 100 mM y arginina 25 mM a 50 mM. Además, se descubrió también que la viscosidad de la formulación puede disminuir en mayor medida ajustando el contenido de sacarosa a menos del 10 %.

### **ENVASES PARA LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS Y MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN**

Las formulaciones farmacéuticas divulgadas en la presente memoria pueden estar contenidas en cualquier envase adecuado para la conservación de medicinas y otras composiciones terapéuticas. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de un envase de plástico o vidrio sellado y esterilizado que tenga un volumen definido, tal como un vial, una ampolla, una jeringa, un cartucho o una botella. Pueden utilizarse diferentes tipos de viales para contener las formulaciones de la presente divulgación incluyendo, por ejemplo, viales de vidrio o plástico transparentes y opacos (por ejemplo, de color ámbar). De modo similar, puede utilizarse cualquier tipo de jeringa para contener y/o administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación.

Las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas en jeringas con un “contenido normal de tungsteno” o en jeringas con un “contenido bajo de tungsteno”. Como apreciarán los expertos en la materia, el proceso para fabricar jeringas de vidrio implica, en general, el uso de una varilla de tungsteno caliente que actúa perforando el vidrio, creando con ello un orificio a través del cual pueden extraerse líquidos y expulsarse desde la jeringa. Este proceso tiene como resultado el depósito de cantidades traza de tungsteno sobre la superficie interior de la jeringa. Puede utilizarse un lavado posterior y otras etapas de procesamiento para reducir la cantidad de tungsteno en la jeringa. Tal como se utiliza en la presente memoria la expresión “contenido normal de tungsteno” significa que la jeringa contiene más de 500 partes por billón (ppb) de tungsteno. La expresión “contenido bajo de tungsteno” significa que la jeringa contiene menos de 500 ppb de tungsteno. Por ejemplo, una jeringa de contenido bajo de tungsteno, según la presente divulgación, puede contener menos de aproximadamente 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 o menos ppb de tungsteno.

Los émbolos de goma utilizados en las jeringas y los tapones de goma utilizados para cerrar los orificios de los viales pueden estar revestidos para evitar la contaminación del medicamento de la jeringa o del vial y/o para conservar su estabilidad. Por tanto, las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación, según ciertas realizaciones, pueden estar contenidas dentro de una jeringa que comprende un émbolo revestido, o dentro de un vial que está sellado con un tapón de goma revestido. Por ejemplo, el émbolo o el tapón pueden estar revestidos con una película de fluorocarbono. Los ejemplos de tapones y/o émbolos revestidos para su uso con viales y jeringas que contienen las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación se mencionan, por ejemplo, en las patentes US-4.997.423; US-5.908.686; US-6.286.699; US-6.645.635; y US-7.226.554. Los ejemplos concretos de émbolos y tapones de goma revestidos que pueden utilizarse en el contexto de la presente divulgación están disponibles en el mercado con el nombre comercial de “FluroTec®”, disponible en West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA).

Según ciertas realizaciones, las formulaciones farmacéuticas pueden estar contenidas dentro de una jeringa con contenido bajo de tungsteno que comprende un émbolo revestido con fluorocarbono. Tal como se analizará en la

siguiente sección Ejemplos, se observó que la combinación de una jeringa de contenido bajo de tungsteno y un émbolo revestido de fluorocarbono produce unas características de estabilidad sorprendentes con respecto a las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación.

5 Las formulaciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente mediante vías parenterales, tales como inyección (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, etc.) o administración percutánea, mucosal, nasal, pulmonar y/u oral. Para administrar por vía subcutánea las formulaciones farmacéuticas pueden utilizarse numerosos dispositivos de tipo pluma y/o autoinyector reutilizables. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RU), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Berghdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania), por citar solo algunos. Los ejemplos de dispositivos de administración de tipo pluma y/o autoinyector desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a la pluma SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), el FLEXPEN™ (Novo Nordisk), y el KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), el PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), el EPIPEN (Dey, L.P.), y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), por citar solo algunos.

20 En la presente memoria también se contempla el uso de un microinfusor para administrar las formulaciones farmacéuticas. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "microinfusor" significa un dispositivo de administración subcutánea diseñado para administrar lentamente volúmenes grandes (por ejemplo, de hasta aproximadamente 2,5 ml o más) de una formulación terapéutica durante un periodo de tiempo prolongado (por ejemplo, aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30 o más minutos). Véanse, por ejemplo, las patentes US-6.629.949; US-6.659.982; y Meehan et al., J. Controlled Release, 46:107-116 (1996). Los microinfusores son particularmente útiles para la administración de dosis grandes de proteínas terapéuticas contenidas en disoluciones de alta concentración (por ejemplo, aproximadamente 100, 125, 150, 175, 200 o más mg/ml) y/o viscosas.

#### 30 **USOS TERAPÉUTICOS DE LAS FORMULACIONES FARMACÉUTICAS**

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención son útiles, entre otros, para el tratamiento, la prevención y/o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de la IL-6, incluyendo enfermedades o trastornos mediados por la activación del receptor de la IL-6. Los ejemplos no limitantes de enfermedades y trastornos que pueden tratarse y/o prevenirse mediante la administración de las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, por ejemplo, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, pancreatitis, artritis idiopática juvenil, vasculitis, enfermedad de Kawasaki, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, artritis psoriásica, síndrome de Sjögren, enfermedad de Still, enfermedad de Castleman, esclerosis múltiple, enfermedades asociadas con una coagulación anómala de la sangre o fibrinólisis (por ejemplo, trombosis), cáncer (por ejemplo, cáncer de mama, leucemia, cáncer de ovario, melanoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, linfoma, cáncer de pulmón, carcinoma de células renales, cáncer colorrectal, mieloma múltiple, etc.), caquexia, rechazo crónico de células y órganos trasplantados, cardiopatía, infección vírica (por ejemplo, infección por VIH, infección por EBV, etc.), plasmocitosis, hiperinmunoglobulinemia, anemia, nefritis, mesotelioma, y pérdida de audición y otros trastornos del oído interno.

45 Por tanto, la presente divulgación incluye métodos para tratar, prevenir y/o mejorar cualquier enfermedad o trastorno asociado con una actividad de la IL-6 o con la activación del IL-6R (incluyendo cualquiera de los ejemplos de enfermedades, trastornos y afecciones mencionados anteriormente). Los métodos terapéuticos divulgados en la presente memoria comprenden administrar a un sujeto cualquier formulación que comprenda un anticuerpo anti-hIL-6R, tal como se divulga en la presente memoria. El sujeto al cual se le administra la formulación farmacéutica puede ser, por ejemplo, cualquier ser humano o animal no humano que necesite dicho tratamiento, prevención y/o mejora, o que se beneficiaría de otro modo de la inhibición o atenuación de la actividad mediada por IL-6 y/o IL-6R. Por ejemplo, el sujeto puede ser un individuo al que se le ha diagnosticado, o que se considera que esté en riesgo de padecer cualquiera de las enfermedades o trastornos mencionados anteriormente. La presente divulgación incluye también el uso de cualquiera de las formulaciones farmacéuticas divulgadas en la presente memoria para la fabricación de un medicamento para el tratamiento, la prevención y/o la mejora de cualquier enfermedad o trastorno asociado con la actividad de la IL-6 o con la activación del IL-6R (incluyendo cualquiera de los ejemplos de enfermedades, trastornos y afecciones mencionados anteriormente).

#### 60 **Ejemplos**

Los siguientes ejemplos se ofrecen para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación completa de cómo fabricar y utilizar los métodos y las composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se ha intentado garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular medio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es la atmosférica o una presión próxima.

**Ejemplo 1. Estabilidad de un anticuerpo anti-receptor de interleucina 6 humana (IL-6R) totalmente humano ("mAb1") después de conservación a bajas temperaturas (ejemplo de referencia)**

En este ejemplo se crearon diversas formulaciones que contenían un anticuerpo anti-IL-6R humana sin excipientes. El anticuerpo de ejemplo utilizado en este y en todos los ejemplos posteriores es un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (HCVR) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18, y una región variable de la cadena ligera (LCVR) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26. Este anticuerpo se denomina en la presente memoria "mAb1".

