



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



①Número de publicación: 2 779 126

51 Int. Cl.:

C07K 16/40 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)

(12)

# TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: 10.10.2014 PCT/US2014/060109

(87) Fecha y número de publicación internacional: 16.04.2015 WO15054619

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 10.10.2014 E 14802527 (3)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 04.12.2019 EP 3055333

(54) Título: Uso de un inhibidor de PCSK9 para tratar hiperlipidemia

(30) Prioridad:

11.10.2013 US 201361890154 P
02.01.2014 US 201461923103 P
19.03.2014 US 201461955514 P
29.05.2014 US 201462004620 P
16.07.2014 US 201462025104 P
14306221
24.09.2014 US 201462054571 P
09.10.2014 EP
14306584

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 13.08.2020

(73) Titular/es:

SANOFI BIOTECHNOLOGY (50.0%) 54 rue La Boétie 75008 Paris, FR y REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

(72) Inventor/es:

BACCARA-DINET, MARIE; BESSAC, LAURENCE; CHAUDHARI, UMESH; HANOTIN, CORINNE; PORDY, ROBERT, C.; SASIELA, WILLIAM, J. y SCHWEMMER GIPE, DANIEL A.,

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

## **DESCRIPCIÓN**

Uso de un inhibidor de PCSK9 para tratar hiperlipidemia

La presente invención se refiere al campo de los tratamientos terapéuticos de enfermedades y trastornos que están asociados con niveles elevados de lípidos y lipoproteínas. Más específicamente, la invención se refiere al uso de anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno de los mismos para tratar pacientes con hiperlipidemia que no están en terapia con estatinas, que incluyen pacientes que son insensibles a las estatinas, mal controlados con terapia con estatinas, intolerantes a las estatinas, o que tienen antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas.

## **ANTECEDENTES**

- Las hipercolesterolemia, particularmente un aumento en los niveles de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (C-LDL), constituye un riesgo importante de desarrollo de aterosclerosis y enfermedad cardíaca coronaria (ECC) (Sharrett et al., 2001, Circulation 104:1108-1113). El colesterol de las lipoproteínas de baja densidad se identifica como el objetivo primario de la terapia hipocolesterolemiante y es aceptada como un criterio de valoración terapéutico sustituto válido. Numerosos estudios han demostrado que la reducción de los niveles de C-LDL reduce el riesgo de ECC con una fuerte relación directa entre los niveles de C-LDL y eventos de ECC; por cada 1 mmol/L (~40 mg/dL) de reducción en C-LDL, la mortalidad y morbilidad de la enfermedad cardiovascular (ECV) se reduce en 22 %. Mayores reducciones en C-LDL producen mayor reducción en acontecimientos, y datos comparativos de tratamiento con estatinas de intenso frente a estándar sugieren que cuanto más bajo sea el nivel de C-LDL, mayor será el beneficio en los pacientes en riesgo cardiovascular (CV) muy alto.
- 20 Las actuales medicaciones reductoras de C-LDL incluyen estatinas, inhibidores de la absorción de colesterol (por ejemplo, ezetimiba [EZE]), fibratos, niacina y secuestrantes de ácidos biliares. Mientras que las modificaciones en el estilo de vida y el tratamiento con fármacos convencionales son frecuentemente satisfactorias en reducir los niveles de colesterol, no todos los pacientes son capaces de alcanzar los niveles de colesterol objetivo recomendados con dichos enfoques. Diversas afecciones, tales como hipercolesterolemia familiar (FH), parecen ser resistentes a la re-25 ducción de los niveles de C-LDL a pesar del agresivo uso de terapia convencional. Específicamente, el tratamiento con estatinas, que reducen C-LDL inhibiendo la síntesis del colesterol y regulando por incremento el receptor de LDL hepático, puede tener poco efecto en pacientes cuyos receptores de LDL son inexistentes, o defectuosos. Además, muchos pacientes son insensibles a las estatinas, están mal controlados con terapia con estatinas, no pueden tolerar las estatinas, y/o no cumplen con su régimen de estatinas terapéuticas recetado debido a los efectos secundarios 30 relacionados con las estatinas. Debido a que la hipercolesterolemia es en gran medida asintomática, cualquier efecto desagradable de agentes farmacológicos usados para manejar este trastorno puede debilitar el cumplimiento del paciente. En estudios de varias cohortes, la tasa informada de cumplimiento de la terapia con estatinas en 1 año varió desde 26 % hasta 85 %, con una rápida disminución en las tasas observadas de cumplimiento normalmente en el plazo de los primeros meses. La inhibición de PCSK9 puede ser una estrategia prometedora en reducir el colesterol 35 asociados a LDL para prevenir enfermedades cardiovasculares o atenuar su progresión y daño (Costet P, "PCSK9 inhibitors as LDL cholesterol-lowering agents: Rationale, concerns and preliminary outcomes", Drugs of the Future. Vol. 37, No. 5, páginas 331-341, 1 de mayo de 2012). El efecto de un anticuerpo monoclonal dirigido a PCSK9 en combinación con ezetimiba sobre los niveles de C-LDL en pacientes intolerantes a las estatinas se evalúa en ensayos clínicos, por ejemplo, el ensayo aleatorizado GAUSS (Sullivan et al. "Effect of a Monoclonal Antibody to PCSK9 on 40 Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Statin-intolerant Patients", JAMA, Vol. 308, No. 23, página 2497, 19 de diciembre de 2012).

Por consiguiente, existe una necesidad en la materia de opciones alternativas para reducir C-LDL en los pacientes.

## BREVE SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 75 mg o 150 mg de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9 humano para su uso en el tratamiento de hipercolesterolemia en un paciente que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a terapia con estatinas, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las CDRs de la cadena ligera y pesada que tienen SEQ ID NOs: 2, 3, 4, 7, 8 y 10, y en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en ausencia de terapia con estatinas a una frecuencia de una vez cada dos o cuatro semanas a una dosis de 75 mg o de una vez cada dos o cuatro semanas a una dosis de 150 mg. Los ejemplos de reacciones adversas a la terapia con estatinas incluyen, por ejemplo, dolor de músculos esqueléticos, molestia, debilidad y/o dolor de tipo cólico. Así, según ciertas realizaciones, la presente invención proporciona métodos de reducción de los niveles de C-LDL en suero en un paciente sin inducir dolor de músculos esqueléticos, molestia, debilidad o dolor de tipo cólico, por ejemplo, interrumpiendo el régimen terapéutico de estatinas del paciente y administrando un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo al paciente.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 75 mg o 150 mg de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9 humano para su uso en el tratamiento de hipercolesterolemia en un paciente, en donde el paciente tiene un riesgo cardiovascular moderado, alto o

muy alto; y es intolerante a las estatinas o tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas, en donde una o más dosis iniciales de la composición farmacéutica que comprende 75 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administran aproximadamente cada dos semanas, y en donde (a) una o más dosis adicionales de la composición farmacéutica que comprende 75 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administran aproximadamente cada dos semanas si el nivel de C-LDL del paciente después de las dosis iniciales es inferior a 70 mg/dL; o (b) uno o más fragmentos de unión al antígeno del mismo se administra aproximadamente cada dos semanas si el nivel de C-LDL de las dosis adicionales de la composición farmacéutica que comprende 150 mg del anticuerpo o el paciente después de las dosis iniciales es mayor que o igual a 70 mg/dL, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las CDRs de la cadena ligera y pesada que tienen SEQ ID NOs: 2, 3, 4, 7, 8 y 10, y en donde después de aproximadamente 24 semanas de tratamiento con el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, la mejora en el nivel en suero de uno o más componentes lipídicos se selecciona del grupo que consiste en:

- (a) reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) del paciente en al menos 35 %;
- (b) reducción de la apolipoproteína B del paciente (ApoB) en al menos 25 %;
- (c) reducción del colesterol no de las lipoproteínas de alta densidad (C no HDL) del paciente en al menos 30 %;
- (d) reducción del colesterol total del paciente por al menos 20 %; y

5

10

15

20

35

40

45

50

55

(e) reducción de la lipoproteína a del paciente (Lp(a)) en al menos 15 %.

Según un aspecto, los pacientes con hiperlipidemia incluyen pacientes con hipercolesterolemia no familiar, hipercolesterolemia familiar heterocigótica u homocigótica, o dislipidemia mixta. En ciertos aspectos, un paciente con hiperlipidemia también tiene diabetes mellitus de tipo 2.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno se administra a un paciente como una monoterapia, en ausencia de cualquier otra terapia modificadora de lípidos. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno se administra a un paciente en combinación con otra terapia modificadora de lípidos no de estatinas.

La presente invención también proporciona métodos de tratamiento de hipercolesterolemia en un paciente que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas seleccionando un paciente con riesgo cardiovascular moderado, alto o muy alto que ha experimentado previamente síntomas relacionados con los músculos esqueléticos que empezaron o aumentaron mientras que estaban en un régimen de estatinas terapéuticas diario y administrando una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno del mismo al paciente. Según ciertas realizaciones, el paciente se selecciona basándose en que ha experimentado previamente síntomas relacionados con los músculos esqueléticos que empezaron o aumentaron mientras que estaban en al menos dos regímenes de estatinas terapéuticas diarios separados (por ejemplo, en donde al menos uno de los regímenes de estatinas terapéuticas diarios es la dosis diaria autorizada más baja de una estatina).

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo para su uso en el tratamiento de pacientes con hipercolesterolemia que no están en terapia con estatinas.

Una realización proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de hipercolesterolemia en un paciente en necesidad del mismo, que comprende: (a) seleccionar un paciente que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas; y (b) administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno del mismo al paciente.

Otra realización proporciona una composición farmacéutica para su uso en reducir los niveles de C-LDL en suero en un paciente sin inducir dolor de músculos esqueléticos, molestia, debilidad o dolor de tipo cólico, que comprende: (a) seleccionar un paciente que ha experimentado un síntoma relacionado con los músculos esqueléticos que empezó o aumentó mientras que tomaba una dosis diaria autorizada más baja de una o más estatinas; y (b) administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno del mismo al paciente; que reduce así los niveles de C-LDL en suero en el paciente sin inducir dolor de músculos esqueléticos, molestia debilidad o dolor de tipo cólico.

Otra realización proporciona una composición farmacéutica para su uso en reducir los niveles de C-LDL en suero en un paciente hipercolesterolémico intolerante a las estatinas, que comprende: (a) seleccionar un paciente con riesgo cardiovascular moderado, alto o muy alto que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas; y (b) administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno del mismo al paciente.

Otra realización proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de hipercolesterolemia en un paciente que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas, que comprende: (a) seleccionar un paciente con riesgo cardiovascular moderado, alto o muy alto que ha

experimentado previamente síntomas relacionados con los músculos esqueléticos que empezaron o aumentaron mientras que estaba en un régimen de estatinas terapéuticas diario; y (b) administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo al paciente.

En algunas realizaciones, el paciente experimentó previamente síntomas relacionados con los músculos esqueléticos que empezaron o aumentaron mientras que estaba en al menos dos regímenes de estatinas terapéuticas diarios separados. En algunas realizaciones, al menos uno de los regímenes de estatinas terapéuticas diarios es la dosis diaria autorizada más baja de una estatina. En algunas realizaciones, al menos uno de los regímenes de estatinas terapéuticas diarios se selecciona del grupo que consiste en: 5 mg de rosuvastatina al día, 10 mg de atorvastatina al día, 10 mg de simvastatina al día, 20 mg de lovastatina al día, 40 mg de pravastatina al día, 40 mg de fluvastatina al día y 2 mg de pitavastatina al día. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al paciente en ausencia de terapia con estatinas.

5

10

15

20

45

50

Una realización proporciona una composición farmacéutica para su uso para eliminar el uso de estatinas en un paciente hipercolesterolémico que es intolerante a las estatinas mientras que se reducen los niveles de C-LDL en suero del paciente, comprendiendo el método: (a) seleccionar un paciente que está o estaba en un régimen de estatinas terapéuticas diario y que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas; (b) interrumpir el régimen de estatinas terapéuticas diario del paciente; y (c) administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo al paciente.

En algunas realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno del mismo, presenta hipercolesterolemia definida como un nivel de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en suero superior a aproximadamente 70 mg/dL. En algunas realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, presenta hipercolesterolemia definida como un nivel de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en suero superior a aproximadamente 100 mg/dL.

En algunas realizaciones, el paciente tiene hipercolesterolemia familiar heterocigótica (HFhe). En algunas realizaciones, el paciente tiene una forma de hipercolesterolemia que es hipercolesterolemia no familiar (H no F). En algunas 25 realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene riesgo cardiovascular moderado definido como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de enfermedad cardiovascular mortal superior o igual a 1 % e inferior a 5 %. En algunas realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del 30 mismo, tiene riesgo cardiovascular alto definido como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de enfermedad cardiovascular mortal superior o igual a 5 % junto con uno o más de: (i) enfermedad renal crónica moderada, (ii) diabetes mellitus de tipo 1 sin daño de órganos afectados, (iii) diabetes mellitus de tipo 2 sin daño de órganos afectados, y/o (iv) HFhe. En algunas realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene riesgo cardiovascular muy alto definido como uno o 35 más de: (i) enfermedad cardíaca coronaria documentada; (ii) accidente cerebrovascular isquémico; (iii) accidente cerebrovascular periférico; (iv) enfermedad arterial periférica (EAP); (v) ataque isquémico transitorio (AIT); (vi) aneurisma de la aorta abdominal; (vii) oclusión de la arteria carótida >50 % sin síntomas; (viii) endarterectomía carotídea; (ix) procedimiento de prótesis endovascular de la arteria carótida; (x) estenosis de la arteria renal; (xi) procedimiento de prótesis endovascular de la arteria renal; (xii) diabetes mellitus de tipo 1 con daño de órganos afectados; y/o (xiii) 40 diabetes mellitus de tipo 2 con daño de órganos afectados.

El anticuerpo anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende secuencias de aminoácidos de CDRs de la cadena pesada y ligera que tienen SEQ ID NOs: 2, 3, 4, 7, 8 y 10. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno que se une específicamente a PCSK9 se administra al paciente a una dosis de aproximadamente 75 mg a una frecuencia de una vez cada dos semanas. En algunas realizaciones, la dosis de aproximadamente 75 mg se mantiene si el C-LDL del paciente medido después de cinco o más dosis es <70 mg/dL. En algunas realizaciones, la dosis de aproximadamente 75 mg se interrumpe si el C-LDL del paciente medido después de cinco o más dosis sigue siendo ≥70 mg/dL, y el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9 se administra posteriormente al paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg a una frecuencia de una vez cada dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno que se une específicamente a PCSK9 se administra al paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg a una frecuencia de una vez cada dos semanas.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al paciente en combinación con una terapia modificadora de lípidos no de estatinas. En algunas realizaciones, la terapia modificadora de lípidos no de estatinas comprende un agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste en ezetimiba, un fibrato, niacina, un ácido graso omega-3 y una resina de ácido biliar.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica para su uso mejora los niveles en suero de uno o más

componentes lipídicos seleccionados del grupo que consiste en: (a) reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) del paciente en al menos 35 %; (b) reducción de la apolipoproteína B (ApoB) del paciente en al menos 25 %; (c) reducción del colesterol no de las lipoproteínas de alta densidad (C no HDL) del paciente en al menos 30 %; (d) reducción del colesterol total del paciente en al menos 20 %; y (e) reducción de la lipoproteína a (Lp(a)) del paciente en al menos 15 %.

5

10

15

20

25

30

35

40

55

Una realización proporciona una composición farmacéutica para su uso en mejorar el nivel en suero de uno o más componentes lipídicos en un paciente hipercolesterolémico intolerante a las estatinas, comprendiendo el método: (a) seleccionar un paciente con riesgo cardiovascular moderado, alto o muy alto que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas; y (b) administrar múltiples dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 al paciente en una cantidad de administración de aproximadamente 75 a 150 mg por dosis, y una frecuencia de administración de aproximadamente una vez cada dos semanas, en donde después de aproximadamente 24 semanas de tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9, la mejora en el nivel en suero de uno o más componentes lipídicos se selecciona del grupo que consiste en: (a) reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) del paciente en al menos 35 %; (b) reducción de la apolipoproteína B (ApoB) del paciente en al menos 25 %; (c) reducción del colesterol no de las lipoproteínas de alta densidad (C no HDL) del paciente en al menos 30 %; (d) reducción del colesterol total del paciente en al menos 20 %; y (e) reducción de la lipoproteína a (Lp(a)) del paciente en al menos 15 %.