Como experimento preliminar, se determinó la estabilidad de mAb1 en una solución líquida tras diversas cantidades de tiempo en conservación congelada a -20 °C, -30 °C y - 80 °C. La concentración del mAb1 utilizada en este ejemplo era 128 mg/ml. En diversos momentos se determinó la estabilidad del mAb1 mediante cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión molecular (SE-HPLC) y mediante cromatografía líquida de alto rendimiento de intercambio catiónico (CEX-HPLC). La estabilidad se evaluó basándose en el porcentaje de mAb1 nativo restante en la muestra (mediante SE-HPLC; Tabla 4) y en el porcentaje de especies ácidas observadas en la muestra (mediante CEX-HPLC; Tabla 5) (un aumento en el porcentaje de especies ácidas concuerda con una desamidación del anticuerpo y, por tanto, se considera un fenómeno no deseado con respecto a las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación).

**Tabla 4: % de mAb1 nativo restante (SE-HPLC)**

Tiempo (meses)	Temperatura de conservación		
	-80 °C	-30 °C	-20 °C
0	95,9	95,9	95,9
1	95,7	94,3	93,2
3	95,6	93,6	89,3
6	96,1	96,0	88,9
9	95,6	91,6	87,9

**Tabla 5: % de especies ácidas (CEX-HPLC)**

Tiempo (meses)	Temperatura de conservación		
	-80°C	-30°C	-20°C
0	28,6	28,6	28,6
1	27,3	28,0	28,1
3	27,3	27,7	28,3
6	28,6	29,6	29,3
9	29,0	28,8	29,0

Los resultados de las tablas 3 y 4 se muestran en las figuras 1 y 2, respectivamente. Estos resultados muestran que el mAb1 puede permanecer estable a una concentración de 128 mg/ml durante al menos 9 meses cuando se conserva a -80 °C.

**Ejemplo 2. Estabilidad de formulaciones de mAb1 que contienen una cantidad mínima de excipientes (ejemplo de referencia)**

Se prepararon ocho formulaciones diferentes que contenían mAb1 y una cantidad mínima de excipientes, tal como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6: Formulaciones de mAb1 con una cantidad mínima de excipientes**

Formulación	Excipiente	mAb1 (mg/ml)
1	polisorbato 20 0,13 % sacarosa 6 %	80
2	polisorbato 20 0,13 %	80
3	sacarosa 1 %	80
4	sacarosa 2 %	80

5	sacarosa 4 %	80
6	sacarosa 6 %	80
7	ninguno	80
8	ninguno	65
Todas las formulaciones contienen histidina 10 mM, pH 6,0		

Las formulaciones se ensayaron para determinar la estabilidad mediante SE-HPLC después de diversos períodos de tiempo a -30 °C y -20 °C. Los resultados, expresados en porcentaje de mAb1 nativo restante, se muestran en las Tablas 7 (conservación a -30 °C) y 8 (-20 °C).

5

**Tabla 7: % de mAb1 nativo restante (SE-HPLC) después de conservación a -30 °C**

Tiempo (meses)	Formulación N.º (véase Tabla 6)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	96,4	96,2	96,4	96,5	96,5	96,6	96,2	96,5
1	96,4	95,1	96,3	96,3	96,4	96,6	95,1	95,3
2	96,4	94,7	96,0	96,4	96,5	96,0	95,0	95,4
3	96,5	94,7	96,3	96,7	96,7	96,7	94,4	94,9
4	97,2	95,2	96,7	97,4	97,3	97,3	95,1	95,7
6	97,0	94,2	96,2	96,8	97,1	96,9	94,0	94,5
9	96,7	93,6	96,0	96,6	96,5	96,9	93,4	93,8

**Tabla 8: % de mAb1 nativo restante (SE-HPLC) después de conservación a -20 °C**

10

Tiempo (meses)	Formulación N.º (véase Tabla 6)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	96,4	96,2	96,4	96,5	96,5	96,6	96,2	96,5
1	96,7	94,5	96,0	96,8	96,5	96,3	94,1	94,5
2	96,4	90,9	95,3	96,4	96,4	96,4	90,9	91,8
3	96,9	90,1	95,1	96,6	96,6	96,7	90,5	90,9
4	97,2	90,7	95,8	97,4	97,1	97,1	91,4	91,8
6	96,9	86,9	94,1	96,9	96,9	97,1	87,5	88,5
9	96,5	86,0	93,3	96,6	96,6	96,7	86,7	87,5

Los resultados de las tablas 7 y 8 se muestran en las figuras 3 y 4, respectivamente. Tal como se muestra en este ejemplo, la estabilidad del mAb1 se mantuvo hasta un grado significativo en las formulaciones 1, 4, 5 y 6 después de varios meses de conservación a -20 °C y -30 °C. Estos resultados indican que la estabilidad del mAb1 a -20 °C y -30 °C puede potenciarse mediante la adición de al menos sacarosa 2 %.

15

### Ejemplo 3. Formulación estabilizada de mAb1 (ejemplo de referencia)

Se preparó una formulación estabilizada que contenía diversas concentraciones de mAb1 para su uso en los ejemplos 4 y 5 siguientes. Esta formulación, denominada "Formulación A", se muestra en la tabla 9.

20

**Tabla 9: Formulación estabilizada de mAb1 "A"**

Componente	Formulación A
mAb1	25 - 100 mg/ml
Histidina	10 mM
Polisorbato 20	0,2 %
Sacarosa	10 %
El pH se ajusta a 6,0	

### 25 Ejemplo 4. Estabilidad de la formulación A después de conservación a 5 °C

La formulación A (véase el ejemplo 3) que contiene mAb1 25, 50 o 100 mg/ml se probó para determinar la

estabilidad después de varios meses de conservación a 5 °C en viales transparentes. La estabilidad se evaluó mediante los siguientes parámetros: (a) aspecto visual; (b) turbidez (DO 405 nm); (c) pH; (d) porcentaje de mAb1 total recuperado (medido mediante RP-HPLC); (e) porcentaje de mAb1 nativo recuperado (medido mediante SE-HPLC); (f) porcentaje de mAb1 del pico principal recuperado (medido mediante CEX-HPLC); y (g) porcentaje de especies ácidas de mAb1 recuperado (medido mediante CEX-HPLC). Los resultados de estabilidad para la formulación A que contiene 25, 50 y 100 mg/ml de mAb1 se resumen en las tablas 10, 11 y 12, respectivamente.

**Tabla 10: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 25 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales transparentes**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% de mAb1 total recuperado	100	99	101	112	103	94	101
% de mAb1 nativo recuperado	97,5	98,0	97,5	97,6	97,5	97,5	97,8
% de mAb1 del pico principal recuperado	58,4	57,9	58,7	58,1	57,9	57,9	58,4
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	26,5	28,0	26,5	28,0	27,3	28,0	27,9

**Tabla 11A: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 50 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales transparentes (0-9 meses)**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,8	5,9	5,8	5,9	5,9	6,0	5,8
% de mAb1 total recuperado	100	99	104	106	100	109	100
% de mAb1 nativo recuperado	97,4	97,5	97,3	97,2	97,3	97,2	97,4
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,1	56,7	58,0	54,2	53,3	57,9	57,1
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	27,6	26,7	27,6	28,5	26,8	26,9	27,6

**Tabla 11B: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 50 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales transparentes (12-24 meses)**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)		
	12	18	24
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,00
pH	5,9	6,0	5,9
% de mAb1 total recuperado	103	107	105
% de mAb1 nativo recuperado	97,1	97,1	96,9
% de mAb1 del pico principal recuperado	56,4	57,1	56,4
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	28,1	28,3	29,0

**Tabla 12A: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales transparentes (0-9 meses)**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)					
	0	1	2	3	6	9
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)					
	0	1	2	3	6	9
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,9	6,0	5,9	5,9	5,9	5,9
% de mAb1 total recuperado	100	99	100	107	101	106
% de mAb1 nativo recuperado	97,3	97,0	97,0	97,1	96,9	96,9
% de mAb1 del pico principal recuperado	55,1	55,5	57,9	55,9	55,4	56,8
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	27,6	26,9	27,4	29,6	27,4	27,4

**Tabla 12B: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales transparentes (12-24 meses)**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)		
	12	18	24
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,00
pH	6,0	6,0	6,0
% de mAb1 total recuperado	101	102	103
% de mAb1 nativo recuperado	96,8	96,7	96,5
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,3	57,5	56,7
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	27,3	28,1	28,7

5 Los resultados de este ejemplo demuestran que la formulación A que contiene mAb1 25, 50 o 100 mg/ml permanece estable después de al menos 9 meses de conservación, a 5 °C en viales transparentes, permaneciendo aproximadamente 97 % o más del mAb1 nativo en todas las muestras después de 9 meses de conservación en dichas condiciones. Para las formulaciones de 50 y 100 mg/ml, se detectó 96,9 % y 96,5 % de mAb1 nativo, respectivamente, después de hasta 24 meses de conservación a 5 °C. Además, el porcentaje de especies ácidas permanecía en un 29 % o menos en todos los momentos del tiempo analizados confirmando, con ello, la estabilidad de las formulaciones.

15 También se realizaron estudios similares de estabilidad utilizando la formulación A que contenía mAb1 75 mg/ml tras una conservación a 2-8 °C. No se observó degradación significativa en ninguna de las concentraciones probadas después de 24 meses de conservación a 2-8 °C, según se determina mediante SE-HPLC y CEX-HPLC (datos no mostrados).

20 **Tabla 13: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 25 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales transparentes de 5 ml**

Parámetro	t=0 0	Duración de la conservación a 5 °C (meses)					
		1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,1
% de mAb1 total recuperado	100	106	103	98	100	100	101
% de mAb1 nativo recuperado	97,1	97,0	96,9	96,9	97,0	96,4	96,6
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,8	56,8	56,2	54,2	56,4	56,4	56,8
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	27,9	30,7	30,8	33,0	30,6	29,8	30,1

#### **Ejemplo 5. Estabilidad de la formulación A fabricada en viales de vidrio transparentes y de color ámbar**

25 Se realizaron experimentos adicionales para comparar la estabilidad de la formulación A (véase el ejemplo 3) que contenía mAb1 25 y 100 mg/ml fabricada en viales de vidrio ámbar con la misma formulación fabricada en viales transparentes. Se utilizaron dos tipos de viales ámbar en este ejemplo: viales de color ámbar de 5 ml y 20 ml. La

estabilidad se evaluó después de la conservación a 5 °C, 25 °C o 45 °C basándose en los mismos parámetros utilizados en el ejemplo 4. Los resultados para las formulaciones de 25 mg/ml y 100 mg/ml se resumen en las tablas 13 a 21.

5 **Tabla 14: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales transparentes de 5 ml**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	t=0 0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,1	6,0	6,1	6,0	6,1	6,1
% de mAb1 total recuperado	100	106	104	97	100	99	100
% de mAb1 nativo recuperado	96,2	96,3	96,1	96,0	95,9	95,5	95,4
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,6	57,3	57,9	55,5	56,2	56,4	55,4
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	28,2	30,2	29,4	31,1	30,7	30,0	32,2

10 **Tabla 15: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 25 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales ámbar de 5 ml**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	t=0 0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
% de mAb1 total recuperado	100	104	104	98	99	97	101
% de mAb1 nativo recuperado	97,1	97,4	96,8	96,7	96,7	96,1	96,3
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,8	56,4	56,3	56,1	55,7	55,9	55,2
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	27,9	30,4	30,6	31,8	31,0	30,5	32,9

15 **Tabla 16: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales ámbar de 5 ml**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,1
% de mAb1 total recuperado	100	102	104	97	101	100	100
% de mAb1 nativo recuperado	96,2	95,0	96,0	96,0	95,8	95,0	95,3
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,6	56,9	58,0	55,6	56,3	56,5	55,1
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	28,2	30,1	29,4	31,4	30,4	30,0	32,3

**Tabla 17: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 25 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales ámbar de 20 ml**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	0	1	2	3	6	9	12
Turbidez (DO 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
% de mAb1 total recuperado	100	105	103	97	101	98	101
% de mAb1 nativo recuperado	97,1	96,9	97,0	96,8	97,0	96,2	96,6
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,8	56,4	57,1	55,9	55,6	56,1	55,2
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	27,9	20,9	30,2	30,5	30,7	30,0	31,9

**Tabla 18: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 5 °C en viales ámbar de 20 ml**

Parámetro	Duración de la conservación a 5 °C (meses)						
	0	1	2	3	6	9	12
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
% de mAb1 total recuperado	100	105	103	97	99	98	100
% de mAb1 nativo recuperado	96,2	96,2	96,0	96,0	95,8	95,4	95,5
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,6	57,9	56,3	56,5	56,5	56,4	55,3
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	28,2	29,8	30,4	30,3	30,6	30,0	30,9

5

**Tabla 19: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 25 °C y 45 °C en viales transparentes**

Parámetro	0	Conservación a 45 °C (días)			Conservación a 25 °C (días)			
		7	14	28	1	2	3	6
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% de mAb1 total recuperado	100	101	97	105	105	102	97	101
% de mAb1 nativo recuperado	95,6	94,8	93,8	91,2	94,6	93,7	93,1	93,4
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,6	45,7	34,9	22,3	53,1	49,0	43,0	37,9
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	28,2	37,3	49,8	70,8	32,5	36,8	42,4	53,8

10 **Tabla 20: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 25 °C y 45 °C en viales ámbar de 5 ml**

Parámetro	t=0 0	Conservación a 45 °C (días)			Conservación a 25 °C (meses)			
		7	14	28	1	2	3	6
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	0,02
pH	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,0
% de mAb1 total recuperado	100	101	100	105	106	103	97	100
% de mAb1 nativo recuperado	95,6	94,6	93,6	90,9	94,5	93,7	93,4	92,7
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,6	46,1	35,2	21,6	52,7	46,3	42,0	34,2
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	28,2	37,3	50,1	70,9	32,8	39,6	43,4	57,3

**Tabla 21: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml después de conservación a 25 °C y 45°C en viales ámbar de 20 ml**

Parámetro	t=0	Conservación a 45 °C (días)			Conservación a 25 °C (meses)			
	0	7	14	28	1	2	3	6
Aspecto visual	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa	Pasa
Turbidez (DO 405 nm)	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,02
pH	6,0	6,0	6,1	6,1	6,0	6,0	6,0	6,0
% de mAb1 total recuperado	100	101	101	105	104	103	96	100
% de mAb1 nativo recuperado	95,6	94,9	93,8	91,5	94,3	94,0	93,6	93,5
% de mAb1 del pico principal recuperado	57,6	45,7	34,2	23,3	52,7	49,3	43,5	36,7
% de especies ácidas de mAb1 recuperado	28,2	36,7	51,1	68,6	32,5	35,8	41,3	55,0

5 Tal como se muestra en este ejemplo, la formulación A que contiene mAb1 25 mg/ml o 100 mg/ml muestra unos perfiles de estabilidad equivalentes cuando se conserva en viales transparentes o de color ámbar. Además, según se demostró en el ejemplo 4 para una conservación en viales transparentes, se mantuvo una estabilidad relativamente alta de mAb1 en la formulación A cuando se conserva en viales transparentes o de color ámbar a 5 °C durante un periodo de hasta 12 meses.

10 **Ejemplo 6. Efecto de la arginina, la histidina y las concentraciones de sacarosa sobre la viscosidad y la estabilidad de formulaciones que contienen mAb1 150 mg/ml**

15 Se prepararon varias formulaciones que contenían mAb1 150 mg/ml, 175 mg/ml y 200 mg/ml y diversas cantidades de histidina, arginina y sacarosa. Se midieron la viscosidad y la osmolalidad para cada formulación. Además se evaluó la estabilidad de las formulaciones de 150 mg/ml después de 4 semanas de conservación a 45 °C en términos de porcentaje de mAb1 nativo restante (mediante SE-HPLC) y de porcentaje del pico principal restante (mediante CEX-HPLC). Los resultados se resumen en la tabla 22 (ejemplos de referencia).

20 **Tabla 22: Efecto de la arginina, la histidina y la sacarosa sobre la viscosidad y la estabilidad de las formulaciones de mAb1**

mAb1 (mg/ml)	[Histidina] (mM)	[Arginina] (mM)	[Sacarosa] (%)	Viscosidad (cPoise)	Osmolalidad (mOsm)	% de mAb1 nativo restante*	% de especies ácidas
150	10	0	10	~ 15	375	90,8	19,9
150	25	25	10	~ 11,5	500	91,6	19,5
150	25	25	5	~ 8,5	305	91,8	19,8
150	25	25	2,5	~ 8,0	220	91,1	19,9
150	25	25	0	~ 8,5	115	90,3	20,6
175	10	0	10	~ 27	395		
175	25	25	10	~ 20,5	415		
175	25	25	5	~ 19	300		
175	25	50	5	~ 14,5	390		
175	100	0	5	~ 12,5	415		
175	100	50	5	~ 10	515		
200	10	0	10	~ 44	410		
200	25	25	10	~ 35	480		
200	25	25	5	~ 30	300		
200	25	25	0	~ 28	130		
200	100	0	10	~ 27	570		
200	100	50	10	~ 21	670		

mAb1 (mg/ml)	[Histidina] (mM)	[Arginina] (mM)	[Sacarosa] (%)	Viscosidad (cPoise)	Osmolalidad (mOsm)	% de mAb1 nativo restante*	% de especies ácidas
% inicial de mAb1 nativo = 96,5 % (SE-HPLC)							

Los resultados presentados en la tabla 16 indican que aumentando la concentración de histidina hasta 25 mM o 100 mM y añadiendo arginina a la formulación (25 mM o 50 mM) se reduce significativamente la viscosidad de la formulación, comparado con las formulaciones que contienen solo histidina 10 mM y sin arginina. Además, reduciendo la concentración de sacarosa desde 10 % al 5 %, con la histidina y arginina añadidas, se disminuye la viscosidad de la formulación en un grado aún mayor.