Otra realización de la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento de hipercolesterolemia en un paciente en necesidad del mismo, que comprende administrar al paciente como una monoterapia una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno del mismo, en donde la composición se administra cada dos semanas y el paciente no está tomando simultáneamente otra terapia modificadora de lípidos, tratando así la hipercolesterolemia en el paciente.

Otra realización de la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en reducir el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en un paciente en necesidad del mismo, que comprende administrar al paciente como una monoterapia una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, en donde la composición se administra cada dos semanas y el paciente no está tomando simultáneamente otra terapia modificadora de lípidos, que reduce así el C-LDL en el paciente.

Otra realización de la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en mantener constante los niveles de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en un paciente que comprende administrar al paciente como una monoterapia una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo a una dosis inicial de aproximadamente 75 mg, en donde la composición se administra cada dos semanas, y en donde el paciente no está tomando simultáneamente otra terapia hipolipemiante, manteniendo así constantes los niveles de C-LDL en el paciente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al paciente durante al menos 24 semanas, y los niveles de C-LDL del paciente se mantienen constantes durante 20 semanas.

En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el paciente es intolerante a las estatinas o tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas. En algunas realizaciones, el paciente experimentó previamente síntomas relacionados con los músculos esqueléticos que empezaron o aumentaron mientras que estaba con al menos dos regímenes de estatinas terapéuticas diarios separados. En algunas realizaciones, al menos uno de los regímenes de estatinas terapéuticas diarios es la dosis diaria autorizada más baja de una estatina. En algunas realizaciones, al menos uno de los regímenes de estatinas terapéuticas diarios se selecciona del grupo que consiste en: 5 mg de rosuvastatina al día, 10 mg de atorvastatina al día, 10 mg de simvastatina al día, 20 mg de lovastatina al día, 40 mg de pravastatina al día, 40 mg de pitavastatina al día.

45 En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, presenta hipercolesterolemia definida como un nivel de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en suero superior a aproximadamente 70 mg/dL.

En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, presenta hipercolesterolemia definida como un nivel de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en suero superior a aproximadamente 100 mg/dL.

En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el paciente tiene hipercolesterolemia familiar heterocigótica (HFhe). En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el paciente tiene una forma de hipercolesterolemia que es hipercolesterolemia no familiar (H no F). En algunas realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene riesgo cardiovascular moderado definido como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de enfermedad cardiovascular mortal superior o igual a 1 % e inferior

a 5 %. En algunas realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene riesgo cardiovascular alto definido como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de enfermedad cardiovascular mortal superior o igual a 5 % junto con uno o más de: (i) enfermedad renal crónica moderada, (ii) diabetes mellitus de tipo 1 sin daño de órganos afectados, (iii) diabetes mellitus de tipo 2 sin daño de órganos afectados, y/o (iv) HFhe. En algunas realizaciones, el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene riesgo cardiovascular muy alto definido como uno o más de: (i) enfermedad cardíaca coronaria documentada; (ii) accidente cerebrovascular isquémico; (iii) accidente cerebrovascular periférico; (iv) enfermedad arterial periférica (EAP); (v) ataque isquémico transitorio (AIT); (vi) aneurisma de la aorta abdominal; (vii) oclusión de la arteria carótida >50 % sin síntomas; (viii) endarterectomía carotídea; (ix) procedimiento de prótesis endovascular de la arteria carótida; (x) estenosis de la arteria renal; (xi) procedimiento de prótesis endovascular de la arteria renal; (xii) diabetes mellitus de tipo 1 con daño de órganos afectados; y/o (xiii) diabetes mellitus de tipo 2 con daño de órganos afectados.

En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende secuencias de aminoácidos de CDRs de la cadena pesada y ligera que tienen SEQ ID NOs: 2, 3, 4, 7, 8 y 10. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno que se une específicamente a PCSK9 se administra al paciente a una dosis de aproximadamente 75 mg a una frecuencia de una vez cada dos semanas. En algunas realizaciones, la dosis de aproximadamente 75 mg se mantiene si el C-LDL del paciente medido después de cinco o más dosis es <70 mg/dL. En algunas realizaciones, la dosis de aproximadamente 75 mg se interrumpe si el C-LDL del paciente medido después de cinco o más dosis sigue siendo ≥70 mg/dL, y el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9 se administra posteriormente al paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg a una frecuencia de una vez cada dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno que se une específicamente a PCSK9 se administra al paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg a una frecuencia de una vez cada dos semanas.

En algunas realizaciones que proporcionan la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una monoterapia, el método mejora los niveles en suero de uno o más componentes lipídicos seleccionados del grupo que consiste en: (a) reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) del paciente en al menos 35 %; (b) reducción de la apolipoproteína B (ApoB) del paciente en al menos 25 %; (c) reducción del colesterol no de las lipoproteínas de alta densidad (C no HDL) del paciente en al menos 30 %; (d) reducción del colesterol total del paciente en al menos 20 %; y (e) reducción de la lipoproteína a (Lp(a)) del paciente en al menos 15 %.

Una realización proporciona una composición farmacéutica para su uso en reducir los niveles de PCSK9 libre en un paciente que comprende administrar al paciente como una monoterapia una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o proteína de unión al antígeno a una dosis de aproximadamente 75 mg, en donde la composición se administra cada dos semanas, y en donde el paciente no está tomando simultáneamente otra terapia hipolipemiante, reduciendo así los niveles de PCSK9 libre en el paciente.

Una realización proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en mejorar el nivel en suero de uno o más componentes lipídicos en un paciente en necesidad del mismo que comprende administrar múltiples dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 como una monoterapia al paciente en una cantidad de administración de aproximadamente 75 a 150 mg por dosis, a una frecuencia de administración de aproximadamente una vez cada dos semanas, en donde el paciente no está tomando simultáneamente otra terapia modificadora de lípidos y en donde después de aproximadamente 24 semanas de tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9 la mejora en el nivel en suero de uno o más componentes lipídicos se selecciona del grupo que consiste en: (a) reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) del paciente en al menos 35 %; (b) reducción de la apolipoproteína B (ApoB) del paciente en al menos 25 %; (c) reducción del colesterol no de las lipoproteínas de alta densidad (C no HDL) del paciente en al menos 30 %; (d) reducción del colesterol total del paciente en al menos 20 %; y (e) reducción de la lipoproteína a (Lp(a)) del paciente en al menos 15 %.

Otras realizaciones de la presente invención serán evidentes a partir de una revisión de la siguiente descripción detallada.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

5

10

15

40

45

50

55

La **Figura 1** muestra el diseño del estudio del ensayo clínico descrito en el Ejemplo 2. Aunque el protocolo requirió un umbral de C-LDL de ≥100 mg/dL para el ajuste ascendente de la dosis, se aplicó un umbral de ≥70 mg/dL en un modo ciego en este estudio. Las flechas a lo largo de la parte inferior de la figura indican los tiempos de evaluación. EOT, final del tratamiento; EZE, ezetimiba; C-LDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; NCEP ATP III TCP, Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol;

Q2W, cada 2 semanas; W, semana.

La **Figura 2** muestra la disposición de pacientes del ensayo clínico descrito en el Ejemplo 2. \*Los eventos de la vida hicieron muy difícil la continuación. IDT, intención de tratar.

La **Figura 3** es un gráfico que muestra los niveles de C-LDL (mg/dL) frente al momento de tiempo del estudio (análisis durante el tratamiento) para el ensayo clínico descrito en el Ejemplo 2. Los valores por encima de los puntos de datos de la Semana 12 y la Semana 24 indican el cambio en % de la media de MC (EE) desde el nivel inicial. C-LDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; MC, mínimos cuadrados; EE, error estándar.

La **Figura 4** es un grupo de cuatro gráficos que muestran la distribución de los cambios en porcentaje en C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12 **(Figura 4A)** y Semana 24 **(Figura 4B)** en pacientes tratados con mAb316P (alirocumab), y Semana 12 **(Figura 4C)** y Semana 24 **(Figura 4D)** en pacientes tratados con ezetimiba (Población en tratamiento) en el ensayo clínico descrito en el Ejemplo 2.

La **Figura 5** es un grupo de dos gráficos que muestran los análisis de subgrupos de cambio en porcentaje desde el nivel inicial en C-LDL en la Semana 24 según las características demográficas (**Figura 5A**) y otras características del nivel inicial (**Figura 5B**) (Población IDT) para el ensayo clínico descrito en el Ejemplo 2.

La **Figura 6** muestra una serie de gráficos que ilustran los niveles medios de C-LDL (**Figura 6A**), concentraciones C<sub>valle</sub> y C<sub>seguimiento</sub> de mAb316P (alirocumab) (**Figura 6B**), y los niveles de PCSK9 libre (**Figura 6C**) en pacientes tratados con mAb316P según el estado de ajuste ascendente de la dosis en el ensayo clínico descrito en el Ejemplo 2. Los valores de C<sub>valle</sub> se tomaron 14±6 días después de la inyección previa; los valores de C<sub>seguimiento</sub> se tomaron > 21 días después de la última inyección. Los triángulos representan el grupo de ajuste ascendente de la dosis en la Semana 12. Los cuadrados representan el grupo sin ajuste ascendente de la dosis en la Semana 12.

La **Figura 7** es un diagrama de flujo del estudio que ilustra el ensayo clínico descrito en el Ejemplo 3 en el presente documento. "REGN727" es una designación para el anticuerpo denominado en el presente documento alirocumab o mAb316P.

# 25 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir la presente invención, se debe entender que la presente invención no se limita a métodos y condiciones experimentales particulares descritas, y que pueden variar dichos métodos y condiciones. También se debe entender que la terminología usada en el presente documento es con el fin de describir realizaciones particulares solo, y no pretende ser limitante, puesto que el alcance de la presente invención se limitará solo por las reivindicaciones adjuntas.

#### Definiciones

5

10

30

50

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto habitual en la técnica.

Se indica aquí que como se usa en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" también incluyen la referencia en plural, a menos que el contexto lo imponga claramente de otro modo.

El término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico citado particular, significa que el valor puede variar desde el valor citado en no más de 1 %. Por ejemplo, como se usa en el presente documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101 y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Los términos "administrar" o "administración" se refieren al acto de inyectar o suministrar físicamente de otro modo una sustancia como existe fuera del cuerpo (por ejemplo, una formulación de la invención) en un paciente, tal como por administración mucosa, intradérmica, intravenosa, subcutánea, intramuscular y/o cualquier otro método de administración física descrita en el presente documento o conocido en la técnica. Cuando está tratándose una enfermedad, o un síntoma de la misma, la administración de la sustancia normalmente ocurre después de la aparición de la enfermedad o síntomas de la misma. Cuando se está previniendo una enfermedad o síntomas de la misma.

Los términos "composición" y "formulación" pretenden englobar un producto que contiene los componentes especificados (por ejemplo, un anticuerpo anti-PCSK9) en, opcionalmente, las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directamente o indirectamente, de la combinación de los componentes especificados en, opcionalmente, las cantidades especificadas.

El término "excipientes" se refiere a sustancias inertes que se usan comúnmente como un diluyente, vehículo, conservante, aglutinante, agente estabilizante, etc., para fármacos e incluye, pero no se limita a, proteínas (por ejemplo, albúmina de suero, etc.), aminoácidos (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, glicina, histidina, etc.), ácidos grasos y fosfolípidos (por ejemplo, sulfonatos de alquilo, caprilato, etc.), tensioactivos (por ejemplo, SDS,

polisorbato, tensioactivo no iónico, etc.), sacáridos (por ejemplo, sacarosa, maltosa, trehalosa, etc.) y polioles (por ejemplo, manitol, sorbitol, etc.). Véase, por tanto, Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pa.

- En el contexto de un péptido o polipéptido, el término "fragmento" se refiere a un péptido o polipéptido que comprende menos de la secuencia de aminoácidos de longitud completa. Dicho fragmento puede surgir, por ejemplo, de una truncación en el extremo amino, una truncación en el extremo carboxi, y/o una deleción interna de un resto(s) de la secuencia de aminoácidos. Los fragmentos pueden resultar, por ejemplo, de corte y empalme alternativo de ARN o de actividad de proteasa *in vivo*. En ciertas realizaciones, los fragmentos de PCSK9 incluyen polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos de al menos 50, al 100 restos de aminoácidos, al menos 125 restos de aminoácidos contiguos, al menos 175 restos de aminoácidos contiguos, al menos 200 restos de aminoácidos contiguos, o al menos 250 restos de aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos de un polipéptido PCSK9. En una realización específica, un fragmento de un polipéptido PCSK9 o un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno PCSK9, retiene al menos 1, al menos 2, o al menos 3 funciones del polipéptido o anticuerpo de longitud completa.
- El término "farmacéuticamente aceptable" significa que está autorizado por una agencia reguladora del gobierno federal o uno estatal, o enumerado en la Farmacopea de los EE. UU., Farmacopea Europea u otra farmacopea reconocida, en general, para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.
- Los términos "previenen", "prevenir" y "prevención" se refieren a la inhibición total o parcial del desarrollo, reaparición, aparición o diseminación de una enfermedad mediada por PCSK9 y/o síntoma relacionado con la misma, resultante de la administración de una terapia o combinación de terapias proporcionadas en el presente documento (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos).
  - El término "antígeno PCSK9" se refiere a que la porción de un polipéptido PCSK9 a la que se une específicamente un anticuerpo. Un antígeno PCSK9 también se refiere a un análogo o derivado de un polipéptido PCSK9 o fragmento del mismo al que se une específicamente un anticuerpo. En algunas realizaciones, un antígeno PCSK9 es un antígeno PCSK9 monomérico o un antígeno PCSK9 trimérico. Una región de un polipéptido PCSK9 que contribuye a un epítope puede ser aminoácidos contiguos del polipéptido, o el epítope se puede juntar de dos o más regiones no contiguas del polipéptido. El epítope puede o puede no ser una característica superficial tridimensional del antígeno. Una región localizada sobre la superficie de un antígeno PCSK9 que es capaz de provocar una respuesta inmunitaria es un epítope PCSK9. El epítope puede o puede no ser una característica superficial tridimensional del antígeno.

25

45

50

55

- 30 El término "PCSK9 humano", "hPCSK9" o "polipéptido hPCSK9" y términos similares se refieren a los polipéptidos ("polipéptidos", "péptidos" y "proteínas" se usan indistintamente en el presente documento) que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 198 y polipéptidos relacionados, que incluyen variantes de SNP de los mismos. Los polipéptidos relacionados incluyen variantes alélicas (por ejemplo, variantes SNP); variantes de corte y empalme; fragmentos; derivados; variantes de sustitución, deleción e inserción; polipéptidos de fusión; y homólogos entre especies, preferentemente, que retienen la actividad de PCSK9 y/o son suficientes para generar una respuesta inmunitaria anti-PCSK9. También están englobadas formas solubles de PCSK9 que son suficientes para generar una respuesta inmunológica anti-PCSK9. Como apreciarán los expertos en la técnica, un anticuerpo anti-PCSK9 se puede unirse a un polipéptido PCSK9, fragmento de polipéptido, antígeno, y/o epítope, ya que el epítope es parte del antígeno más grande, que es parte del fragmento de polipéptido más grande, que, a su vez, es parte del polipéptido más grande.
  40 hPCSK9 puede existir en una forma trímera (nativa) o monómera (desnaturalizada).
  - Los términos "enfermedad mediada por PCSK9", "afección mediada por PCSK9" y "trastorno mediado por PCSK9" se usan indistintamente y se refieren a cualquier enfermedad que es completamente o parcialmente provocada por o es el resultado de PCSK9, por ejemplo, hPCSK9. En ciertas realizaciones, PCSK9 se expresa anormalmente (por ejemplo, altamente). En algunas realizaciones, PCSK9 se pueden regular anormalmente por incremento. En otras realizaciones, la señalización normal, anormal o excesiva de células se provoca por la unión de PCSK9 a un ligando PCSK9. En ciertas realizaciones, el ligando PCSK9 es un receptor de PCSK9. En ciertas realizaciones, la enfermedad mediada o afección por PCSK9 se selecciona del grupo que consiste en: niveles totales elevados de colesterol; niveles elevados de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL); hiperlipidemia; dislipidemia; hipercolesterolemia, particularmente hipercolesterolemia no controlada por estatinas, hipercolesterolemia, tal como hipercolesterolemia familiar o hipercolesterolemia no familiar, e hipercolesterolemia no controlada por estatinas; aterosclerosis; y enfermedades cardiovasculares.
  - Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente. Como se usa en el presente documento, un sujeto es preferentemente un mamífero, tal como un no primate (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos, gatos, perros, ratas, etc.) o un primate (por ejemplo, mono y humano), lo más preferentemente un humano. En una realización, el sujeto es un mamífero, preferentemente un humano, que tiene una enfermedad mediada por PCSK9. En otra realización, el sujeto es un mamífero, preferentemente un humano, en riesgo de desarrollar una enfermedad mediada por PCSK9.

El término "agente terapéutico" se refiere a cualquier agente que se pueda usar en el tratamiento, manejo o mejora de una enfermedad mediada por PCSK9 y/o un síntoma relacionado con la misma. En ciertas realizaciones, el término "agente terapéutico" se refiere a un anticuerpo contra PCSK9 para su uso de la invención. En ciertas otras

realizaciones, el término "agente terapéutico" se refiere a un agente distinto de un anticuerpo contra PCSK9 para el uso de la invención. Preferentemente, un agente terapéutico es un agente que se conoce por ser útil para, o ha sido o está siendo actualmente usado para el tratamiento, manejo o mejora de una enfermedad mediada por PCSK9 o uno o más síntomas relacionados con la misma.

- El término "terapia" se refiere a cualquier protocolo, método y/o agente que se puede usar en la prevención, manejo, tratamiento y/o mejora de una enfermedad mediada por PCSK9 (por ejemplo, aterosclerosis o hipercolesterolemia). En ciertas realizaciones, los términos "terapias" y "terapia" se refieren a una terapia biológica, terapia complementaria, y/u otras terapias útiles en la prevención, manejo, tratamiento y/o mejora de una enfermedad mediada por PCSK9 conocida para un experto en la técnica, tal como personal médico.
- Los términos "tratar", "tratamiento" y "tratar" se refieren a la reducción o mejora de la progresión, gravedad y/o duración de una enfermedad mediada por PCSK9 (por ejemplo, aterosclerosis) resultante de la administración de una o más terapias (que incluyen, pero no se limitan a, la administración de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos). En realizaciones específicas, dichos términos se refieren a la reducción o inhibición de la unión de PCSK9 a un ligando PCSK9.
- Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento se puede usar en la práctica de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

## Selección de pacientes

20

25

30

40

La presente invención incluye composiciones farmacéuticas para su uso, entre otras cosas, para tratar pacientes que tienen hipercolesterolemia que no están en terapia con estatinas, que incluyen pacientes que son insensibles a las estatinas, mal controlados con terapia con estatinas, intolerantes a las estatinas, o que tienen antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas.

La presente invención comprende seleccionar pacientes que tienen, o están en riesgo de desarrollar hipercolesterolemia y administrar a estos pacientes una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo. Por ejemplo, se puede seleccionar un paciente para el tratamiento con los métodos de la presente invención si el paciente está diagnosticado con o se ha identificado que está en riesgo de desarrollar una afección de hiperlipidemia tal como, por ejemplo, hipercolesterolemia familiar heterocigótica (HFhe), hipercolesterolemia familiar homocigótica (HFho), hipercolesterolemia dominante autosómica (ADH, por ejemplo, ADH asociado a uno o más mutaciones de ganancia de función en el gen PCSK9), hipercolesterolemia no familiar (H no F), dislipidemia y dislipidemia mixta. En ciertos aspectos, el paciente que se va a tratar está indicado para aféresis de LDL. En ciertos aspectos, un paciente con hiperlipidemia también tiene diabetes mellitus de tipo 2. En ciertos aspectos, el paciente que se va a tratar está diagnosticado con hipercolesterolemia y es intolerante a las estatinas, insensible a las estatinas, o no controlado por estatinas. Como se usa en el presente documento, la hiperlipidemia incluye hiperlipidemia primaria, hiperlipidemia secundaria y fenotipo de Fredrickson clases I-V.

Como se usa en el presente documento, la expresión "un paciente en necesidad del mismo" significa un animal humano o no humano que presenta uno o más síntomas o indicios de hiperlipidemia o que ha sido diagnosticado con hiperlipidemia, o que de otro modo se beneficiaría de una reducción en el colesterol total en suero, LDL, triglicéridos, VLDL, lipoproteína(a) [Lp(a)], o que se beneficiaría de un aumento en HDL.

La presente invención comprende seleccionar pacientes que no están actualmente en terapia con estatinas. Como se usa en el presente documento, una terapia con estatinas es un inhibidor de HMG-CoA reductasa e incluye, pero no se limita a, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, lovastatina, mevastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina, simvastatina, etc. En algunas realizaciones, las dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo se administran a un paciente cuya terapia con estatinas previa (o "de fondo") se interrumpe antes de o es simultánea con la administración de la primera dosis del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo.

45 Según ciertas realizaciones, el paciente se puede seleccionar basándose en que tiene riesgo CV moderado, alto o muy alto. El grado del riesgo CV se puede evaluar y expresar en términos de un valor de la PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de enfermedad cardiovascular (ECV) mortal, como se define por The Task Force for the Management of Dislipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS), como se expone en ESC/EAS Guidelines for the Management of Dislipidaemias, European Heart Journal, 2100; 32:1769-1818 (denominado en el presente documento "ESC/EAS 2011"). Como se usa en el presente documento, 50 "riesgo CV moderado" significa una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de ECV moral superior o igual a 1 % e inferior a 5 %. Como se usa en el presente documento, "riesgo CV alto" significa una PUNTUACIÓN calculada de 10 años de riesgo ECV mortal superior o igual a 5 %, y/o enfermedad renal (ERC) moderada, y/o diabetes mellitus de tipo 1 o tipo 2 sin daño de órganos afectados, y/o HFhe. Como se usa en el presente documento, "riesgo CV muy 55 alto" significa antecedentes de enfermedad cardíaca coronaria (ECC) documentada, accidente cerebrovascular isquémico, enfermedad arterial periférica (EAP), ataque isquémico transitorio (AIT), aneurisma de la aorta abdominal, oclusión de la arteria carótida superior a 50 % sin síntomas, endarterectomía carotídea o procedimiento de prótesis endovascular de la arteria carótida, estenosis de la arteria renal, procedimiento de prótesis endovascular de la arteria renal,

y/o diabetes mellitus de tipo 1 o tipo 2 con daño de órganos afectados.

5

35

40

45

50

55

Según ciertas realizaciones, el paciente se puede seleccionar basándose en que tiene antecedentes de enfermedad cardíaca coronaria (ECC). Como se usa en el presente documento, "antecedentes de ECC" (o "antecedentes documentados de ECC") incluye uno o más de: (i) infarto agudo de miocardio (IM); (ii) IM silencioso; (iii) angina inestable; (iv) procedimiento de revascularización coronaria (por ejemplo, intervención coronaria percutánea [ICP] o cirugía de injerto de derivación de las arterias coronarias [IDAC]); y/o (v) ECC clínicamente significativa diagnosticada por prueba invasiva o no invasiva (tal como angiografía coronaria, ensayo de esfuerzo usando cinta de correr, ecocardiografía de esfuerzo o imágenes de resonancia magnética nuclear).

- Según ciertas realizaciones, el paciente se puede seleccionar basándose en que tiene uno o más factores de riesgo adicionales seleccionados del grupo que consiste en edad (por ejemplo, mayor de 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 u 80 años), raza, origen nacional, sexo (masculino o femenino), hábitos de ejercicio (por ejemplo, persona que hace ejercicio regularmente, persona que no hace ejercicio), otras afecciones médicas preexistentes (por ejemplo, diabetes de tipo II, hipertensión arterial, etc.), y estado de medicación actual (por ejemplo, tomando actualmente beta-bloqueantes, niacina, ezetimiba, fibratos, ácidos grasos omega-3, resinas de ácido biliar, etc.).
- La presente invención comprende administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo a un paciente que no está en terapia con estatinas. Los pacientes con hipercolesterolemia pueden no estar en terapia con estatinas debido a que son insensibles a las estatinas, mal controlados con terapia con estatinas, intolerantes a las estatinas, tienen antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas, o por cualquier otro motivo.
- 20 Aunque las modificaciones en el estilo de vida y el tratamiento de fármacos convencionales son frecuentemente satisfactorios en reducir los niveles de colesterol, no todos los pacientes son capaces de alcanzar los niveles de colesterol objetivo recomendados con dichos enfoques. Diversas afecciones, tales como hipercolesterolemia familiar (FH), parece ser resistente a reducir los niveles de C-LDL a pesar del uso agresivo de terapia convencional. La hipercolesterolemia familiar homocigótica y heterocigótica (HFho, HFhe) son afecciones asociadas a enfermedad vascular aterosclerótica prematura. Sin embargo, los pacientes diagnosticados con HFho son en gran medida insensibles a la farma-25 coterapia convencional y tienen opciones de tratamiento limitadas. Específicamente, el tratamiento con estatinas, que reduce C-LDL inhibiendo la síntesis del colesterol y regulando por incremento el receptor hepático de LDL, puede tener poco efecto en pacientes cuyos receptores de LDL son inexistentes o defectuosos. Se ha informado recientemente de una reducción media de C-LDL de solo menos de aproximadamente 20 % en pacientes con HFho de genotipo confir-30 mado tratados con la máxima dosis de estatinas. La adición de ezetimiba 10 mg/día a este régimen produjo una reducción total de los niveles de C-LDL de 27 %, que está todavía lejos de ser óptima. Asimismo, muchos pacientes son insensibles a las estatinas o están mal controlados con terapia con estatinas.
  - En algunos aspectos, la presente invención comprende administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo a un paciente que es "intolerante a las estatinas". Como se usa en el presente documento, se considera que un paciente es "intolerante a las estatinas" si el paciente tiene antecedentes de experimentar una o más reacciones adversas que empezaron o aumentaron mientras que estaba en un régimen terapéutico de estatinas diario y se detuvo cuando se interrumpió la terapia con estatinas. En ciertas realizaciones, las reacciones adversas son de naturaleza musculoesquelética, por ejemplo, dolor de músculos esqueléticos, dolores, debilidad o dolor de tipo cólico (por ejemplo, mialgia, miopatía, rabdomiólisis, etc.). En ciertas realizaciones, las reacciones adversas son dolor de músculos esqueléticos o dolores que ocurren o son intensificados tras el ejercicio o la ejercitación. Las reacciones adversas relacionadas con estatinas también incluyen síntomas hepáticos, gastrointestinales y psiguiátricos que se correlacionan con la administración de estatinas. Según ciertas realizaciones, se considera que un paciente es "intolerante a las estatinas" si el paciente tiene antecedentes de síntomas relacionados con los músculos esqueléticos asociados a al menos dos pautas terapéuticas de estatinas diarias diferentes y separadas. Según ciertas realizaciones, un paciente es "intolerante a las estatinas" si el paciente presenta una o más reacción (reacciones) adversa(s) relacionadas con las estatinas a las dosis diarias autorizadas más bajas de una o más estatinas. En ciertas realizaciones, un paciente es "intolerante a las estatinas" si el paciente es incapaz de tolerar una dosis de estatinas semanal acumulada de siete veces el tamaño de comprimidos autorizado más bajo. Según otras realizaciones de la presente invención, un paciente es "intolerante a las estatinas" si el paciente es capaz de tolerar una terapia con estatinas de baja dosis, pero desarrolla síntomas cuando la dosis es elevada (por ejemplo, para lograr un nivel objetivo de C-LDL).
    - Según la presente invención, "antecedentes de síntomas relacionados con los músculos esqueléticos asociados a tomar al menos dos estatinas diferentes y separadas" incluye dolor relacionado con los músculos esqueléticos, dolores, debilidad y/o dolor de tipo cólico, que empezaron o aumentaron durante la terapia con estatinas y se detuvieron cuando se interrumpió la terapia con estatinas. En el contexto de la presente invención, las terapias de estatinas asociadas a la intolerancia a las estatinas a modo de ejemplo puede incluir regímenes de estatinas terapéuticas diarios seleccionados del grupo que consiste en: 5 mg de rosuvastatina al día, 10 mg de atorvastatina al día, 10 mg de simvastatina al día, 20 mg de lovastatina al día, 40 mg de pravastatina al día, 40 mg de fluvastatina al día y 2 mg de pitavastatina al día.
- 60 Los pacientes que se pueden tratar con la composición farmacéutica de la presente invención pueden estar recibiendo

una o varias de otras terapias modificadoras de lípidos no de estatinas. Alternativamente, pueden no estar recibiendo ninguna otra terapia modificadora de lípidos; en este caso, la administración del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo se puede describir como una monoterapia. Como se usa en el presente documento, el uso del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como una "monoterapia" significa en ausencia de cualquier otra terapia modificadora de lípidos simultánea.

Métodos de tratamiento de hiperlipidemia y reducción de los niveles de C-LDL en suero

Según ciertas realizaciones, el paciente que es tratable por los métodos de la presente invención tiene hipercolesterolemia (algunas veces denominado en el presente documento "un paciente hipercolesterolémico"). La "hipercolesterolemia", como se usa en el presente documento, incluye una concentración de C-LDL en suero superior o igual a 100 mg/dL, dependiendo del riesgo cardiovascular del paciente ("riesgo CV"). Por ejemplo, para pacientes con un riesgo CV muy alto (como se define en cualquier parte en el presente documento), se considera que el paciente tiene hipercolesterolemia si la concentración de C-LDL en suero del paciente es mayor o igual a aproximadamente 70 mg/dL. Para pacientes con riesgo CV moderado o alto (como se define en cualquier parte en el presente documento), se considera que el paciente tiene hipercolesterolemia si la concentración de C-LDL en suero del paciente es mayor o igual a aproximadamente 100 mg/dL.

La hipercolesterolemia, para los fines de la presente invención, incluye hipercolesterolemia familiar heterocigótica (HFhe), hipercolesterolemia familiar homocigótica (HFho), hipercolesterolemia dominante autosómica (ADH, por ejemplo, ADH asociada a una o más mutaciones de ganancia de función en el gen PCSK9), así como incidencias de hipercolesterolemia que son distintas de hipercolesterolemia familiar (H no F).

La presente invención incluye composiciones farmacéuticas para reducir los niveles de C-LDL en suero en un paciente. El paciente puede ser un paciente hipercolesterolémico intolerante a las estatinas, o cualquier otro paciente para el que una reducción en el C-LDL en suero se considera beneficiosa o deseable. Similarmente, la presente invención incluye composiciones farmacéuticas para reducir los niveles de C-LDL en suero en un paciente sin inducir dolor de músculos esqueléticos, molestia, debilidad, o dolor de tipo cólico. Como se usa en este contexto, "reducir los niveles de C-LDL en suero" significa causar que el nivel en suero de C-LDL del paciente se reduzca en al menos 10 % (por ejemplo, al menos 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 % o más).

Métodos de eliminación o reducción del uso de estatinas

La presente invención incluye una composición farmacéutica para su uso, entre otras cosas, para eliminar o reducir el uso de estatinas en un paciente con hipercolesterolemia, que incluye un paciente hipercolesterolémico, por ejemplo, un paciente hipercolesterolémico que es intolerante a las estatinas. Los métodos según este aspecto de la invención comprenden: (a) seleccionar un paciente que está o estaba en un régimen de estatinas terapéuticas diario y que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas; y (b) interrumpir o reducir el régimen de estatinas terapéuticas diario del paciente; y (c) administrar una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo al paciente. Según ciertas realizaciones de este aspecto de la invención, el régimen de estatinas terapéuticas diario del paciente puede ser completamente interrumpido en el momento de o justo antes del comienzo de un ciclo terapéutico de tratamiento que comprende la administración de una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo al paciente. En otras realizaciones, el régimen de estatinas terapéuticas diario del paciente puede ser gradualmente reducido en el momento de o justo antes del comienzo de un ciclo terapéutico de tratamiento que comprende la administración de una o más dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo al paciente. La reducción gradual de un régimen de estatinas, en el contexto de este aspecto de la invención, puede comprender reducir la cantidad de estatina administrada a un paciente, y/o disminuir la frecuencia de administración de estatina al paciente. La reducción gradual de un régimen de estatinas, según este aspecto de la invención, puede dar como resultado la completa eliminación del uso de estatinas por el paciente mientras que el paciente está recibiendo un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo en lugar de la estatina. A este respecto, los efectos adversos de las estatinas sobre un paciente se reducen o eliminan reduciendo o eliminando el uso de estatinas por el paciente, mientras que todavía se permite el tratamiento adecuado de la hipercolesterolemia en el paciente por administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo.