Teniendo en cuenta al menos en parte lo anterior, se prepararon las siguientes formulaciones (denominadas "formulación B" y "formulación C") indicadas en la tabla 23.

**Tabla 23: Formulaciones estabilizadas de mAb1 "B" y "C"**

Componente	Formulación B	Formulación C
mAb1	25 - 200 mg/ml	25 - 200 mg/ml
Histidina	25 mM	25 mM
Polisorbato 20	0,2 %	0,2 %
Sacarosa	5 %	5 %
Arginina	25 mM	50 mM
pH ajustado a 6,0		

**Ejemplo 7. Estabilidad de la formulación B que contiene mAb1 150 mg/ml cuando se fabrica en un vial y en jeringas**

Se preparó la formulación B (véase la tabla 23) que contiene mAb1 150 mg/ml en un vial de vidrio de 2 ml y en dos jeringas diferentes: una normal y otra con contenido bajo de tungsteno. Las preparaciones se conservaron a 5, 25 y 45 °C durante diversas períodos de tiempo. Se midió la estabilidad del mAb1 tras la conservación mediante SE-HPLC y CEX-HPLC. Los resultados se muestran en la Tabla 24 (un aumento en el porcentaje de especies ácidas concuerda con una desamidación del anticuerpo y, por tanto, se considera un fenómeno no deseado con respecto a las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación).

**Tabla 24: Estabilidad de la formulación B que contiene mAb1 150 mg/ml en vial y jeringa**

Temp	Tiempo	Vial de vidrio de 2 ml		Jeringa normal		Jeringa con bajo contenido de tungsteno	
		% Nativo (SE-HPLC)	% Ácido (CEX-HPLC)	% Nativo (SE-HPLC)	% Ácido (CEX-HPLC)	% Nativo (SE-HPLC)	% Ácido (CEX-HPLC)
-	Inicio	96,7	32,2	96,5	32,3	96,7	31,7
45 °C	14 días	94,1	52,7	94,3	54,5	94,3	56,1
45 °C	28 días	92,7	69,7	92,7	69,7	92,5	70,8
45 °C	56 días	86,7	84,7	87,8	82,6	86,9	83,5
25 °C	1 mes	95,1	31,2	95,7	30,6	95,6	31,1
25 °C	2 meses	95,3	34,6	94,7	37,4	96,0	36,3
25 °C	3 meses	94,3	40,6	93,9	43,7	94,1	42,6
5 °C	1 mes	96,2	30,2	96,5	29,1	96,4	29,3
5 °C	2 meses	96,3	29,3	96,4	29,0	96,4	29,1
5 °C	3 meses	95,7	29,4	95,8	29,6	95,8	29,6

Tal como se muestra en esta tabla, la formulación B que contiene mAb1 150 mg/ml, conservada a 5 °C en un vial de vidrio o jeringa, permanece relativamente estable durante al menos 3 meses.

**Ejemplo 8: Estabilidad de las formulaciones de mAb1 en jeringas precargadas**

Se realizó una serie de experimentos para evaluar la estabilidad de diferentes formulaciones de mAb1 en jeringas precargadas. Para estos experimentos se emplearon diversas jeringas con contenido bajo de tungsteno y con contenido normal en tungsteno, con aguja Luer y fijada, en combinación con diferentes tipos de émbolos (revestidos y no revestidos) y capuchones para la punta. Las formulaciones se ensayaron para determinar la estabilidad después de una conservación en jeringas precargadas a 45 °C, 25 °C y 5 °C durante diversos períodos de tiempo (que varían de 14 días a 12 meses, dependiendo de las condiciones probadas).

Se probaron seis formulaciones diferentes de mAb1 para determinar la estabilidad en jeringas precargadas en este ejemplo: (1) formulación A (véase la tabla 9) que contiene mAb1 100 mg/ml; (2) formulación A (véase la tabla 9) que contiene mAb1 25 mg/ml; (3) formulación B (véase la tabla 23) que contiene mAb1 150 mg/ml; (4) formulación B (véase la tabla 23) que contiene mAb1 25 mg/ml; (5) formulación C (véase la tabla 23) que contiene mAb1 175 mg/ml; y (6) formulación C (véase la tabla 23) que contiene mAb1 25 mg/ml. La formulación A no está dentro del ámbito de las reivindicaciones.

La estabilidad se evaluó mediante los siguientes parámetros: (a) análisis visual; (b) turbidez ( $DE_{405nm}$ ); (c) porcentaje de recuperación mediante RP-HPLC; (d) porcentaje de mAb1 nativo mediante SE-HPLC; (e) porcentaje de mAb1 del pico principal mediante CEX-HPLC; y (f) porcentaje de especies ácidas mediante CEX-HPLC.

Los resultados de un experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación A, que contiene mAb1 100 mg/ml en dos jeringas diferentes (jeringa N.º 1 y jeringa N.º 2) se muestran en la siguientes Tablas 25 y 26.

**Tabla 25: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml en jeringa precargada con aguja fijada N.º 1**

Jeringa N.º 1, Descripción:							
Jeringa:		BD 1 ml larga 29ga x 12 mm Physiolis, bajo contenido de tungsteno					
Émbolo:		West FluroTec® 4023/50					
Protector:		BD 260					
Siliconización:		Pulverizada					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez ( $DO_{405nm}$ )	% Recuperación	% mAb1 nativo	% Pico principal	% Especies ácidas
--	Inicio	Pasa	0,00	100	96,6	56,9	28,7
45 °C	14 días	Pasa	0,00	99	95,1	32,7	50,7
45 °C	28 días	Pasa	0,01	103	92,6	20,9	66,1
45 °C	56 días	Pasa	0,03	105	88,8	9,9	80,9
25 °C	1 mes	Pasa	0,00	106	95,6	52,4	32,0
25 °C	2 meses	Pasa	0,00	107	95,2	48,0	37,0
25 °C	3 meses	Pasa	0,00	106	94,2	44,8	41,8
25 °C	6 meses	Pasa	0,01	101	93,7	34,8	53,9
25 °C	9 meses	Pasa	0,03	98	91,4	26,1	64,6
25 °C	12 meses	Pasa	0,03	101	89,9	21,3	69,4
5 °C	1 mes	Pasa	0,00	110	96,4	56,8	29,9
5 °C	2 meses	Pasa	0,00	108	96,2	55,7	31,1
5 °C	3 meses	Pasa	0,00	104	96,0	56,3	30,0
5 °C	6 meses	Pasa	0,00	100	96,5	55,0	31,3
5 °C	9 meses	Pasa	0,00	98	96,2	56,7	30,3
5 °C	12 meses	Pasa	0,00	101	95,4	57,3	30,2

**Tabla 26: Estabilidad de la formulación A que contiene mAb1 100 mg/ml en jeringa precargada con aguja fijada N.º 2**

Jeringa N.º 2, Descripción:							
Jeringa:		Schott 1 ml larga SN CF 29ga x 12 mm					
Émbolo:		West FluroTec® 4023/50					
Protector:		Stelmi 4800 w/RNS					
Siliconización:		Pulverizada					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO <sub>405 nm</sub> )	% Recuperación	% mAb1 nativo	% Pico principal	% Especies ácidas
--	Inicio	Pasa	0,00	100	96,3	57,5	28,0
45 °C	14 días	Pasa	0,00	100	95,2	33,7	49,6
45 °C	28 días	Pasa	0,00	103	93,3	22,8	64,7
45 °C	56 días	Pasa	0,03	107	88,0	9,9	81,1
25 °C	1 mes	Pasa	0,00	108	95,5	52,5	31,8
25 °C	2 meses	Pasa	0,00	107	95,2	49,2	35,7
25 °C	3 meses	No pasa	0,00	106	93,9	43,1	42,0
25 °C	6 meses	No pasa	0,00	102	92,9	34,4	54,0
25 °C	9 meses	Pasa	0,02	100	92,3	26,9	63,5
25 °C	12 meses	Pasa	0,03	103	90,0	20,0	70,2
5 °C	1 mes	Pasa	0,00	111	96,3	56,7	29,9
5 °C	2 meses	Pasa	0,00	112	95,6	55,9	31,1
5 °C	3 meses	Pasa	0,00	106	96,1	57,2	29,4
5 °C	6 meses	Pasa	0,00	102	96,0	54,9	31,6
5 °C	9 meses	Pasa	0,00	100	95,9	56,7	30,2
5 °C	12 meses	Pasa	0,00	102	95,4	56,0	30,7

5 Los resultados de otro experimento representativo que evalúa la estabilidad de la formulación C, que contiene mAb1 175 mg/ml en dos jeringas diferentes (jeringa N.º 1 y jeringa N.º 3) se muestran en la Tablas 27 y 28 que aparecen a continuación.