## Eficacia terapéutica

5

10

15

30

35

40

45

55

La composición farmacéutica de la presente invención da como resultado la reducción en los niveles en suero de uno o más componentes lipídicos seleccionados del grupo que consiste en C-LDL, ApoB100, C no HDL, colesterol total, VC-LDL, triglicéridos, Lp(a) y/o colesterol remanente, y ApoA-1 creciente.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo a un paciente con hipercolesterolemia como una monoterapia, en ausencia de cualquier otra terapia modificadora de lípidos, dará como resultado una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en suero de al menos aproximadamente 25 %, 30 %, 40 %, 45 %, 50 %, 60 %, o mayor; una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en ApoB100 de al menos aproximadamente 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, o mayor; una

reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en C no HDL de al menos aproximadamente 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, o mayor; una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en colesterol total de al menos aproximadamente 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, o mayor; y/o un aumento medio en porcentaje desde el nivel inicial en ApoA-1 de al menos aproximadamente 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, o mayor. Las reducciones en porcentaje en los diversos parámetros de lípidos como se expone anteriormente se pueden lograr en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, o más semanas después del comienzo de un régimen terapéutico que comprende la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como se desvela en el presente documento (por ejemplo, 75 mg o 150 mg de mAb316P administrado una vez cada dos semanas, u otros regímenes de administración similares; véase, por ejemplo, el Ejemplo 2 en el presente documento).

10 Según ciertas realizaciones específicas, la presente invención incluye una composición farmacéutica para reducir los niveles de C-LDL en suero en un paciente hipercolesterolémico en ausencia de cualquier otra terapia modificadora de lípidos. Las composiciones farmacéuticas usadas según este aspecto de la invención comprenden: (a) seleccionar un paciente con C-LDL entre 100 mg/dL (2,59 mmol/L) y 190 mg/dL (4,9 mmol/L) que está en riesgo cardiovascular moderado y que no está recibiendo ninguna otra terapia modificadora de lípidos; y (b) administrar múltiples dosis de un 15 anticuerpo anti-PCSK9 al paciente en una cantidad de administración de aproximadamente 75 a 150 mg por dosis, y una frecuencia de administración de aproximadamente una vez cada dos semanas, en donde después de aproximadamente 24 semanas de tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9, el paciente presenta una o más mejoras en los parámetros de lípidos seleccionados del grupo que consiste en: una reducción en el nivel de C-LDL desde el nivel inicial de aproximadamente 47 %, una reducción en el nivel de C no HDL desde el nivel inicial de aproximadamente 20 41 %, una reducción en el nivel de Apo B desde el nivel inicial de aproximadamente 37 %, y/o una reducción en el nivel de colesterol total desde el nivel inicial de aproximadamente 30 %. Las composiciones farmacéuticas para su uso según este aspecto de la invención pueden comprender interrumpir la terapia modificadora de lípidos de fondo del paciente antes de o simultáneamente con el comienzo del tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9.

Las composiciones farmacéuticas para su uso de la presente invención dan como resultado la reducción en los niveles en suero de uno o más componentes lipídicos seleccionados del grupo que consiste en C-LDL, ApoB100, C no HDL, colesterol total, C-VLDL, triglicéridos, Lp(a) y/o colesterol remanente. Por ejemplo, según ciertas realizaciones de la presente invención. la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo a un paciente con hipercolesterolemia que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas (también denominado en el presente documento un "paciente hipercolesterolémico intolerante a las estatinas") dará como resultado una reducción media en el porcentaje desde el nivel inicial en el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad en suero (C-LDL) de al menos aproximadamente 25 %, 30 %, 40 %, 45 %, 50 %, 60 %, o mayor; una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en ApoB100 de al menos aproximadamente 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, o mayor; una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en C no HDL de al menos aproximadamente 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, o mayor; una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en el colesterol total de al menos aproximadamente 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, o mayor; una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en C-VLDL de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, o mayor; una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en triglicéridos (por ejemplo, triglicéridos en ayunas) de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % o mayor; y/o una reducción media en porcentaje desde el nivel inicial en Lp(a) de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, o mayor. Las reducciones en porcentaje en los diversos parámetros de lípidos como se expone anteriormente se pueden lograr en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, o más semanas después del comienzo de un régimen terapéutico que comprende la administración de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo como se desvela en el presente documento (por ejemplo, 75 mg o 150 mg de mAb316P administrados una vez cada dos semanas, u otros regímenes de administración similares; véase, por ejemplo, el Ejemplo 3 en el presente documento).

Según ciertas realizaciones específicas, la presente invención incluye composiciones farmacéuticas para su uso en reducir los niveles de C-LDL en suero en un paciente hipercolesterolémico intolerante a las estatinas. Las composiciones farmacéuticas para su uso según este aspecto de la invención comprenden: (a) seleccionar un paciente con riesgo cardiovascular moderado, alto o muy alto que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas; y (b) administrar múltiples dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 al paciente en una cantidad de administración de aproximadamente 75 a 150 mg por dosis, y una frecuencia de administración de aproximadamente una vez cada dos semanas, en donde después de aproximadamente 24 semanas de tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9, el paciente presenta una o más mejoras en los parámetros de lípidos seleccionados del grupo que consiste en: una reducción en el nivel de C-LDL desde el nivel inicial de aproximadamente 45 %, una reducción en el nivel de C no HDL desde el nivel inicial de aproximadamente 40 %, una reducción en el nivel de Apo B desde el nivel inicial de aproximadamente 36 %, y/o una reducción en el nivel de Lp(a) desde el nivel inicial de aproximadamente 26 %. Las composiciones farmacéuticas para su uso según este aspecto de la invención pueden comprender interrumpir la terapia con estatinas de fondo del paciente antes de o simultáneamente con el comienzo del tratamiento con el anticuerpo anti-PCSK9.

# 60 Anticuerpos contra PCSK9

5

25

30

35

40

45

50

55

Las composiciones farmacéuticas para su uso de la presente invención comprenden administrar a un paciente una composición terapéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo. Como

se usa en el presente documento, un "anticuerpo anti-PCSK9" es un agente que se une o interacciona con PCSK9 humano e inhibe la función biológica normal de PCSK9 *in vitro* o *in vivo*. Los ejemplos de anticuerpos anti-PCSK9 o fragmentos de unión al antígeno de los mismos incluyen anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a PCSK9 humano.

El término "proproteína convertasa subtilisina/kexina humana tipo 9" o "PCSK9 humano" o "hPCSK9", como se usa en el presente documento, se refiere a PCSK9 codificado por la secuencia de ácidos nucleicos mostrada en SEQ ID NO: 197 y que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 198, o un fragmento biológicamente activo de la misma.

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, pretende referirse a moléculas de inmunoglobulina 10 que comprenden cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de los mismos (por ejemplo, IgM). Cada cadena pesada comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en el presente documento HCVR o Vн) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 y C<sub>H</sub>3. Cada cadena ligera comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en el presente documento LCVR o VL) y una 15 región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (C<sub>L</sub>1). Las regiones V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> se pueden subdividir además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDRs), intercalas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones estructurales (FR). Cada V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> está compuesta por tres CDRs y cuatro FRs, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes realizaciones de la invención, las FRs del anticuerpo anti-PCSK9 (o porción de unión al antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las 20 secuencias de la línea germinal humana, o pueden ser modificadas naturalmente o artificialmente. Se puede definir una secuencia de aminoácidos consenso basándose en un análisis comparativo directo de dos o más CDRs.

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de unión al antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Los términos "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo, y similares, como se usan en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína que existe de forma natural, obtenible enzimáticamente, sintético, o genéticamente manipulado, que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Los fragmentos de unión al antígeno de un anticuerpo se pueden derivar, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completas que usan cualquier técnica convencional adecuada, tal como digestión proteolítica o técnicas de ingeniería genética recombinante que implican la manipulación y expresión de dominios variables y opcionalmente constantes de anticuerpos que codifican ADN. Dichos ADN se conocen como y/o está fácilmente disponibles de, por ejemplo, fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (incluyendo, por ejemplo, bibliotecas de fago-anticuerpo), o se pueden sintetizar. El ADN se puede secuenciar y manipular químicamente o usando técnicas de biología molecular, por ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear restos de cisteína, modificar, añadir o delecionar aminoácidos, etc.

25

30

35

40

45

50

55

60

Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión al antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')2; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas de Fv monocatenarias (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades mínimas de reconocimiento que consisten en los restos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada tal como un péptido CDR3), o un péptido FR3-CDR3-FR4 limitado. También están englobadas dentro de la expresión "fragmento de unión al antígeno", como se usa en el presente documento, otras moléculas manipuladas, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos de dominio delecionado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), productos inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIPs) y dominios IgNAR variables de tiburón.

Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que es adyacente o está en marco con una o más secuencias de la región estructural. En los fragmentos de unión al antígeno que tienen un dominio V<sub>H</sub> asociado a un dominio V<sub>L</sub>, los dominios V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> pueden estar situados en cualquier disposición adecuada el uno con respecto al otro. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener dímeros V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>, V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> o V<sub>L</sub>-V<sub>L</sub>. Alternativamente, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V<sub>H</sub> o V<sub>L</sub> monomérico.

como resultado un enlace flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula de polipéptido. Además, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominios variables y constantes enumeradas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V<sub>H</sub> o V<sub>L</sub> monoméricos (por ejemplo, por enlace(s) disulfuro).

5

10

15

20

40

45

50

55

Como con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión al antígeno pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión al antígeno multiespecífico de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno separado o a un epítope diferente en el mismo antígeno. Se puede adaptar para su uso en el contexto de un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo para su uso en la presente invención cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, que incluye los formatos de anticuerpo biespecífico a modo de ejemplo desvelados en el presente documento, usando técnicas rutinarias disponibles en la técnica.

La región constante de un anticuerpo es importante en la capacidad de un anticuerpo para fijarse al complemento y mediar en la citotoxicidad dependiente de células. Así, el isotipo de un anticuerpo se puede seleccionar basándose en si se desea que el anticuerpo medie en la citotoxicidad.

El término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos para su uso en la invención pueden incluir, sin embargo, restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDRs y en particular CDR3. Sin embargo, el término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que se han injertado sobre secuencias de la región estructural humana secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otras especies de mamífero, tales como un ratón.

El término "anticuerpo humano recombinante", como se usa en el presente documento, pretende incluir todos los 25 anticuerpos humanos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedadora (descrita más adelante), anticuerpos aislados de una biblioteca combinatoria recombinante de anticuerpos humanos (descrita más adelante), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para los genes de la inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, 30 expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias de genes de la inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En ciertas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis in vitro (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de la humana, a mutagénesis somática in vivo) y así las secuencias de aminoácidos de las regiones  $V_H$  y  $V_L$  de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque se derivan y relacionan con las secuencias de  $V_H$  y  $V_L$  de la línea germinal humana, no pueden existir naturalmente dentro del 35 repertorio de la línea germinal de anticuerpo humano in vivo.

Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que están asociadas con heterogeneidad de bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción estable de cuatro cadenas de aproximadamente 150-160 kDa en la que los dímeros se mantienen juntos por un enlace disulfuro de cadena pesada intercatenario. En una segunda forma, los dímeros no están ligados a través de enlaces disulfuro intercatenarios y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta de una cadena ligera y pesada acopladas covalentemente (semi-anticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de purificación por afinidad.

La frecuencia de aparición de la segunda forma en los diversos isotipos de IgG intacta es debida a, pero no se limita a, diferencias estructurales asociadas al isotipo de la región de bisagra del anticuerpo. Una sustitución de un único aminoácido en la región bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105) hasta los niveles normalmente observados usando una bisagra de IgG1 humana. La presente invención engloba anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región bisagra, CH2 o CH3 que pueden ser deseables, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma deseada de anticuerpo.

Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, significa un anticuerpo que se ha identificado y separado y/o recuperado de al menos un componente de su entorno natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o retirado de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en el que el anticuerpo existe naturalmente o se produce naturalmente, es un "anticuerpo aislado" para los fines de la presente invención. Un anticuerpo aislado incluye también un anticuerpo *in situ* dentro de una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que se han sometido a al menos una etapa de purificación o aislamiento. Según ciertas realizaciones, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

El término "se une específicamente a", 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. Se conocen bien

en la técnica los métodos de determinación de si un anticuerpo se une específicamente a un antígeno, e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmones superficiales, y similares. Por ejemplo, un anticuerpo que "se une específicamente a" PCSK9, como se usa en el contexto de la presente invención, incluye anticuerpos que se unen a PCSK9 o una porción del mismo con una K<sub>D</sub> inferior a aproximadamente 1000 nM, inferior a aproximadamente 500 nM, inferior a aproximadamente 300 nM, inferior a aproximadamente 200 nM, inferior a aproximadamente 70 nM, inferior a aproximadamente 90 nM, inferior a aproximadamente 80 nM, inferior a aproximadamente 70 nM, inferior a aproximadamente 40 nM, inferior a aproximadamente 50 nM, inferior a aproximadamente 10 nM, inferior a aproximadamente 5 nM, inferior a aproximadamente 4 nM, inferior a aproximadamente 3 nM, inferior a aproximadamente 2 nM, inferior a aproximadamente 3 nM, inferior a aproximadamente 2 nM, inferior a aproximadamente 3 nM, inferior a aproximadamente 2 nM, inferior a aproximadamente 3 nM, inferior a aprox

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Los anticuerpos anti-PCSK9 comprendidos en las composiciones farmacéuticas para su uso en la presente invención pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos en la región estructural y/o regiones CDR de los dominios variables de la cadena pesada y ligera en comparación con las secuencias de la línea germinal correspondientes de las que derivaron los anticuerpos. Dichas mutaciones se pueden establecer fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento con secuencias de la línea germinal disponibles de, por ejemplo, bases de datos de secuencias de anticuerpos públicas. La presente invención incluye composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden anticuerpos, y fragmentos de unión al antígeno de los mismos, que derivan de cualquiera de las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento, en donde uno o más aminoácidos dentro de una o más regiones estructurales y/o regiones CDR están mutados al (a los) resto(s) correspondiente(s) de la secuencia de la línea germinal de la que derivó el anticuerpo, o al (a los) resto(s) correspondiente(s) de otra secuencia de la línea germinal humana, o a una sustitución de aminoácidos conservativa del (de los) resto(s) de la línea germinal correspondiente (dichos cambios de secuencia se denominan en el presente documento conjuntamente las "mutaciones de la línea germinal"). Un experto habitual en la técnica, partiendo de las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera desveladas en el presente documento, puede producir fácilmente numerosos anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno que comprenden una o más mutaciones individuales de la línea germinal o combinaciones de las mismas. En ciertas realizaciones, todos los restos de la región estructural y/o CDR dentro de los dominios V<sub>H</sub> y/o V<sub>L</sub> se retromutan a los restos encontrados en la secuencia original de la línea germinal de la que derivó el anticuerpo. En otras realizaciones, solo ciertos restos se retromutan a la secuencia original de la línea germinal, por ejemplo, solo los restos mutados encontrados dentro de los primeros 8 aminoácidos de FR1 o dentro de los últimos 8 aminoácidos de FR4, o solo los restos mutados encontrados dentro de CDR1, CDR2 o CDR3. En otras realizaciones, se mutan uno o más de los restos de la región estructural y/o CDR al (a los) restos correspondientes de una secuencia diferente de la línea germinal (es decir, una secuencia de la línea germinal que es diferente de la secuencia de la línea germinal de la que derivó originalmente el anticuerpo). Además, los anticuerpos para uso en la presente invención pueden contener cualquier combinación de dos o más mutaciones de la línea germinal dentro de las regiones estructurales y/o CDR, por ejemplo, en donde ciertos restos individuales se mutan al resto correspondiente de una secuencia particular de la línea germinal mientras que ciertos otros restos que se diferencian de la secuencia original de la línea germinal se mantienen o se mutan al resto correspondiente de una secuencia diferente de la línea germinal. Una vez obtenidos, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno que contienen una o más mutaciones de la línea germinal se pueden probar fácilmente para una o más propiedades deseadas tales como especificidad de unión mejorada, afinidad de unión incrementada, propiedades biológicas antagonistas o agonistas mejoradas o potenciadas (según lo requiera el caso), inmunogenicidad reducida, etc. El uso de composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno obtenidos en este modo general está englobado dentro de la presente invención.

La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden anticuerpos anti-PCSK9 que comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR desveladas en el presente documento que tienen una o más sustituciones conservativas. Por ejemplo, la presente invención incluye las composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden anticuerpos anti-PCSK9 que tienen secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR con, por ejemplo, 10 o menos, 8 o menos, 6 o menos, 4 o menos, etc., sustituciones de aminoácidos conservativas con respecto a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR, y/o CDR desveladas en el presente documento.

El término "resonancia de plasmones superficiales", como se usa en el presente documento, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones en tiempo real por detección de alteraciones en las concentraciones de proteína dentro de una matriz biosensora, por ejemplo usando el sistema BIAcore™ (Biacore Life Sciences, división de GE Healthcare, Piscataway, NJ).