10 Los resultados de este conjunto de experimentos demuestran que las diferentes formulaciones permanecen relativamente estables en las jeringas precargadas, en especial cuando se conservan a unas temperaturas de 25 °C y menores, durante un mes o más. Además, las diversas formulaciones divulgadas en la presente memoria parecen tener mayor estabilidad cuando están contenidas en jeringas con contenido bajo de tungsteno que contienen émbolos revestidos con fluorocarbono.

15 **Tabla 27: Estabilidad de la formulación C que contiene mAb1 175 mg/ml en jeringa precargada con aguja fijada N.º 1**

Jeringa N.º 1, Descripción:							
Jeringa:		BD 1 ml l arga 29ga x 12 mm Physiolis, bajo contenido de tungsteno					
Émbolo:		West FluroTec® 4023/50					
Protector:		BD 260					
Siliconización:		Pulverizada					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO <sub>405 nm</sub> )	%Recuperación	%mAb1 nativo	%Pico principal	%Especies ácidas
--	Inicio	Pasa	0,00	100	96,7	59,7	32,4
45 °C	7 días	Pasa	0,01	102	96,1	48,6	39,5
45 °C	14 días	Pasa	0,03	97	95,0	36,9	50,0
45 °C	28 días	Pasa	0,03	98	91,9	24,7	66,0

Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO405 nm)	%Recuperación	%mAb1 nativo	%Pico principal	%Especies ácidas
45 °C	56 días	Pasa	0,05	97	91,9	12,3	83,3
25 °C	1 mes	Pasa	0,02	99	95,4	56,9	33,8
25 °C	2 meses	Pasa	0,00	100	95,0	51,1	39,8
5 °C	1 mes	Pasa	0,00	98	96,1	59,5	32,7
5 °C	2 meses	Pasa	0,00	101	96,4	56,3	37,1

**Tabla 28: Estabilidad de la formulación C que contiene mAb1 175 mg/ml en jeringa precargada con aguja fijada N.º 3**

5

Jeringa N.º 3, Descripción:							
Jeringa:		BD 1 ml larga 29ga x 12 mm Physiolis, bajo contenido de tungsteno					
Émbolo:		West FluroTec® 4023/50					
Protector:		BD 260					
Siliconización:		N/A					
Temp	Tiempo	Análisis visual	Turbidez (DO <sub>405</sub> nm)	% Recuperación	% mAb1 nativo	% Pico principal	% Especies ácidas
--	Inicio	Pasa	0,00	100	96,4	58,2	33,6
45 °C	7 días	Pasa	0,00	101	95,7	45,4	40,4
45 °C	14 días	Pasa	0,01	101	94,8	37,5	48,8
45 °C	28 días	Pasa	0,04	96	94,0	29,4	59,4
45 °C	56 días	Pasa	0,06	99	85,9	7,8	87,0
25 °C	1 mes	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
5 °C	1 mes	Pasa	0,00	100	96,4	56,7	34,0
5 °C	2 meses	Pasa	0,00	101	96,2	54,7	34,0

LISTADO DE SECUENCIAS

- 10 <110> Dix, Daniel  
Walsh, Scott  
Graham, Kenneth  
Kamen, Douglas
- 15 <120> Formulaciones estabilizadas que contienen anticuerpos anti-receptor de la interleucina 6 (IL-6R)
- <130> 6013A
- <140> A asignar
- 20 <141> 07-01-2011
- <150> US 61/293.227
- <151> 08-01-2010
- 25 <160> 74
- <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0
- <210> 1
- 30 <211> 379
- <212> ADN
- <213> Secuencia artificial
- <220>

<223> Sintética

<400> 1  
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaaac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
 tctctgtcag cctctggatt catctttgat gattatgcca tgcactgggt cgggcaagct 120  
 ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180  
 gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240  
 ctgcaaataga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagatgga 300  
 ggcagcagct ggttaccggt cgtctactac tacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360  
 acggtcacog tctcgtcag 379

5

<210> 2  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Sintética

<400> 2  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys

15

85 90 95  
 Ala Lys Asp Gly Ser Ser Trp Leu Pro Phe Val Tyr Tyr Tyr Gly  
 100 105 110  
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

20

<210> 3  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

25

<220>  
 <223> Sintética

<400> 3  
 ggattcatct ttgatgatta tgcc 24

30

<210> 4  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35

<220>  
 <223> Sintética

<400> 4  
 Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5

ES 2 688 070 T3

<210> 5  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 5  
 attagttgga atagtggtag cata 24  
 10  
 <210> 6  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 6  
 Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile  
 1 5  
 20  
 <210> 7  
 <211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 7  
 gcaaaagatg gaggcagcag ctggttaccg ttcgtctact actacgggat ggacgtc 57  
 30  
 <210> 8  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 8  
 Ala Lys Asp Gly Gly Ser Ser Trp Leu Pro Phe Val Tyr Tyr Tyr Gly  
 1 5 10 15  
 Met Asp Val  
 40  
 <210> 9  
 <211> 325  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 9  
 gaaatagtgga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctcccgggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agcaactttg cctggtacca gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcatccacca gggcactgg tatcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactotca ccatcagcag cctgcagtc 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tatagtagct ggctccgta cacttttggc 300  
 caggggacca agctggagat caaac 325  
 55

ES 2 688 070 T3

5  
 <210> 10  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 10  
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Trp Pro Pro  
 85 90 95  
 Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

15  
 <210> 11  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

20  
 <400> 11  
 cagagtatta gcagcaac 18

25  
 <210> 12  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30  
 <220>  
 <223> Sintética

<400> 12  
 Gln Ser Ile Ser Ser Asn  
 1 5

35  
 <210> 13  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

40  
 <220>  
 <22 3> Sintética

<400> 13  
 ggtgcatcc 9

45  
 <210> 14  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

<400> 14  
 Gly Ala Ser  
 5 1

<210> 15  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 10 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

15 <400> 15  
 cagcagtata gtagctggcc tccgtacact 30

<210> 16  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

25 <400> 16  
 Gln Gln Tyr Ser Ser Trp Pro Pro Tyr Thr  
 1 5 10

<210> 17  
 <211> 349  
 <212> ADN  
 30 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

35 <400> 17  
 gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggttcagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctotagatt tacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120  
 ccaggggaagg gcoctggagt ggtctcaggt attagttaga atagtggtag aataggttat 180  
 gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccgagaa ctccctcttt 240  
 ctgcaaatga acggtctgag agcagaggac acggccttgt attactgtgc aaaaggccga 300  
 gattcttttg atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcttcag 349

40 <210> 18  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Sintética

<400> 18

ES 2 688 070 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Ser Leu Phe  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Arg Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 19  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<400> 19  
 agatttacct ttgatgatta tgcc 24

15 <210> 20  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

<400> 20  
 Arg Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5

25 <210> 21  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Sintética

<400> 21  
 attagttgga atagtggtag aata 24

35 <210> 22  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Sintética

<400> 22  
 Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile  
 1 5

45

ES 2 688 070 T3

<210> 23  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 23  
 gcaaaaaggcc gagattcttt tgatatc 27  
 10  
 <210> 24  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 24  
 Ala Lys Gly Arg Asp Ser Phe Asp Ile  
 1 5  
 20  
 <210> 25  
 <211> 322  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 25  
 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtag cctggatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatggt gcatccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggtcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caagttatta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtacac ttttggccag 300  
 gggaccaagc tggagatcaa ac 322  
 30  
 <210> 26  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 26

ES 2 688 070 T3

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10					15		
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Trp
			20					25				30			
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75					80
Glu	Asp	Phe	Ala	Ser	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Ser	Phe	Pro	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

5	<210> 27 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Sintética	
	<400> 27 caggggtatta gcagctgg	18
15	<210> 28 <211> 6 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Sintética	
	<400> 28 Gln Gly Ile Ser Ser Trp 1 5	
25	<210> 29 <211> 9 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
30	<220> <223> Sintética	
35	<400> 29 ggtgcatcc	9
40	<210> 30 <211> 3 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Sintética	
	<400> 30 Gly Ala Ser 1	
	<210> 31 <211> 27	