El término "K<sub>D</sub>", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la constante de disociación en equilibrio de una interacción anticuerpo-antígeno particular.

El término "epítope" se refiere a un determinante antigénico que interacciona con un sitio de unión al antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como un parátope. Un solo antígeno puede tener más de un epítope. Así, diferentes anticuerpos se pueden unir a diferentes áreas sobre un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. Los epítopes pueden ser o bien conformacionales o lineales. Un epítope conformacional

se produce por aminoácidos espacialmente yuxtapuestos de diferentes segmentos de la cadena de polipéptidos lineal. Un epítope lineal es el producido por restos de aminoácidos adyacentes en una cadena de polipéptidos. En ciertas circunstancias, un epítope puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo, o grupos sulfonilo en el antígeno.

Según ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 comprendido en las composiciones farmacéuticas para su uso en la presente invención es un anticuerpo con características de unión dependiente del pH. Como se usa en el presente documento, la expresión "unión dependiente del pH" significa que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo presenta "unión reducida a PCSK9 a pH ácido en comparación con pH neutro" (para los fines de la presente divulgación, ambas expresiones se pueden usar indistintamente). Por ejemplo, anticuerpos "con características de unión dependiente del pH" incluyen anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen a PCSK9 con mayor afinidad a pH neutro que a pH ácido. En ciertas realizaciones, los anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de la presente invención se unen a PCSK9 con una afinidad al menos 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, o más veces más alta, a pH neutro que a pH ácido.

Según este aspecto de la invención, las composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden anticuerpos anti-PCSK9 con características de unión dependiente del pH pueden poseer una o más variaciones de aminoácidos con respecto al anticuerpo anti-PCSK9 parental. Por ejemplo, un anticuerpo anti-PCSK9 con características de unión dependiente del pH puede contener una o más sustituciones o inserciones de histidina, por ejemplo, en una o más CDRs de un anticuerpo anti-PCSK9 parental. Así, según ciertas realizaciones de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden administrar un anticuerpo anti-PCSK9 que comprende secuencias de aminoácidos de CDR (por ejemplo, CDRs de la cadena ligera y pesada) que son idénticas a las secuencias de aminoácidos de CDR de un anticuerpo anti-PCSK9 parental, excepto por la sustitución de uno o más aminoácidos de una o más CDRs del anticuerpo parental con un resto de histidina. Los anticuerpos anti-PCSK9 con unión dependiente del pH pueden poseer, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o más, sustituciones de histidina, ya sea dentro de una CDR simple de un anticuerpo parental o distribuidas a lo largo de múltiples (por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6) CDRs de un anticuerpo anti-PCSK9 parental. Por ejemplo, la presente invención incluye composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden anticuerpos anti-PCSK9 con unión dependiente del pH que comprenden una o más sustituciones de histidina en HCDR1, una o más sustituciones de histidina en HCDR2, una o más sustituciones de histidina en HCDR3, una o más sustituciones de histidina en LCDR1, una o más sustituciones de histidina en LCDR2. y/o una o más sustituciones de histidina en LCDR3, de un anticuerpo anti-PCSK9 parental.

Como se usa en el presente documento, la expresión "pH ácido" significa un pH de 6,0 o menos (por ejemplo, inferior a aproximadamente 6,0, inferior a aproximadamente 5,5, inferior a aproximadamente 5,0, etc.). La expresión "pH ácido" incluye valores de pH de aproximadamente 6,0, 5,95, 5,90, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,45, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0, o menos. Como se usa en el presente documento, la expresión "pH neutro" significa un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4. La expresión "pH neutro" incluye valores de pH de aproximadamente 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 y 7,4.

Los ejemplos no limitantes de anticuerpos anti-PCSK9 que se pueden usar en el contexto de la presente invención incluyen alirocumab o porciones de unión al antígeno del mismo.

## Preparación de anticuerpos humanos

5

10

15

20

25

40

45

50

55

Se conocen en la técnica métodos de generación de anticuerpos humanos en ratones transgénicos. Se puede usar cualquiera de dichos métodos conocidos en el contexto de la presente invención para preparar anticuerpos humanos que se unen específicamente a PCSK9 humano.

Usando la tecnología VELOCIMMUNE™ (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. №: 6.596.541B2, Regeneron Pharmaceuticals) o cualquier otro método conocido para generar anticuerpos monoclonales, se aíslan inicialmente anticuerpos quiméricos de alta afinidad por PCSK9 que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. La tecnología VELOCIMMUNE® implica generación de un ratón transgénico que tiene un genoma que comprende regiones variables de las cadenas pesada y ligera humanas operativamente unidas a loci de regiones constantes de ratones endógenos tal que el ratón produzca un anticuerpo que comprende una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a estimulación antigénica. Se aísla el ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo y se une operativamente a ADN que codifica las regiones constantes humanas de las cadenas pesada y ligera. Entonces se expresa el ADN en una célula capaz de expresar el anticuerpo completamente humano.

Generalmente, un ratón VELOCIMMUNE™ se expone al antígeno de interés, y se recuperan células linfáticas (tales como linfocitos B) de los ratones que expresan los anticuerpos. Las células linfáticas se pueden fusionar con una línea de células de mieloma para preparar líneas celulares de hibridoma inmortales, y dichas líneas celulares de hibridoma se criban y seleccionan para identificar líneas celulares de hibridoma que producen anticuerpos específicos para el antígeno de interés. Se puede aislar el ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y cadena ligera y enlazar a regiones constantes isotípicas deseables de la cadena pesada y cadena ligera. Dicha proteína de anticuerpo se puede producir en una célula, tal como una célula CHO. Alternativamente, el ADN que codifica los anticuerpos quiméricos específicos de antígeno o los dominios variables de las cadenas ligeras y pesadas se puede aislar

directamente de linfocitos específicos de antígeno.

5

15

20

25

30

35

40

55

60

Inicialmente, se aíslan anticuerpos quiméricos de alta afinidad que tienen una región variable humana y una región constante de ratón. Los anticuerpos se caracterizan y seleccionan para características deseables, que incluyen afinidad, selectividad, epítope, etc., usando procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica. Las regiones constantes de ratón se sustituyen por una región constante humana deseada para generar el anticuerpo completamente humano comprendido en las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención, por ejemplo IgG1 o IgG4 no mutante o modificada. Mientras que la región constante seleccionada pueda variar según uso específico, la unión al antígeno con alta afinidad y las características de especificidad por diana residen en la región variable.

En general, los anticuerpos que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas de la presente invención poseen altas afinidades, como se ha descrito anteriormente, cuando se miden uniendo a antígeno ya sea inmovilizado sobre fase sólida o en fase de disolución. Las regiones constantes de ratón se sustituyen por regiones constantes humanas deseadas para generar los anticuerpos completamente humanos comprendidos en las composiciones farmacéuticas de la invención. Aunque la región constante seleccionada puede variar según uso específico, la unión al antígeno con alta afinidad y las características de especificidad por diana residen en la región variable.

Los ejemplos específicos de anticuerpos humanos o fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a PCSK9 que se pueden usar en el contexto de las composiciones farmacéuticas para su uso en la presente invención incluyen cualquier anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende las tres CDRs de la cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 1 y 11, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia. Alternativamente, los ejemplos específicos de anticuerpos humanos o fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos que se unen específicamente a PCSK9 que se pueden usar en el contexto de las composiciones farmacéuticas para su uso en la presente invención incluyen cualquier anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende las tres CDRs de la cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85, 93, 101, 109, 117, 125, 133, 141, 149, 157, 165, 173, 181 y 189, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede comprender las tres CDRs de la cadena ligera (LCVR1, LCVR2, LCVR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs 6 y 15, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia. Alternativamente, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede comprender las tres CDRs de la cadena ligera (LCVR1, LCVR2, LCVR3) contenidas dentro de una región variable de la cadena ligera (LCVR) que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 97, 105, 113, 121, 129, 137, 145, 153, 161, 169, 177, 185 y 193, o una secuencia sustancialmente similar de la misma que tiene al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia.

La identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se determina a lo largo de la longitud entera de la secuencia de aminoácidos de referencia, es decir, la secuencia de aminoácidos identificada con SEQ ID NO, usando el mejor alineamiento de secuencias y/o a lo largo de la región del mejor alineamiento de secuencias entre las dos secuencias de aminoácidos, en donde el mejor alineamiento de secuencias se puede obtener con herramientas conocidas en la técnica, por ejemplo Align, usando parámetros estándar, preferentemente EMBOSS::needle, Matrix:Blosum62, Gap Open 10.0, Gap Extend 0.5.

En ciertas realizaciones de la presente invención, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno usado comprende las seis CDRs (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3) de los pares de las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera (HCVR/LCVR) seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 1/6 y 11/15. Alternativamente, en ciertas realizaciones de la presente invención, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno usado comprende las seis CDRs (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3) de los pares de las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada y ligera (HCVR/LCVR) seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 37/41, 45/49, 53/57, 61/65, 69/73, 77/81, 85/89, 93/97, 101/105, 109/113, 117/121, 125/129, 133/137, 141/145, 149/153, 157/161, 165/169, 173/177, 181/185 y 189/193.

En ciertas realizaciones de la presente invención, el anticuerpo anti-PCSK9, o proteína de unión al antígeno, que se puede usar en las composiciones farmacéuticas para su uso en la presente invención tiene las secuencias de aminoácidos HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 seleccionadas de SEQ ID NOs: 2/3/4/7/8/10 (mAb316P [también denominado "REGN727," o "alirocumab"]) y 12/13/14/16/17/18 (mAb300N) (véase la publicación de solicitud de patente de EE. UU. № 2010/0166768) y 12/13/14/16/17/18, en donde SEQ ID NO: 16 comprende una sustitución de histidina por leucina en el resto de aminoácido 30 (L30H).

En ciertas realizaciones de la presente invención, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno usado comprende los pares de las secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 1/6 y 11/15. En ciertas realizaciones a modo de ejemplo, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno comprende una

secuencia de aminoácidos de HCVR de SEQ ID NO: 1 y una secuencia de aminoácidos de LCVR de SEQ ID NO: 6. En ciertas realizaciones a modo de ejemplo, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de HCVR de SEQ ID NO: 11 y una secuencia de aminoácidos de LCVR de SEQ ID NO: 15. En ciertas realizaciones a modo de ejemplo, el anticuerpo o proteína de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de HCVR de SEQ ID NO: 11 y una secuencia de aminoácidos de LCVR de SEQ ID NO: 15 que comprende una sustitución de histidina por leucina en el resto de aminoácido 30 (L30H).

Composiciones farmacéuticas y métodos de administración

10

15

30

35

55

60

La presente invención incluye composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden administrar un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo a un paciente, en donde el anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo está contenido dentro de la composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención se formulan con vehículos adecuados, excipientes, y otros agentes que proporcionan transferencia adecuada, administración, tolerancia, y similares. Se pueden encontrar una multitud de formulaciones apropiadas en el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, jaleas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas anhidras de absorción, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, emulsiones Carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen Carbowax. Véase también Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Se conocen diversos sistemas de administración y se pueden usar para administrar la composición farmacéutica para su uso en la invención, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Los métodos de administración incluyen, pero no se limitan a, vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. La composición se puede administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de los revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y se puede administrar junto con otros agentes biológicamente activos.

Se puede administrar una composición farmacéutica para su uso en la presente invención por vía subcutánea o por vía intravenosa con una aguja y jeringa estándar. Además, con respecto a la administración subcutánea, un dispositivo de administración de pluma tiene fácilmente aplicaciones en administrar una composición farmacéutica para su uso en la presente invención. Dicho dispositivo de administración de pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de administración de pluma reutilizable utiliza generalmente un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y el cartucho está vacío, se puede desechar fácilmente el cartucho vacío y reemplazar por un cartucho nuevo que contiene la composición farmacéutica. Entonces se puede reutilizar el dispositivo de administración de pluma. En un dispositivo de administración de pluma desechable, no hay cartucho reemplazable. En lugar de ello, el dispositivo de administración de pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica contenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez se vacía el depósito de la composición farmacéutica, se desecha el dispositivo completo.

Numerosos dispositivos de administración de pluma y autoinyector reutilizables tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica para su uso en la presente invención. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a AUTOPEN<sup>TM</sup> (Owen Mumford, Inc., Woodstock, RU), pluma DISETRONIC<sup>TM</sup> (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25<sup>TM</sup>, pluma HUMALOG<sup>TM</sup>, pluma HUMALIN 70/30<sup>TM</sup> (Eli Lilly y Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN<sup>TM</sup> I, II y III (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR<sup>TM</sup> (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), pluma BD<sup>TM</sup> (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN<sup>TM</sup>, OPTIPEN PRO<sup>TM</sup>, OPTIPEN STARLET<sup>TM</sup> y OPTICLIK<sup>TM</sup> (Sanofi-aventis, Fráncfort, Alemania), por nombrar solo unos pocos. Los ejemplos de dispositivos de administración de pluma desechables que tienen aplicaciones en la administración subcutánea de una composición farmacéutica para su uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, la pluma SOLOSTAR<sup>TM</sup> (Sanofi-aventis), FLEXPEN<sup>TM</sup> (Novo Nordisk) y KWIKPEN<sup>TM</sup> (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK<sup>TM</sup> (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET<sup>TM</sup> (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), EPIPEN (Dey, L.P.) y la pluma HUMIRA<sup>TM</sup> (Abbott Labs, Abbott Park IL), por nombrar solo unos pocos.

En ciertas situaciones, la composición farmacéutica se puede administrar en un sistema de liberación controlada. En una realización, se puede usar una bomba (véase Langer, arriba; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos; véase, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. En otra realización más, un sistema de liberación controlada se puede colocar en la proximidad de la diana de la composición, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, arriba, vol. 2, pp. 115-138). Otros sistemas de liberación controlada se tratan en la revisión por Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas farmacéuticas para inyecciones intravenosas, subcutáneas, intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables se pueden preparar por métodos conocidos. Por ejemplo, las preparaciones inyectables se pueden preparar, por ejemplo, disolviendo,

suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrito anteriormente en un medio acuoso estéril o un medio aceitoso convencionalmente usado para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una disolución isotónica que contiene glucosa y otros agentes auxiliares, etc., que se puede usar en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 moles) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como medio aceitoso, se emplean, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que se pueden usar en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencílico, etc. La inyección así preparada se rellena preferentemente en una ampolla apropiada.

Ventajosamente, las composiciones farmacéuticas para uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en formas farmacéuticas en una dosis unitaria apta para ajustarse a una dosis de los principios activos. Dichas formas farmacéuticas en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios, etc.

Las formulaciones farmacéuticas a modo de ejemplo que comprenden un anticuerpo anti-PCSK9 que se pueden usar en el contexto de las composiciones farmacéuticas para su uso en la presente invención se exponen, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. 2013/0189277.

#### Dosificación

5

15

20

25

30

35

40

45

50

55

La cantidad de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo administrada a un paciente según las composiciones farmacéuticas para su uso en la presente invención es, en general, una cantidad terapéuticamente eficaz. Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo que da como resultado una reducción detectable (al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, o más desde el nivel inicial) en uno o más parámetros seleccionados del grupo que consiste en C-LDL, ApoB100, C no HDL, colesterol total, C-VLDL, triglicéridos, Lp(a) y colesterol remanente.

Para un anticuerpo anti-PCSK9, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser desde aproximadamente 0,05 mg hasta aproximadamente 600 mg, por ejemplo, aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg, aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg, o aproximadamente 600 mg, del anticuerpo anti-PCSK9. En ciertas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz es 75 mg del anticuerpo anti-PCSK9. En ciertas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz es 150 mg del anticuerpo anti-PCSK9.

La cantidad de anticuerpo anti-PCSK9 contenida dentro de las dosis individuales se puede expresar en términos de miligramos de anticuerpo por kilogramo de peso corporal del paciente (es decir, mg/kg). Por ejemplo, el anticuerpo anti-PCSK9 se puede administrar a un paciente a una dosis de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del paciente.

### Terapias de combinación

Según ciertas realizaciones de la presente invención, se puede administrar al paciente una o más terapias modificadoras de lípidos no de estatinas en combinación con las composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo. Los ejemplos de dichas terapias modificadoras de lípidos no de estatinas incluyen, por ejemplo, (1) un agente que inhibe los inhibidores de la absorción del colesterol (por ejemplo, ezetimiba); (2) un agente que aumenta el catabolismo de las lipoproteínas (tal como ácido nicotínico, que incluye niacina y niacinas de liberación lenta); (3) ácido fíbrico, (4) un secuestrante de ácidos biliares y/o (5) un activador del factor de transcripción de LXR que desempeña una función en la eliminación de colesterol (tal como 22-hidroxicolesterol).

## Regímenes de administración

Según ciertas realizaciones de la presente invención, se pueden administrar a un paciente múltiples dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo (es decir, una composición farmacéutica para su uso que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo) durante una evolución temporal definida (por ejemplo, en lugar de un régimen de estatinas terapéuticas diario). Las composiciones farmacéuticas para su uso según este aspecto de la invención comprenden administrar secuencialmente a un paciente múltiples dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo. Como se usa en el presente documento, "administrar secuencialmente" significa que cada dosis de anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra al paciente en un momento diferente en el tiempo, por ejemplo, en diferentes días separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). La presente invención incluye composiciones farmacéuticas para su uso que comprenden administrar secuencialmente al paciente una dosis inicial única de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, seguido por una o más dosis secundarias del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, y opcionalmente seguido por una o más dosis terciarias del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo.

10

15

20

35

40

45

50

Los términos "dosis inicial", "dosis secundaria" y "dosis terciaria" se refieren a la secuencia de administración temporal de las dosis individuales de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo. Así, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al principio del régimen de tratamiento (también denominado la "dosis de nivel inicial"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis inicial, secundaria y terciaria pueden todas contener la misma cantidad del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo, pero, en general, se pueden diferenciar entre sí en términos de frecuencia de administración. En ciertas realizaciones, sin embargo, la cantidad de anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo contenido en las dosis inicial, secundaria y/o terciaria varía entre sí (por ejemplo, se ajusta por arriba o por abajo según convenga) durante el transcurso del tratamiento. En ciertas realizaciones, se administran dos o más dosis (por ejemplo, 2, 3, 4 o 5) al principio del régimen de tratamiento como "dosis de carga", seguido por dosis posteriores que se administran en una base menos frecuente (por ejemplo, "dosis de mantenimiento").

Según las realizaciones a modo de ejemplo de la presente invención, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra
1 a 26 (por ejemplo, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½, o más) semanas después de la dosis inmediatamente precedente. La expresión "la dosis inmediatamente precedente", como se usa en el presente documento, significa, en una secuencia de múltiples administraciones, la dosis de molécula de unión al antígeno que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

La composición farmacéutica para su uso según este aspecto de la invención puede comprender administrar a un paciente cualquier número de dosis secundarias y/o terciarias de un anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, solo se administra una dosis secundaria única al paciente. En otras realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o más) dosis secundarias al paciente. Asimismo, en ciertas realizaciones, solo se administra una dosis terciaria única al paciente. En otras realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o más) dosis terciarias al paciente.

En realizaciones que implican múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria se puede administrar a la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria se puede administrar al paciente 1 a 2, 4, 6, 8 o más semanas después de la dosis inmediatamente precedente. Similarmente, en realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria se puede administrar a la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria se puede administrar al paciente 1 a 2, 4, 6, 8 o más semanas después de la dosis inmediatamente precedente. Alternativamente, la frecuencia a la que las dosis secundarias y/o terciarias se administran a un paciente puede variar durante el transcurso de la pauta de tratamiento. La frecuencia de administración también se puede ajustar durante el transcurso de tratamiento por un médico dependiendo de las necesidades del paciente individual tras el examen clínico.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, se administran múltiples dosis de una composición farmacéutica que comprende aproximadamente 75 mg de anticuerpo anti-PCSK9 a un paciente a una frecuencia de una vez cada dos semanas.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, se administran múltiples dosis de una composición farmacéutica que comprende aproximadamente 150 mg de anticuerpo anti-PCSK9 a un paciente a una frecuencia de una vez cada dos semanas.

Según ciertas realizaciones de la presente invención, se administran múltiples dosis de una composición farmacéutica que comprende aproximadamente 75 mg de anticuerpo anti-PCSK9 a un paciente a una frecuencia de una vez cada cuatro semanas.

55 Según ciertas realizaciones de la presente invención, se administran múltiples dosis de una composición farmacéutica que comprende aproximadamente 150 mg de anticuerpo anti-PCSK9 a un paciente a una frecuencia de una vez cada cuatro semanas.

La presente invención incluye regímenes de administración que comprenden una opción de ajuste ascendente de la

dosis (también denominado en el presente documento "modificación de la dosis"). Como se usa en el presente documento, una "opción de ajuste ascendente de la dosis" significa que, después de recibir un número particular de dosis de un anticuerpo anti-PCSK9, si un paciente no ha alcanzado una reducción especificada en uno o más parámetros terapéuticos definidos, se incrementa a partir de aquí la dosis del anticuerpo anti-PCSK9 o fragmento de unión al antígeno del mismo. Por ejemplo, en el caso de un régimen terapéutico que comprende la administración de 75 mg de dosis de un anticuerpo anti-PCSK9 a un paciente a una frecuencia de una vez cada dos semanas, si después de 8 semanas (es decir, 5 dosis administradas en la Semana 0, Semana 2 y Semana 4, Semana 6 y Semana 8), el paciente no ha alcanzado una concentración de C-LDL en suero inferior a 70 mg/dL, entonces la dosis de anticuerpo anti-PCSK9 se aumenta hasta, por ejemplo, 150 mg administrados una vez cada dos semanas a partir de aquí (por ejemplo, empezando en la Semana 10 o Semana 12, o después).

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 75 mg cada dos semanas, por ejemplo durante al menos tres dosis.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg cada dos semanas, por ejemplo durante al menos tres dosis.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 75 mg cada dos semanas durante 12 semanas, y la dosis sigue siendo a 75 mg cada dos semanas si, en la Semana 8, el valor de C-LDL del paciente era inferior a 100 mg/dL y un 30 % de reducción de C-LDL.

En otras realizaciones, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 75 mg cada dos semanas durante 12 semanas, y la dosis se ajusta de forma ascendente hasta aproximadamente 150 mg cada dos semanas si, en la Semana 8, el valor de C-LDL del paciente era superior o igual a 100 mg/dL.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 75 mg cada dos semanas durante 12 semanas, y la dosis sigue siendo a 75 mg cada dos semanas si, en la Semana 8, el valor de C-LDL del paciente era inferior a 70 mg/dL y un 30 % de reducción de C-LDL.

En otra realización, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 300 mg cada cuatro semanas.

En una realización adicional, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 300 mg cada cuatro semanas para un total de tres dosis, y la dosis se cambia hasta 150 mg cada dos semanas durante otras 36 semanas si, en la Semana 8, el paciente no alcanzó un objetivo de tratamiento predeterminado o el paciente no tuvo al menos un 30 % de reducción de C-LDL desde el nivel inicial.

30 En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-PCSK9 se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg cada cuatro semanas durante al menos tres dosis.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg cada cuatro semanas durante 12 semanas, y la dosis sigue siendo a 150 mg cada cuatro semanas si, en la Semana 8, el valor de C-LDL del paciente era inferior a 100 mg/dL y un 30 % de reducción de C-LDL.

En otras realizaciones, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg cada cuatro semanas durante 12 semanas, y la dosis se ajusta de forma ascendente a aproximadamente 300 mg cada dos semanas si, en la Semana 8, el valor de C-LDL del paciente era superior o igual a 100 mg/dL.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 150 mg cada cuatro semanas durante 12 semanas, y la dosis sigue siendo a 150 mg cada cuatro semanas durante otras 12 semanas si, en la Semana 8, el valor de C-LDL del paciente era inferior a 70 mg/dL y un 30 % de reducción de C-LDL.

En otra realización, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 300 mg cada cuatro semanas.

En una realización adicional, el anticuerpo se administra a un paciente a una dosis de aproximadamente 300 mg cada cuatro semanas durante un total de tres dosis, y la dosis se cambia hasta 150 mg cada dos semanas durante otras 36 semanas si, en la Semana 8, el paciente no alcanzó un objetivo de tratamiento predeterminado o el paciente no tuvo al menos un 30 % de reducción de C-LDL desde el nivel inicial.

#### **Ejemplos**

5

10

20

25

40

45

50

Los siguientes ejemplos se proponen de manera que se provea a los expertos habituales en la técnica de una divulgación y descripción completa de cómo preparar las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su invención. Se han hecho esfuerzos para garantizar la exactitud con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, partes son partes en peso, peso molecular es peso molecular medio, temperatura es en grados centígrados, y la presión es atmosférica o próxima a atmosférica.

### Ejemplo 1. Generación de anticuerpos humanos contra PCSK9 humano

Se generaron anticuerpos anti-PCSK9 humanos como se describen en la patente de EE. UU. Nº 8.062.640. El anticuerpo anti-PCSK9 a modo de ejemplo usado en el siguiente ejemplo es el anticuerpo anti-PCSK9 humano designado "mAb316P", también conocido como "REGN727", o "alirocumab". mAb316P tiene las siguientes características de la secuencia de aminoácidos: una cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 5 y una cadena ligera que comprende SEQ ID NO: 9; una región variable de la cadena pesada (HCVR) que comprende SEQ ID NO: 1 y un dominio variable de la cadena ligera (LCVR) que comprende SEQ ID NO: 6; una región determinante de la complementariedad 1 de la cadena pesada (HCDR1) que comprende SEQ ID NO: 2, una HCDR2 que comprende SEQ ID NO: 3, una HCDR3 que comprende SEQ ID NO: 4, una región determinante de la complementariedad 1 de la cadena ligera (LCDR1) que comprende SEQ ID NO: 7, una LCDR2 que comprende SEQ ID NO: 8 y una LCDR3 que comprende SEQ ID NO: 10.

Ejemplo 2: Monoterapia con un anticuerpo anti-PCSK9 ("mAb316P") frente a ezetimiba en pacientes con hipercolesterolemia: Resultados de un ensayo de 24 semanas, de doble ciego, aleatorizado, de fase 3

#### **ANTECEDENTES**

5

10

25

30

35

La hipercolesterolemia, particularmente un aumento en los niveles de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL), constituye un riesgo importante de desarrollo de la aterosclerosis y ECC, la principal causa de muerte e incapacidad en el mundo occidental. El C-LDL se identifica como la diana primaria de la terapia hipocolesterolemiante y se acepta como un criterio de valoración sustituto válido. Numerosos estudios han demostrado que reduciendo los niveles de C-LDL principalmente por inhibición de 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa (HMG CoA) con estatina, se reduce el riesgo de ECC, con una fuerte relación directa entre los niveles de C-LDL y los eventos ECC; por cada 1 mmol/L (~40 mg/dL) de reducción en C-LDL, la mortalidad y morbilidad de la enfermedad cardiovascular (ECV) se reduce en 22 %.

Se han realizado tres estudios de fase 1 con mAb316P y se evaluaron la seguridad, tolerabilidad y perfil PK/PD. Se realizaron dos estudios de administración de dosis única (un estudio con administración IV de dosis desde 0,3 mg hasta 12 mg/kg y otro estudio con administración SC de dosis desde 50 mg hasta 250 mg) en sujetos sanos con C-LDL >100 mg/dL para los que no se indicó la terapia con estatinas. El tercer estudio se realizó en pacientes hiperco-lesterolémicos (familiar o no familiar) con administración SC de única a múltiple de 50 mg, 100 mg, 150 mg y 200 mg, ya fuera como complemento a dosis estables de atorvastatina desde 10 mg hasta 40 mg/día o como monoterapia.

Los resultados de estos estudios de fase 1 mostraron que mAb316P administrado a sujetos sanos y pacientes ya fuera por administración IV o SC era, en general, bien tolerado a todas las dosis; los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAEs) no mostraron una relación de dosis. No se identificó patrón de acontecimientos adversos (AEs) relacionados con el fármaco. En todos estos estudios de fase 1, la administración de mAb316P indujo reducciones rápidas, sustanciales y sostenidas desde el nivel inicial en C-LDL, hasta 60 %. La magnitud y duración de estas reducciones se relacionó positivamente con la dosis administrada. También se debe observar que en el tercer estudio, los resultados fueron similares en los pacientes con hipercolesterolemia familiar y no familiar. En general, se expusieron un total de 109 sujetos a al menos 1 dosis de mAb316P en estos 3 estudios de fase 1.

También se han realizado tres estudios de fase 2. Los resultados de estos estudios se han informado previamente.

#### INTRODUCCIÓN

En el presente ejemplo, se realizó un ensayo clínico de fase 3 para evaluar la eficacia y seguridad de mAb316P cuando se administran como una monoterapia.

40 El objetivo de este estudio era proporcionar información sobre la magnitud del efecto y perfil de seguridad cuando se usa el producto en investigación mAb316P como monoterapia. Es importante obtener datos sobre la eficacia y seguridad singulares de mAb316P para poner en perspectiva con datos obtenidos cuando se usa un complemento a estatina.

Otro objetivo de este estudio era proporcionar datos de monoterapia que soportaran la evaluación de mAb316P en pacientes intolerantes a las estatinas. Las actuales medicaciones reductoras de C-LDL que se pueden usar como monoterapia cuando las estatinas se consideran inapropiadas o no son toleradas incluyen ezetimiba, niacina y secuestrantes de ácidos biliares. Las opciones que se podrían usar en la monoterapia están asociadas con aproximadamente 20 % de reducción de C-LDL.

El brazo de control que se seleccionó para este estudio era ezetimiba 10 mg PO al día. Esto permitió un estudio que comparaba mAb316P con una opción de tratamiento (es decir, ezetimiba) que está disponible en la práctica clínica rutinaria.

Este estudio específico se realizó para demostrar en pacientes con riesgo CV moderado y con C-LDL entre 100 mg/dL (2,59 mmol/L) y 190 mg/dL (4,9 mmol/L) que mAb316P 75 mg y/o 150 mg Q2W como monoterapia provocaban una reducción estadísticamente significativa y clínicamente significativa en C-LDL en comparación con ezetimiba.

### Población del estudio

La población del estudio para el estudio de monoterapia era pacientes con C-LDL entre 100 mg/dL (2,59 mmol/L) y 190 mg/dL (4,9 mmol/L).

Este estudio incluyó pacientes con riesgo CV moderado, como se define por un riesgo de 10 años de muerte por ECV ≥1 % y <5 % basado en el gráfico PUNTUACIÓN, y sin ECC establecida o equivalentes de riesgo de ECC. Los gráficos de riesgos tales como PUNTUACIÓN están previstos para facilitar la estimación de riesgos en personas aparentemente sanas sin signos de enfermedad clínica o preclínica. PUNTUACIÓN mide el riesgo de 10 años de muerte CV basado en colesterol total, edad, sexo, fumador y TA sistólica. Este nivel de riesgo se consideró apropiado en el contexto de un estudio de monoterapia con un comparador activo no de estatina.

10 Se planeó el tamaño de muestra de 100 pacientes (50 pacientes por grupo) con una duración del tratamiento del estudio de doble ciego de 24 semanas para detectar una diferencia de tratamiento de 20 % en medias del cambio en porcentaje en C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24, con un nivel de significancia bilateral de 0,05 y suponiendo una DE común de 25 % y 5 % de criterio de evaluación primario no evaluable.

#### Selección de la dosis

20

25

30

35

40

45

50

55

Todos los pacientes fueron inicialmente tratados con 75 mg Q2W, y solo a los pacientes cuyos niveles de C-LDL permanecieron iguales o superiores a 100 mg/dL después de 8 semanas de tratamiento se les ajustó de forma ascendente la dosis hasta 150 mg Q2W en la Semana 12 en adelante.

La selección de dosis, la frecuencia de administración y el enfoque de ajuste ascendente de la dosis se basa en la reducción de C-LDL necesaria para proporcionar el mejor beneficio en términos de reducción de enfermedad CV, y posibles consideraciones de seguridad referentes a valores bajos de C-LDL. Basándose en los resultados de los 2 estudios de búsqueda de dosis, se espera que la pauta posológica Q2W mantenga la reducción del C-LDL constante durante todo el intervalo entre dosis, con la máxima eficacia a las 12 semanas proporcionada por la dosis de 150 mg Q2W. Sin embargo, para muchos pacientes, la magnitud de los efectos observados con la dosis de 150 mg Q2W puede no ser necesaria para lograr el objetivo diana de C-LDL, y se puede comenzar a empezar con una dosis más baja. Usando un modelo de respuesta a dosis, se seleccionaron 75 mg Q2W para proporcionar aproximadamente 50 % de disminución en C-LDL desde el nivel inicial: todos los pacientes fueron inicialmente tratados con 75 mg Q2W, y solo en los pacientes cuyos niveles de C-LDL siguen iguales o superiores a 100 mg/dL después de 8 semanas de tratamiento se ajustó de forma ascendente la dosis hasta 150 mg Q2W (en la Semana 12). Con este esquema de tratamiento, se esperó que la mayoría de los pacientes con hipercolesterolemia primaria lograran su nivel objetivo de C-LDL, alcanzando algunos pacientes un nivel inferior a 25 mg/dL.