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 5 <223> Sintética  
  
 <400> 31  
 caacaggcta acagtttccc gtacact 27  
  
 10 <210> 32  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 15 <220>  
 <223> Sintética  
  
 <400> 32  
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr  
 1 5  
 20  
 <210> 33  
 <211> 349  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Sintética  
  
 <400> 33  
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccc tgcactgggt cgggcaagct 120  
 ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagttgga atggtggtag aataggctat 180  
 gcggactctg tgaaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctcttt 240  
 30 ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac acggccttgt attattgtgc aaaaggcccg 300  
 gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca ttggtcaccg tctcttcag 349  
  
 <210> 34  
 <211> 116  
 35 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Sintética  
 40  
 <400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30  
 Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 35  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<400> 35  
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

15 <210> 36  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

<400> 36  
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5

25 <210> 37  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Sintética

<400> 37  
 gttagttgga atggtggtag aata 24

35 <210> 38  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Sintética

<400> 38  
 Val Ser Trp Asn Gly Gly Arg Ile  
 1 5

45

ES 2 688 070 T3

<210> 39  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Sintética  
  
 10 <400> 39  
 gcaaaaaggcc gggatgcttt tgatatc 27  
  
 <210> 40  
 <211> 9  
 15 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Sintética  
  
 20 <400> 40  
 Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile  
 1 5  
  
 <210> 41  
 <211> 322  
 25 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 30 <223> Sintética  
  
 <400> 41  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtag cctgggatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagatthtg caacttacta ttgtcaacat gcttacagtt tcccgtagac ttttgccag 300  
 gggaccaagc tggagatcaa ac 322  
  
 35 <210> 42  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Sintética  
  
 <400> 42

ES 2 688 070 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Tyr Ser Phe Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

5 <210> 43  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<400> 43  
 cagggtatta gcagctgg 18

15 <210> 44  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

<400> 44  
 Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 1 5

25 <210> 45  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Sintética

<400> 45  
 gctgcatcc 9

35 <210> 46  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Sintética

<400> 46  
 Ala Ala Ser  
 1

45

ES 2 688 070 T3

<210> 47  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 47  
 caacatgctt acagtttccc gtacact 27  
 <210> 48  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 48  
 Gln His Ala Tyr Ser Phe Pro Tyr Thr  
 1 5  
 <210> 49  
 <211> 361  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 49  
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaaagagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcttgcaagg cttctggata caccttcacc tcttatgata tcatctgggt gcgacaggcc 120  
 actggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atgaacccaa acagtggtaa cacaggctat 180  
 acacagaacc tccagggcag agtcaccttg accaggaaca cctccataac tacagtctac 240  
 atggaactga gcagcctgag ctctgaggac acggccgttt attactgtgc gcgagactac 300  
 agtagccact actacggttt ggacgtctgg ggccaagggg ccacggtcac cgtctcctca 360  
 a 361  
 <210> 50  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 50  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Ile Ile Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Thr Gln Asn Leu  
 50 55 60

ES 2 688 070 T3

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asn Thr Ser Ile Thr Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Ser Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp Tyr Ser Ser His Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

5 <210> 51  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<400> 51  
 ggatacacct tcacctotta tgat 24

15 <210> 52  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

<400> 52  
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp  
 1 5

25 <210> 53  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Sintética

<400> 53  
 atgaacccaa acagtggtaa caca 24

35 <210> 54  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Sintética

<400> 54  
 Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr  
 1 5

45 <210> 55  
 <211> 39  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Sintética

<400> 55  
gcgcgagact acagtagcca ctactacggt ttggacgtc 39

5 <210> 56  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Sintética

<400> 56  
Ala Arg Asp Tyr Ser Ser His Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
1 5 10

15 <210> 57  
<211> 322  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Sintética

<400> 57  
gacatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctacat ctataggaga cagagtcacc 60  
atcacttget gggccagtc ggacattagc aattatttag cctggtatca gcaaaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctttgtt gcatccactt tgcagagtgg ggtcccacatca 180  
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactotca caatcagtag cctgcagcct 240  
gaggatthttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgctcac tttcggcgga 300  
gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

25 <210> 58  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Sintética

<400> 58  
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Thr Ser Ile Gly  
1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr  
20 25 30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45  
Phe Val Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

35 <210> 59  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Sintética

	<400> 59 caggacatta gcaattat	18
5	<210> 60 <211> 6 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Sintética	
	<400> 60 Gln Asp Ile Ser Asn Tyr 1 5	
15	<210> 61 <211> 9 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Sintética	
25	<400> 61 gttgcattcc	9
30	<210> 62 <211> 3 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Sintética	
	<400> 62 Val Ala Ser 1	
40	<210> 63 <211> 30 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Sintética	
	<400> 63 caacagttta atagttaccc gctcactttc	30
50	<210> 64 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
55	<220> <223> Sintética	
	<400> 64 Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe 1 5 10	
60	<210> 65 <211> 8 <212> PRT	

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Sintética  
 5  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Gly o Arg  
 10  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Phe o Tyr  
 15  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Ile o Thr  
 20  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Phe  
 25  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Asp o Thr  
 30  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Asp o Ser  
 35  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (7)...(7)  
 <223> Xaa = Tyr  
 40  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (8)...(8)  
 <223> Xaa = Ala o Asp  
 45  
 <400> 65  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5  
 50  
 <210> 66  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55  
 <220>  
 <223> Sintética  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Ile, Val o Met  
 60  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Ser o Asn  
 65

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Thr o Pro  
 5

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Asn  
 10

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Ser o Gly  
 15

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Gly  
 20

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (7)...(7)  
 <223> Xaa = Ser, Arg o Asn  
 25

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (8)...(8)  
 <223> Xaa = Ile o Thr  
 30

<400> 66  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5

<210> 67  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35

<220>  
 <223> Sintético  
 40

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Ala  
 45

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Lys o Arg  
 50

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Asp o Gly  
 55

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Gly, Arg o Tyr  
 60

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Gly, Asp o Ser  
 65

- 5  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Ser o Ala
- 10  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (7)...(7)  
 <223> Xaa = Ser, Phe o His
- 15  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (8)...(8)  
 <223> Xaa = Trp, Asp o Tyr
- 20  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (9)...(9)  
 <223> Xaa = Leu, Ile o Tyr
- 25  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (10)...(10)  
 <223> Xaa = Pro, Gly o ausente
- 30  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (11)...(11)  
 <223> Xaa = Phe, Leu o ausente
- 35  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (12)...(12)  
 <223> Xaa = Val, Asp o ausente
- 40  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (13)...(13)  
 <223> Xaa = Tyr, Val o ausente
- 45  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (14)...(14)  
 <223> Xaa = Tyr o ausente
- 50  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (15)...(15)  
 <223> Xaa = Tyr o ausente
- 55  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (16)...(16)  
 <223> Xaa = Gly o ausente
- 60  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (17)...(17)  
 <223> Xaa = Met o ausente
- 65  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (18)...(18)  
 <223> Xaa = Asp o ausente

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (19)...(19)  
 <223> Xaa = Val o ausente  
 5  
 <400> 67  
 Xaa  
 1 5 10 15  
 Xaa Xaa Xaa  
 <210> 68  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 10  
 <220>  
 <223> Sintética  
 15  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Gln  
 20  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Ser, Gly o Asp  
 25  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Ile  
 30  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Ser  
 35  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Ser o Asn  
 40  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Asn, Trp o Tyr  
 45  
 <400> 68  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5  
 50  
 <210> 69  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55  
 <220>  
 <223> Sintético  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Gly, Ala o Val  
 60

5  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Ala

10  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Ser

15  
 <400> 69  
**Xaa Xaa Xaa**  
 1

20  
 <210> 70  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> Sintético

30  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Gln

35  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Gln o His

40  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Tyr, Ala o Phe

45  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Ser, Asn o Tyr

50  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Ser

55  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Trp, Phe o Tyr

60  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (7)...(7)  
 <223> Xaa = Pro

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (8)...(8)  
 <223> Xaa = Pro, Tyr o Leu

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (9)...(9)

<223> Xaa = Tyr o Thr

<220>

<221> VARIANTE

5

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Thr o ausente

<400> 70

Xaa  
1 5 10

10

<210> 71

<211> 330

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Sintética

<400> 71

ES 2 688 070 T3

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
		115				120						125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	130					135				140					
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165						170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195				200						205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
		260						265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290					295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305					310					315					320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
			325						330						