Los datos PK preliminares de los estudios de fase 2 mostraron que la exposición a mAb316P disminuyó durante el periodo de seguimiento de 8 semanas que siguió al periodo de tratamiento de doble ciego, con concentraciones de suero total de mAb316P todavía detectables, pero a niveles muy bajos. Por tanto, para garantizar concentraciones de mAb316P en suero no eficaces suficientemente bajas, los pacientes fueron seguidos durante un periodo de seguimiento de 8 semanas (es decir, 10 semanas después de la última dosis). Son importantes los resultados de farmacocinética en este ensayo, puesto que no existen antecedentes de estatinas para atenuar el efecto de mAb316P.

#### **OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

El objetivo primario del estudio de monoterapia era demostrar la reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) por mAb316P cada 2 semanas (Q2W) como monoterapia en comparación con ezetimiba (EZE) 10 mg al día después de 24 semanas de tratamiento en pacientes con hipercolesterolemia en riesgo cardiovascular (CV) moderado.

Los objetivos secundarios del estudio de monoterapia fueron del siguiente modo. (1) Para evaluar el efecto de mAb316P 75 mg en comparación con EZE sobre C-LDL después de 12 semanas de tratamiento. (2) Para evaluar el efecto de mAb316P sobre otros parámetros de lípidos (es decir, Apo B, C no HDL, C total, Lp (a), C-HDL, niveles de TG y niveles de Apo A-1). (3) Para evaluar la seguridad y tolerabilidad de mAb316P. (4) Para evaluar el desarrollo de anticuerpos anti-mAb316P. (5) Para evaluar la farmacocinética (PK) de mAb316P.

## DISEÑO DEL ESTUDIO

Este fue un estudio aleatorizado, de doble ciego, de grupos paralelos, con doble simulación, controlado por ezetimiba, equilibrado (1:1, mAb316P:ezetimiba), multicéntrico, multinacional para evaluar la eficacia y seguridad de mAb316P en pacientes con hipercolesterolemia y una puntuación de riesgo de 10 años (PUNTUACIÓN) 21 % y < 5 %. La aleatorización se estratificó según estado de DM. Después de la aleatorización, los pacientes recibieron el tratamiento del estudio de doble ciego (o mAb316P o placebo) cada 2 semanas y ezetimiba o placebo para ezetimiba PO diaria durante un periodo de 24 semanas. También puede ocurrir un ajuste ascendente de la dosis en la Semana 12 dependiendo de los niveles de C-LDL en la Semana 8 para pacientes aleatorizados a mAb316P. Los pacientes fueron seguidos durante 8 semanas después de la última visita del periodo de tratamiento de doble ciego (DBTP). El diseño del estudio se muestra en la **Figura 1.** 

## Descripción del protocolo

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

El estudio consistió en 3 periodos: selección, tratamiento de doble ciego y seguimiento.

Periodo de selección - hasta 2 semanas de duración que incluye una visita intermedia durante la que el paciente (u otra persona designada tal como cónyuge, pariente, etc.) recibió formación para auto-inyectar/inyectar con placebo para mAb316P. Se realizaron evaluaciones de elegibilidad para permitir la aleatorización de los pacientes en el estudio. Los investigadores tuvieron la opción de proporcionar un segundo kit de placebo de entrenamiento para mAb316P para pacientes que requirieron formación de auto-inyección adicional antes de la visita de aleatorización. El paciente o investigador pudo elegir que el paciente se inyectara en casa o en el sitio del estudio.

Periodo de tratamiento de doble ciego (DBTP) - Un periodo de tratamiento del estudio de doble simulación de doble ciego aleatorizado de 24 semanas. La primera inyección durante el periodo de doble ciego se hizo en el sitio en el día de aleatorización (Semana 0 [D1] - V3) y tan pronto como fue posible después de la llamada al IVRS/IWRS para la aleatorización en el estudio. Las inyecciones posteriores se hicieron por el paciente (auto-inyección) u otra persona designada (tal como cónyuge, pariente, etc.) en una localización preferida por el paciente (casa, etc.). Los pacientes aleatorizados a mAb316P recibieron una dosis de 75 mg de mAb316P desde la aleatorización (V3) hasta la Semana 12 (V6) (es decir, Semanas 0, 2, 4, 6, 8 y 10) + placebo para ezetimiba PO diaria. En la visita de la Semana 12 (V6) estos pacientes, en un modo cegado, o: (1) continuaron con mAb316P 75 mg cada 2 semanas (desde la semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22), si el C-LDL de la Semana 8 fue <100 mg/dL (1,81 mmol/L), o (2) ajuste ascendente de la dosis hasta mAb316P 150 mg cada 2 semanas (desde la Semana 12 en adelante hasta que la última inyección en la Semana 22), si el C-LDL de la Semana 8 era 2100 mg/dL (1,81 mmol/L). Los pacientes aleatorizados a ezetimiba recibieron placebo de mAb316P inyectado cada 2 semanas + ezetimiba 10 mg PO diario desde la aleatorización (V3) hasta la semana 24 (V8).

Periodo de seguimiento - Un periodo de 8 semanas después del final del periodo de tratamiento de doble ciego.

Duración de la participación en el estudio

La duración del estudio incluyó un periodo de selección de hasta 2 semanas, un periodo de tratamiento de doble ciego de 24 semanas para eficacia y evaluación de la seguridad, y un periodo de seguimiento post-tratamiento de 8 semanas para todos los pacientes después de la última visita del DBTP. Así, la duración del estudio por paciente fue aproximadamente 34 semanas.

## SELECCIÓN DE PACIENTES

La población objetivo para este estudio fue pacientes con hipercolesterolemia en riesgo cardiovascular (CV) moderado definido con una puntuación de riesgo de 10 años ≥1 % y <5 %, basada en la Estimación de Riesgo Coronario Sistemático (PUNTUACIÓN), e incluyó un consentimiento informado por escrito firmado.

Los pacientes que cumplieron todos los criterios de inclusión anteriores se seleccionaron para los siguientes criterios de exclusión, que se clasificaron y numeraron en las 3 siguientes subsecciones:

### A. Criterios de exclusión relacionados con la metodología del estudio

- 1. C-LDL <100 mg/dL o >190 mg/dL (<2,59 mmol/L o >4,9 mmol/L, respectivamente) en la Semana -2 (selección, V1).
- 2. Antecedentes de ECC establecida o equivalentes de riesgo de ECC como se define como: (A). Antecedentes documentados de ECC (incluyen uno o más de los siguientes): (1) Infarto agudo de miocardio (IM); (2) IM silencioso; (3) Angina inestable; (4) Procedimiento de revascularización coronaria (por ejemplo, intervención coronaria percutánea [ICP] o cirugía de injerto de derivación de las arterias coronarias [IDAC]); (5) ECC clínicamente significativa diagnosticada por prueba invasiva o no invasiva (tal como angiografía coronaria, ensayo de esfuerzo usando cinta de correr, ecocardiografía de esfuerzo o imágenes de resonancia magnética nuclear) (B) Los equivalentes de riesgo de ECC incluyen manifestaciones clínicas de formas no coronarias de enfermedad aterosclerótica: (1) Enfermedad arterial periférica sintomática; (2) Aneurisma de la aorta abdominal; o (3) Ataques isquémicos transitorios o accidente cerebrovascular isquémico y "obstrucción de la arteria carótida clínicamente significativa por prueba invasiva o no invasiva (tal como angiografía o ultrasonidos)".
- 3. Pacientes con DM asociada a una PUNTUACIÓN de riesgo ≥5 % o con cualquier factor de riesgo adicional (como se enumera a continuación): (1) antecedentes documentados de índice tobillo-brazo ≤0,90; (2) antecedentes documentados de microalbuminuria o macroalbuminuria (30) o análisis de orina por tira reactiva en la visita de selección (Semana -2) con >2+ proteína; o (3) antecedentes documentados de retinopatía preproliferativa o proliferativa o tratamiento láser para retinopatía.
- 4. Uso de una estatina, ácido nicotínico, un secuestrante de unión a ácido biliar, un bloqueante de la absorción de colesterol intestinal (ACI) (es decir, ezetimiba), o ácidos grasos omega-3 a dosis >1000 mg al día en el

plazo de 4 semanas desde la visita de selección (Semana -2, V1) o entre las visitas de selección y de aleatorización.

- 5. Uso de un fibrato en el plazo de 6 semanas desde la visita de selección (Semana -2, V1) o entre las visitas de selección y de aleatorización.
- 6. Uso de productos nutracéuticos o terapias sin receta médica que pueden afectar los lípidos que no han estado en una dosis/cantidad estable durante al menos 4 semanas antes de la visita de selección (Semana 2) o entre las visitas de selección y de aleatorización
- 7. Uso de productos de arroz de levadura roja en el plazo de 4 semanas desde la visita de selección (Semana -2) o entre las visitas de selección y de aleatorización.
- 8. Plan de someterse a ICP programada, IDAC, revascularización carotídea o periférica durante el estudio.
- 9. Tensión arterial (TA) sistólica >160 mmHg o TA diastólica >100 mmHg en las visitas de selección (Semana -2, V1) o aleatorización (Semana 0).
- 10. Antecedentes de insuficiencia cardíaca de clase III o IV de la Asociación del Corazón de Nueva York (NYHA) en el plazo de los últimos 12 meses.
- 11. Antecedentes conocidos de accidente cerebrovascular hemorrágico

5

10

15

20

25

30

35

40

45

- 12. Edad <18 años o mayoría de edad legal en la visita de selección (Semana -2), cualquiera que sea mayor.
- 13. Pacientes no previamente informados sobre una dieta baja en colesterol antes de la visita de selección (Semana -2)
- 14. Diabetes recién diagnosticada (en el plazo de 3 meses antes de la visita de aleatorización [Semana 0]) o mal controlada (HbA1<sub>c</sub>> 8,5 % en la visita de selección [Semana -2])
- 15. Presencia de cualquier enfermedad endocrina no controlada clínicamente significativa conocida por influir en los lípidos o las lipoproteínas en suero. *Nota:* Se pueden incluir pacientes en terapia de reemplazo tiroideo si la dosificación ha sido estable durante al menos 12 semanas antes de la selección y el nivel de TSH está dentro del intervalo normal del Laboratorio Central en la visita de selección.
- 16. Antecedentes de cirugía bariátrica en el plazo de 12 meses antes de la visita de selección (Semana -2)
- 17. Peso inestable definido por una variación >5 kg en el plazo de 2 meses antes de la visita de selección (Semana -2)
- 18. Antecedentes conocidos de hipercolesterolemia familiar homocigótica o heterocigótica
- 19. Antecedentes conocidos de pérdida de función de PCSK9 (es decir, mutación genética o variación de secuencias)
- 20. Uso de corticosteroides sistémicos, a menos que se usen como terapia de sustitución para enfermedad hipofisaria-suprarrenal con un régimen estable durante al menos 6 semanas antes de la visita de aleatorización (Semana 0). *Nota:* Las terapias esteroideas tópicas, intrarticulares, nasales, inhaladas y oftálmicas no se consideran 'sistémicas' y se permiten.
- 21. Uso de terapia continua de reemplazo hormonal de estrógenos o testosterona a menos que el régimen haya sido estable en las últimas 6 semanas antes de la visita de selección (Semana -2) y sin planes de cambiar el régimen durante el estudio.
- 22. Antecedentes de cáncer en el plazo de los últimos 5 años, excepto cáncer de piel de células basales adecuadamente tratado, cáncer de piel de células escamosas, o cáncer de cuello uterino *in situ*
- 23. Antecedentes conocidos de positividad a VIH
  - 24. Paciente que ha tomado cualquier fármaco en investigación distinto de los kits de placebo de entrenamiento de mAb316P en el plazo de 1 mes o 5 semividas, cualquiera que sea más largo
  - 25. Paciente que ha participado previamente en algún ensayo clínico de mAb316P o cualquier otra terapia anti-PCSK9.
- Paciente que retira el consentimiento durante el periodo de selección (paciente que no desea continuar o no vuelve).
  - 27. Condiciones/situaciones tales como: (1) Cualquier anomalía clínicamente significativa identificada en el

momento de la selección que, a criterio del investigador o cualquier investigador colaborador, impediría la terminación segura del estudio o restringiría la valoración de criterios de evaluación tales como enfermedades sistémicas importantes, pacientes con una esperanza de vida corta; o (2) pacientes considerados por el investigador o cualquier investigador colaborador como inapropiados para este estudio por cualquier motivo, por ejemplo: (a) considerados incapaces de cumplir requisitos específicos del protocolo, tales como visitas programadas; (b) considerados incapaces de administrar o tolerar inyecciones a largo plazo según el paciente o el investigador; (c) investigador o cualquier investigador colaborador, farmacéutico, coordinador del estudio, otro personal del estudio o pariente de los mismos directamente implicado en la realización del protocolo, etc.; o (d) presencia de cualquier otra condición (por ejemplo, geográfica, social) tanto actual como anticipada, que el investigador sienta que restringiría o limitaría la participación del paciente durante la duración del estudio.

28. Datos de laboratorio durante el periodo de selección (que no incluyen laboratorios de aleatorización en la Semana 0): (1) Prueba positiva para antígeno de superficie de la hepatitis B o anticuerpo de la hepatitis C (confirmada por prueba refleja); (2) Positivo de beta-hCG en suero o prueba del embarazo en orina (incluyendo Semana 0) en mujeres en potencial de procrear; (3) Triglicéridos >400 mg/dL (>4,52 mmol/L) (se permite 1 laboratorio de repetición); (4) eGFR <60 ml/min/1,73 m2 según la ecuación del Estudio de MDRD de 4 variables (calculado por el laboratorio central); (5) ALT o AST >3 x ULN (se permite 1 laboratorio de repetición); (6) CPK >3 x ULN (se permite 1 laboratorio de repetición); o (7) TSH <LLN o >ULN.

## B. Criterios de exclusión relacionados con la terapia de fondo

29. Todas las contraindicaciones al comparador activo (ezetimiba) o advertencia / precaución de uso (cuando convenga) como se presenta en el etiquetado nacional de productos respectivo.

## C. Criterios de exclusión relacionados con mAb316P

- 30. Hipersensibilidad conocida a terapéuticos de anticuerpo monoclonal
- 31. Mujeres embarazadas o lactantes
- 32. Mujeres en potencial de procrear sin método anticonceptivo eficaz de control de la natalidad y/o que no están dispuestas o son incapaces de hacerse la prueba del embarazo

Nota: Las mujeres en potencial de procrear deben tener una prueba del embarazo negativa confirmada en las visitas de selección y de aleatorización. Deben usar un método anticonceptivo eficaz durante todo el estudio, y acceder a repetirse la prueba del embarazo en orina en las visitas designadas. Los métodos anticonceptivos aplicados tienen que cumplir los criterios de un método altamente eficaz de control de la natalidad según la Nota para orientación sobre estudios de seguridad no clínicos para la realización de ensayos clínicos humanos y la autorización de comercialización de productos farmacéuticos. Las mujeres posmenopáusicas deben ser amenorreicas durante al menos 12 meses.

#### TRATAMIENTOS DEL ESTUDIO

5

10

15

20

25

30

## Especialidad farmacéutica en investigación (IMP) y administración

35 Se suministró medicamento de mAb316P estéril a una concentración de 75 mg/mL y 150 mg/mL ambas como 1 mL de volumen en un autoinyector. Se preparó placebo estéril para mAb316P en la misma formulación que mAb316P sin la adición de proteína como 1 mL de volumen en un autoinyector.

Comprimidos de ezetimiba 10 mg sobre-encapsulados. Placebo para cápsulas de ezetimiba.

Se podría administrar el IMP de mAb316P por auto-inyección o por otra persona designada (tal como un cónyuge, pariente, etc.). Se desechó el autoinyector usado en un recipiente para objetos punzocortantes que se proporcionó a los pacientes.

Se pidió a los pacientes que guardaran el mAb316P IMP en un frigorífico. Antes de la administración, el IMP debía sacarse fuera en una localización segura a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 a 40 minutos. A partir de aquí, el IMP se debe administrar tan pronto como sea posible.

Durante el periodo de tratamiento de doble ciego, se administró mAb316P o placebo para mAb316P por vía subcutánea cada 2 semanas, empezando en la Semana 0 continuando hasta la última inyección (Semana 22) 2 semanas antes del final del periodo de tratamiento de doble ciego.