<210> 72  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Sintética

10

<400> 72

ES 2 688 070 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
 65 70 75 80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110  
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140  
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 165 170 175  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270  
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 275 280 285  
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
 290 295 300  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 305 310 315 320  
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 325

5 <210> 73  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintético

<400> 73

ES 2 688 070 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
 65 70 75 80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110  
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140  
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 165 170 175  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270  
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 275 280 285  
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
 290 295 300  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 305 310 315 320  
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 325

5  
 <210> 74  
 <211> 358  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 74

ES 2 688 070 T3

Met Val Ala Val Gly Cys Ala Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ala Ala Pro  
1 5 10 15  
Gly Ala Ala Leu Ala Pro Arg Arg Cys Pro Ala Gln Glu Val Ala Arg  
20 25 30  
Gly Val Leu Thr Ser Leu Pro Gly Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Pro  
35 40 45  
Gly Val Glu Pro Glu Asp Asn Ala Thr Val His Trp Val Leu Arg Lys  
50 55 60  
Pro Ala Ala Gly Ser His Pro Ser Arg Trp Ala Gly Met Gly Arg Arg  
65 70 75 80  
Leu Leu Leu Arg Ser Val Gln Leu His Asp Ser Gly Asn Tyr Ser Cys  
85 90 95  
Tyr Arg Ala Gly Arg Pro Ala Gly Thr Val His Leu Leu Val Asp Val  
100 105 110  
Pro Pro Glu Glu Pro Gln Leu Ser Cys Phe Arg Lys Ser Pro Leu Ser  
115 120 125  
Asn Val Val Cys Glu Trp Gly Pro Arg Ser Thr Pro Ser Leu Thr Thr  
130 135 140  
Lys Ala Val Leu Leu Val Arg Lys Phe Gln Asn Ser Pro Ala Glu Asp  
145 150 155 160  
Phe Gln Glu Pro Cys Gln Tyr Ser Gln Glu Ser Gln Lys Phe Ser Cys  
165 170 175  
Gln Leu Ala Val Pro Glu Gly Asp Ser Phe Tyr Ile Val Ser Met  
180 185 190  
Cys Val Ala Ser Ser Val Gly Ser Lys Phe Ser Lys Thr Gln Thr Phe  
195 200 205  
Gln Gly Cys Gly Ile Leu Gln Pro Asp Pro Pro Ala Asn Ile Thr Val  
210 215 220  
Thr Ala Val Ala Arg Asn Pro Arg Trp Leu Ser Val Thr Trp Gln Asp  
225 230 235 240  
Pro His Ser Trp Asn Ser Ser Phe Tyr Arg Leu Arg Phe Glu Leu Arg  
245 250 255  
Tyr Arg Ala Glu Arg Ser Lys Thr Phe Thr Thr Trp Met Val Lys Asp  
260 265 270  
Leu Gln His His Cys Val Ile His Asp Ala Trp Ser Gly Leu Arg His  
275 280 285  
Val Val Gln Leu Arg Ala Gln Glu Glu Phe Gly Gln Gly Glu Trp Ser  
290 295 300  
Glu Trp Ser Pro Glu Ala Met Gly Thr Pro Trp Thr Glu Ser Arg Ser  
305 310 315 320  
Pro Pro Ala Glu Asn Glu Val Ser Thr Pro Met Gln Ala Leu Thr Thr  
325 330 335  
Asn Lys Asp Asp Asp Asn Ile Leu Phe Arg Asp Ser Ala Asn Ala Thr  
340 345 350  
Ser Leu Pro Val Gln Asp  
355

## REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica que comprende:
- 5 (i) un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor de interleucina 6 humano (hIL-6R), en el que el anticuerpo está en una concentración de 5 mg/ml a 200 mg/ml y comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26;
- 10 (ii) histidina a una concentración de 10 mM a 25 mM;
- (iii) arginina a una concentración de 25 mM a 50 mM;
- (iv) sacarosa en una cantidad de 5 % a 10 % p/v; y
- (v) polisorbato 20 en una cantidad de 0,1 % a 0,2 % p/v.
2. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 6.
3. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1 o 2, en la que al menos el 90 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de nueve meses de conservación a 5 °C, según se determina mediante cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión molecular (SE-HPLC).
4. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1 o 2, en la que al menos el 95 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de nueve meses de conservación a 5 °C, según se determina por cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión molecular (SE-HPLC).
5. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1 o 2, en la que al menos el 96 % de la forma nativa de dicho anticuerpo se recupera después de nueve meses de conservación a 5 °C, según se determina mediante cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión molecular (SE-HPLC).
6. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que está contenida en un vial de vidrio.
7. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que está contenida en una jeringa.
8. La formulación farmacéutica de la reivindicación 7, en la que dicha jeringa comprende un émbolo revestido de fluorocarbono o dicha jeringa es una jeringa con bajo contenido de tungsteno.
9. La formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que está contenida en un microinfusor.
10. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, que comprende:
- 40 (i) de 25 a 200 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor de la interleucina 6 humana (hIL-6R), en el que el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26;
- 45 (ii) aproximadamente histidina 25 mM;
- (iii) aproximadamente sacarosa 5 % p/v y
- (iv) aproximadamente polisorbato 20 0,2 % p/v; y
- (v) aproximadamente arginina 50 mM.
- 50 11. La formulación farmacéutica de la reivindicación 1, que comprende (i) aproximadamente 175 mg/ml de un anticuerpo humano que se une específicamente al receptor de la interleucina 6 humana (hIL-6R), en el que dicho anticuerpo comprende un par de secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y de la cadena ligera (HCVR/LCVR) de SEQ ID NOs: 18/26;
- 55 (ii) aproximadamente histidina 25 mM;
- (iii) aproximadamente sacarosa 5 %;
- (iv) aproximadamente polisorbato 20 0,2 % y
- (v) aproximadamente arginina 50 mM.
- 60 12. La formulación farmacéutica de la reivindicación 11, en la que la formulación está contenida en una jeringa precargada con aguja fijada.

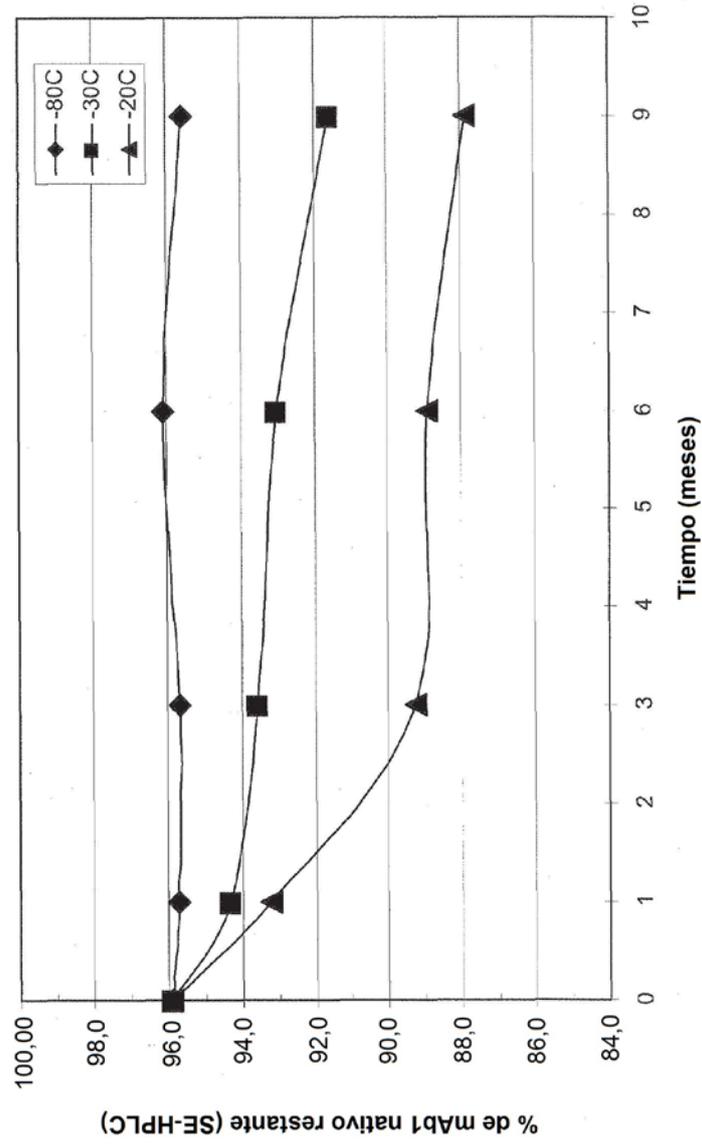


Figura 1

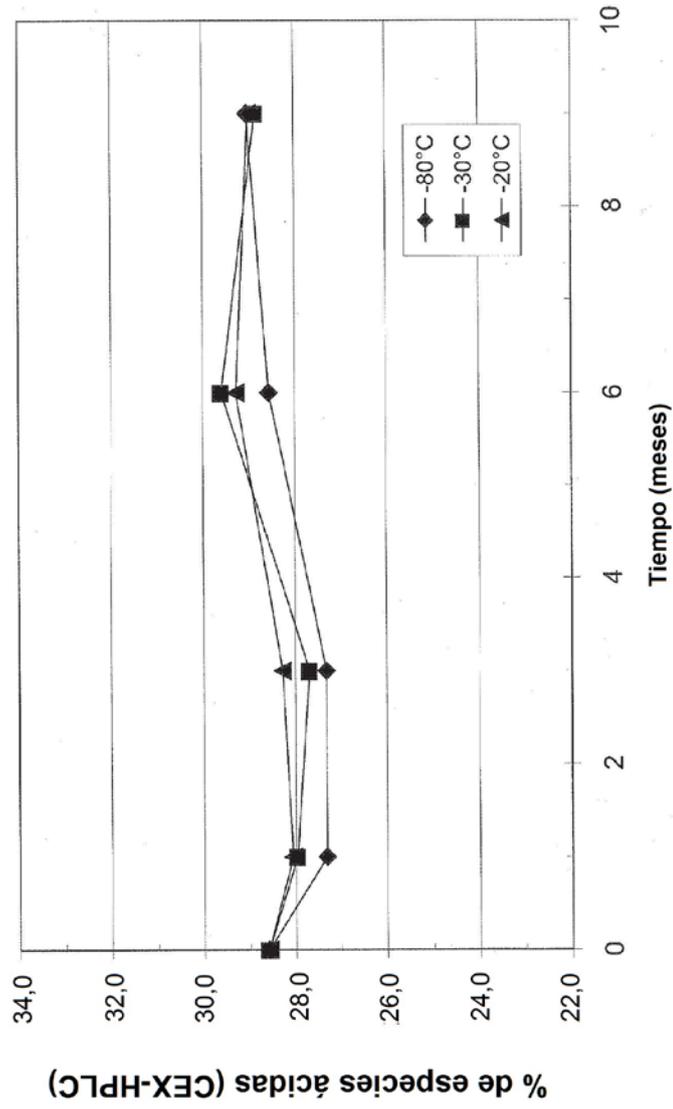


Figura 2

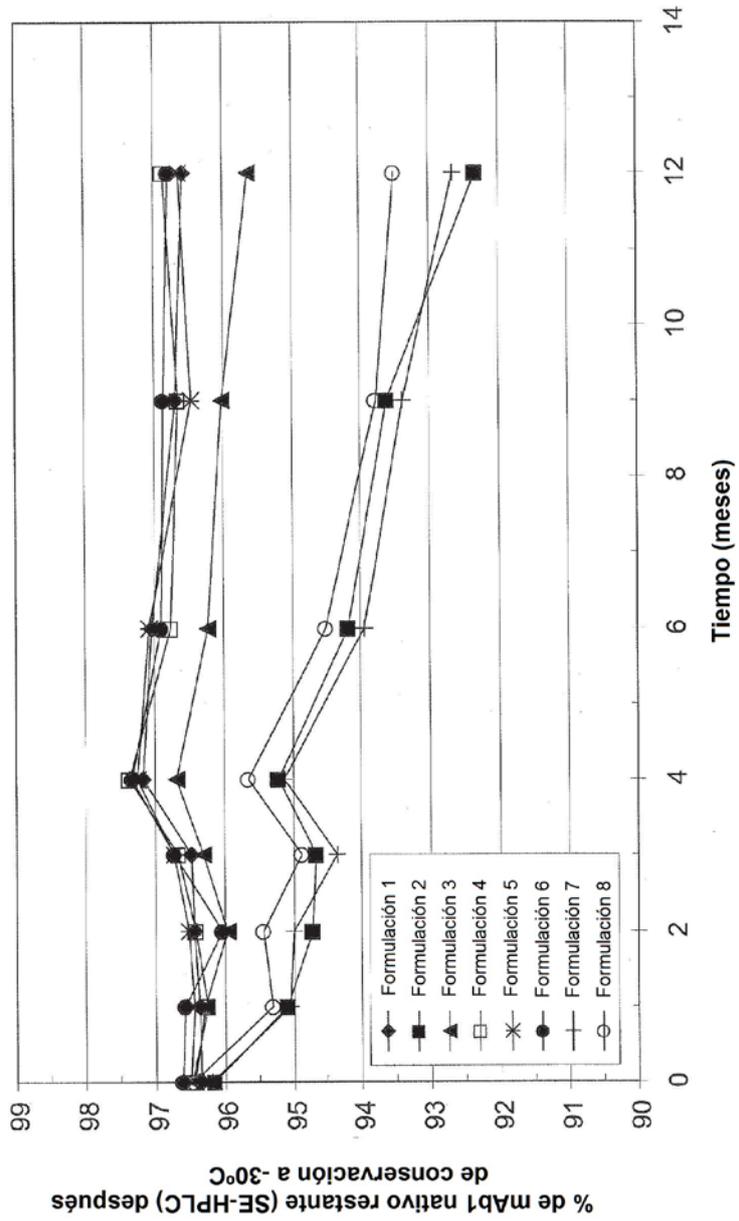


Figura 3

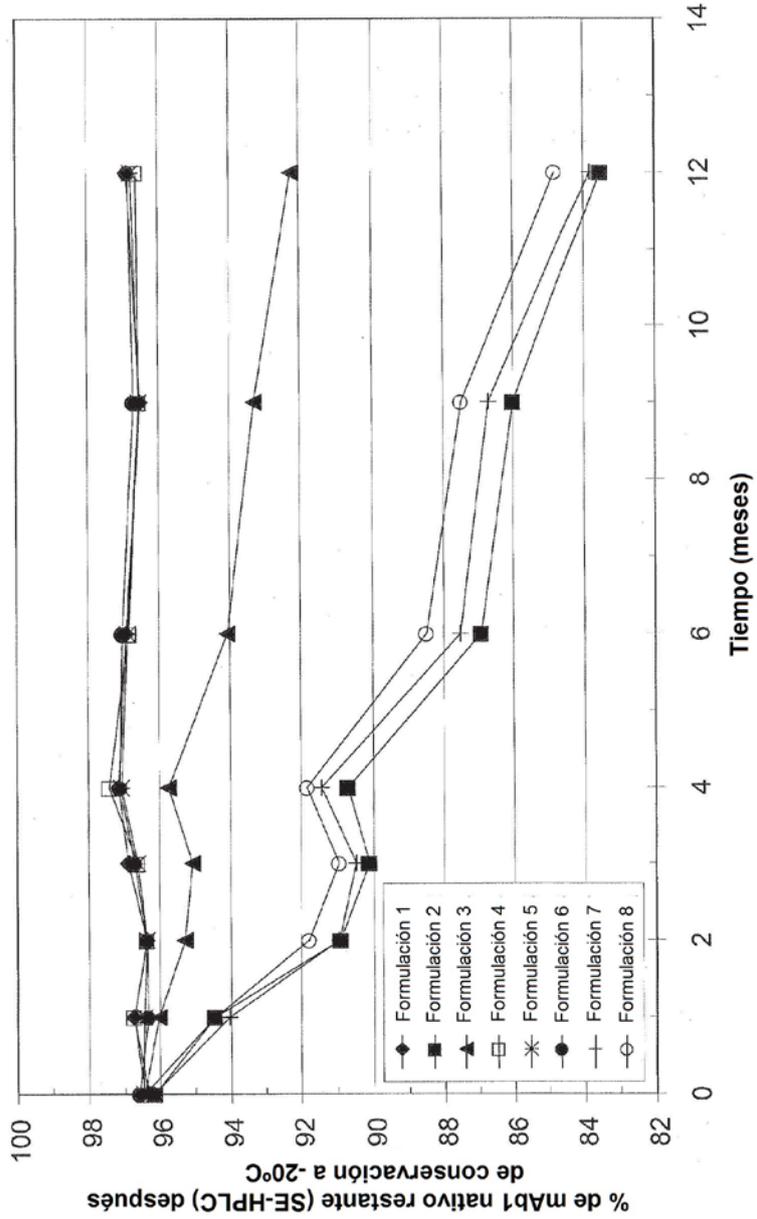


Figura 4