La inyección de IMP de mAb316P se administró idealmente cada 2 semanas por vía subcutánea a aproximadamente la misma hora del día; sin embargo, fue aceptable tener un periodo de ventana de ± 3 días.

50 Se tomaron por vía oral ezetimiba 10 mg o placebo para cápsulas de ezetimiba una vez al día a aproximadamente la misma hora del día, con o sin comida.

## CRITERIOS DE VALORACIÓN DEL ESTUDIO

#### Criterio de valoración de eficacia primaria

5

10

15

20

25

30

35

45

El criterio de valoración de eficacia primaria fue el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la semana 24, que se define como: 100 x (valor de C-LDL calculado en la Semana 24 - valor de C-LDL calculado en el nivel inicial) / valor de C-LDL calculado en el nivel inicial.

El valor de C-LDL calculado en el nivel inicial fue el último nivel de C-LDL obtenido antes del primer IMP de doble ciego, definido como la más temprana entre la primera fecha de inyección de doble ciego y la primera ingestión de cápsula.

El C-LDL calculado en la Semana 24 fue el nivel de C-LDL obtenido dentro de la ventana de tiempo de la Semana 24 y durante el periodo principal de eficacia. El periodo principal de eficacia se definió como el tiempo desde el primer IMP de doble ciego hasta 21 días después de la última inyección de IMP de doble ciego o hasta el límite superior de la ventana de análisis de la Semana 24, sea cual fuera primero.

Todos los valores de C-LDL calculados (programados o sin programar, en ayunas o no en ayunas) se pueden usar para proporcionar un valor para el criterio primario de valoración de eficacia si es apropiado según la definición anterior.

## Criterio de valoración secundaria de eficacia

#### Criterios de eficacia secundaria clave

- (1) El cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12: definición y reglas similares a las de antes, excepto que el C-LDL calculado en la Semana 12 estuvo al nivel de C-LDL obtenido dentro de la ventana de análisis de la Semana 12 y durante el periodo de eficacia de 12 semanas. El periodo de eficacia de 12 semanas se definió como el tiempo desde el primer IMP de doble ciego hasta el contacto IVRS de re-suministro de la Visita 6 o hasta 21 días después de la última inyección de IMP de doble ciego, sea cual sea primero. La muestra de sangre recogida el día del contacto IVRS de re-suministro de la Visita 6 se consideró como antes de la valoración.
- (2) El cambio en porcentaje en Apo B desde el nivel inicial hasta la Semana 24. Misma definición y reglas que para el criterio primario de valoración.
- (3) El cambio en porcentaje en C no HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24. Misma definición y reglas que para el criterio primario de valoración.
- (4) El cambio en porcentaje en C total desde el nivel inicial hasta la Semana 24. Misma definición y reglas que para el criterio primario de valoración.
- (5) El cambio en porcentaje en Apo B desde el nivel inicial hasta la Semana 12. Misma definición y reglas que para el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
- (6) El cambio en porcentaje en C no HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12. Misma definición y reglas que para el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
- (7) El cambio en porcentaje en C total desde el nivel inicial hasta la Semana 12. Misma definición y reglas que para el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
- (8) La proporción de pacientes que alcanzan el objetivo de C-LDL <100 mg/dL (2,59 mmol/L) en la Semana 24, usando la definición y las reglas usadas para el criterio primario de valoración.
- (9) La proporción de pacientes que alcanzan el objetivo de C-LDL <70 mg/dL (1,81 mmol/L) en la Semana 24, usando la definición y las reglas usadas para el criterio primario de valoración.
- 40 (10) El cambio en porcentaje en Lp(a) desde el nivel inicial hasta la Semana 24. Misma definición y reglas que para el criterio primario de valoración.
  - (11) El cambio en porcentaje en C-HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24. Misma definición y reglas que para el criterio primario de valoración.
  - (12) El cambio en porcentaje en C-HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12. Misma definición y reglas que para el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
  - (13) El cambio en porcentaje en Lp(a) desde el nivel inicial hasta la Semana 12. Misma definición y reglas que para el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
  - (14) El cambio en porcentaje en TG en ayunas desde el nivel inicial hasta la Semana 24. Misma definición y reglas que para el criterio primario de valoración.

- (15) El cambio en porcentaje en TG en ayunas desde el nivel inicial hasta la Semana 12. Misma definición y reglas que para el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
- (16) El cambio en porcentaje en Apo A-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 24. Misma definición y reglas que para el criterio primario de valoración.
- 5 (17) El cambio en porcentaje en Apo A-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 12. Misma definición y reglas que para el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12.

### Otros criterios secundarios de valoración de la eficacia

- (18) La proporción de pacientes que alcanzan C-LDL <100 mg/dL (2,59 mmol/L) en la Semana 12.
- (19) La proporción de pacientes que alcanzan C-LDL <70 mg/dL (1,81 mmol/L) en la Semana 12.
- (20) El cambio absoluto en C-LDL (mg/dL y mmol/L) desde el nivel inicial hasta la Semanas 12 y 24.
  - (21) El cambio en relación Apo B/Apo A-1 desde el nivel inicial hasta la Semanas 12 a Semana 24.
  - (22) La proporción de pacientes con Apo B <80 mg/dL (0,8 g/L) en la Semana 12 y la Semana 24.
  - (23) La proporción de pacientes con C no HDL <100 mg/dL (2,59 mmol/L) en las Semanas 12 y 24.
  - (24) La proporción de pacientes con C-LDL <70 mg/dL (1,81 mmol/L) y / o ?50 % de reducción en C-LDL (si C-LDL ?70 mg/dL [1,81 mmol/L]) en las Semanas 12 y 24.

#### Método de evaluación de la eficacia

#### Parámetros de lípidos

10

15

20

25

30

35

40

45

Se midieron directamente C total, C-HDL, TG, Apo B, Apo A-1 y Lp (a). Se calculó C-LDL usando la fórmula de Friedewald en todas las visitas (excepto la Semana -1 y la visita de seguimiento). Si los valores de TG superaron 400 mg/dL (4,52 mmol/L), entonces el laboratorio central midió de forma reflexiva (mediante el método de cuantificación beta) el C-LDL en vez de calcularlo. No se calculó C-HDL restando C-HDL de C total. Se calculó la relación Apo B/Apo A-1.

# Criterios de evaluación de seguridad - Periodo de observación

La observación de datos de seguridad fue del siguiente modo:

Periodo de PRETRATAMIENTO: El periodo de observación del PRETRATAMIENTO se definió a partir del consentimiento informado firmado hasta la primera dosis de IMP de doble ciego.

Periodo de TEAE: El periodo de observación de TEAE se definió como el tiempo desde la primera dosis de IMP de doble ciego hasta la última dosis de inyección de IMP de doble ciego + 70 días (10 semanas) ya que se espera el efecto residual de mAb316P hasta 10 semanas después de la parada de la inyección de IMP de doble ciego.

Periodo de POST-TRATAMIENTO: El periodo de observación de POST-TRATAMIENTO se definió como el tiempo a partir del día después del final del periodo de TEAE hasta el final de estudio

## Criterios de evaluación de seguridad - Seguridad laboratorio

Los datos de laboratorio clínico consistieron en análisis de orina y análisis de sangre, hematología (recuento de RBC, anchura de la distribución de glóbulos rojos (RDW), recuento de reticulocitos, hemoglobina, hematocrito, plaquetas, recuento de WBC con fórmula leucocítica), analítica química estándar (glucosa, sodio, potasio, cloruro, bicarbonato, calcio, fósforo, nitrógeno ureico, creatinina, ácido úrico, proteína total, LDH, albúmina, γ-glutamiltransferasa [yGT]), anticuerpo de la hepatitis C, panel hepático (ALT, AST, ALP y bilirrubina total) y CPK.

<u>Criterios de evaluación de seguridad - Medición de constantes vitales</u>: Constantes vitales incluidas: FC, TA sistólica y diastólica en sedestación.

Otros criterios de evaluación de evaluaciones de anticuerpos anti-mAb316P: Los anticuerpos anti-mAb316P incluyeron el estado de anticuerpos (positivo/negativo) y los títulos de anticuerpos.

<u>Tiempo de muestreo</u>: Se extrajeron periódicamente muestras de suero para la determinación de anticuerpos antimAb316P durante todo el estudio. La primera muestra programada en la visita de aleatorización se obtuvo antes de la inyección de IMP (predosis).

Los pacientes que tienen un título de 240 o superior para el anticuerpo anti-mAb316P en la visita de seguimiento presentaron una muestra(s) de anticuerpos adicionales, 6 a 12 meses después de la última dosis y a partir de aquí aproximadamente cada 3 a 6 meses hasta que el título volvió a estar por debajo de 240. Para mantener el cegado del

estudio, las solicitudes de la recogida de muestras de los anticuerpos anti-mAb316P posteriores al estudio se hicieron en pacientes con títulos inferiores a 240 en la visita de seguimiento.

<u>Procedimiento de muestreo</u>: Se recogieron cinco (5) mL de volumen de sangre para cada muestra de anticuerpo antimAb316P.

5 <u>Método bioanalítico</u>: Se analizaron todas las muestras de anticuerpos anti-mAb316P (ADA; anticuerpo antifármaco).

Se analizaron muestras de anticuerpos anti-mAb316P usando un inmunoensayo de doble captura basado en el título validado no cuantitativo. Implicó una selección inicial, un ensayo de confirmación basado en especificidad por el fármaco y una medición del título de anticuerpos anti-mAb316P en la muestra. El límite inferior de detección fue aproximadamente 1,5 ng/mL.

Las muestras que dieron positivo en el ensayo de ADA se evaluaron para anticuerpos neutralizantes usando un ensayo de unión a ligando validado, no cuantitativo, competitivo. El límite inferior de detección basado en un anticuerpo neutralizante de control positivo monoclonal es 390 ng/mL.

hs-CRP: El cambio en porcentaje en hs-CRP desde el nivel inicial hasta la Semana 12 y la Semana 24.

HbA1C: El cambio absoluto en HbA1c (%) desde el nivel inicial hasta la Semana 12 y la Semana 24.

Cuestionario de paciente EQ-5D: EQ-5D es una medida normalizada del estado de salud desarrollado por el Grupo EuroQol para proporcionar una medida genérica simple de la salud para valoración clínica y económica. EQ-5D, como una medida de la calidad de vida relacionada con la salud, define la salud en términos de 5 dimensiones: movilidad, cuidado de sí mismo, actividades usuales, dolor/molestia, ansiedad/depresión. Cada dimensión puede adoptar una de las tres respuestas (3 niveles ordinales de gravedad): "sin problema" (1) "algunos problemas" (2) "graves problemas"
 (3). El estado de salud general se define como un número de cinco dígitos. Los estados de salud definidos por la clasificación de 5 dimensiones se pueden convertir en puntuaciones del índice correspondientes que cuantifican el estado de salud, donde 0 representa "muerte" y 1 representa "salud perfecta". Si faltó la respuesta a una o más dimensiones, faltará la puntuación del índice.

Las variables de EQ-5D incluyeron la respuesta de cada punto de EQ-5D, la puntuación de índice y el cambio de la puntuación del índice desde el nivel inicial.

<u>Farmacocinética</u>: Las variables farmacocinéticas incluyeron concentración de mAb316P en suero total. Si se necesitó, se podrían medir concentraciones de PCSK9 total y libre de la misma muestra PK.

<u>Tiempo de muestreo</u>: Se recogieron muestras de suero para concentración de mAb316P total antes de IMP (predosis) en la Semana 0 (visita de aleatorización) y luego en varias visitas hasta el final del periodo de seguimiento. Para recoger información sobre la fase de absorción, se recogió una muestra PK opcional a los 5 días (± 2) después de la inyección de IMP de la Semana 22 o a los 5 días (± 2) después de cualquier inyección de IMP posterior mientras que el sujeto estaba con el tratamiento.

Procedimiento de muestreo: Se recogieron cinco (5) mL de volumen de sangre para cada muestra PK.

Método bioanalítico: Se analizaron todas las muestras PK para la determinación de las concentraciones de mAb316P total (es decir, mAb316P libre y mAb316P presente en complejos de PCSK9:mAb316P) usando un enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) validado. El límite inferior de cuantificación (LLQ) para este ensayo es 0,078 μg/mL.

Si se necesita, se podrían analizar muestras PK para la determinación de los niveles de PCSK9 total y libre usando ELISA validado. El LLQ es 0,156  $\mu$ g/mL para el ensayo de PCSK9 total y 0,0312  $\mu$ g/mL para el ensayo de PCSK9 libre.

#### 40 PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

30

45

50

Para todas las visitas después del Día 1/Semana 0 (visita de aleatorización), se dejó un periodo de tiempo de un cierto número de días. El periodo de ventana para las visitas en las Semanas 12 y 24 fue ± 3 días y para todas las otras visitas en el sitio fue ± 7 días durante el periodo de tratamiento de doble ciego, y periodo de seguimiento. Se dejó un periodo de ventana de + 3 días para la visita de aleatorización (Día1/Semana 0) y para la visita de selección para el entrenamiento de invección (Semana -1).

<u>Muestreos de sangre</u>: El muestreo de sangre para la determinación de los parámetros de lípidos (es decir, C total, C-LDL, C-HDL, TG, C no HDL, Apo B, Apo A-1, relación Apo B/Apo A-1, Lp [a]) se debe realizar por la mañana, en ayunas (es decir, durante la noche, ayunar al menos 10 a 12 horas y abstenerse de fumar) para todas las visitas en el sitio durante todo el estudio. Se recomendó no consumir alcohol en el plazo de 48 horas y no hacer ejercicio físico intenso en el plazo de las 24 horas precedentes al muestreo de sangre.

<u>Pruebas de laboratorio:</u> Se recogieron los datos de laboratorio y se remitieron al laboratorio central, que incluye hematología; química; panel hepático (en caso de valores de bilirrubina total por encima del intervalo normal, la

diferenciación en bilirrubina conjugada y no conjugada ocurrirá automáticamente); creatina fosfocinasa (CPK); antígeno de superficie de la hepatitis B; anticuerpo de la hepatitis C (se confirmaron pruebas positivas con prueba refleja); y prueba del embarazo en suero.

Muestreos de orina: Análisis de orina - Se realizó tira reactiva en el laboratorio central y se evaluó para pH, gravedad específica, y para la presencia de sangre, proteína, glucosa, cetonas, nitratos, esterasa leucocitaria, urobilinógeno y bilirrubina. Si la tira reactiva fue anormal, entonces se realizó microscopía estándar.

Métodos de valoración de otros criterios de evaluación: Se midieron todos los otros parámetros de la sangre por un laboratorio central durante el estudio. Se recomendó no consumir alcohol en el plazo de 48 horas y no hacer ejercicio físico intenso en el plazo de las 24 horas precedentes al muestreo de sangre. Los parámetros glucémicos (HbA1c y glucosa en suero) se midieron por un laboratorio central, periódicamente durante todo el estudio. El muestreo de sangre para parámetro inflamatorio, hs-CRP, se recogió periódicamente durante todo el estudio.

<u>Muestras farmacocinéticas</u>: Se obtuvieron periódicamente muestras de suero para la evaluación de la concentración de mAb316P durante todo el estudio.

Examen físico: Se debe haber realizado un examen físico general.

Tensión arterial (TA)/frecuencia cardíaca: Se debe medir la TA en sedestación en condiciones normalizadas, aproximadamente a la misma hora del día, en el mismo brazo, con el mismo aparato (después de que el paciente haya descansado cómodamente en sedestación durante al menos 5 minutos). Los valores se registraron en el e-CRF; se deben registrar tanto TA sistólica como TA diastólica. En la primera visita de selección, se debe medir TA en ambos brazos. El brazo con la mayor presión diastólica será determinado en esta visita, y se debe medir TA en este brazo durante todo el estudio. Este valor más alto se registrará en el e-CRF. La frecuencia cardíaca se medirá en el momento de la medición de TA.

<u>Electrocardiograma</u>: Se deben realizar ECGs de 12 derivaciones después de al menos 10 minutos de descanso y en decúbito supino.

<u>Peso corporal y altura:</u> Se debe obtener el peso corporal con el paciente vistiendo ropa interior o ropa muy ligera y sin zapatos, y con la vejiga vacía.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

10

25

30

35

40

45

50

55

Se calculó un tamaño de muestra de 45 pacientes por brazo de tratamiento para tener 95 % de potencia para detectar una diferencia media entre mAb316P y ezetimiba de 20 % en cambio en porcentaje de C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24 usando una prueba de la t bilateral con 5 % de significancia, suponiendo una desviación estándar (DE) común de 25 % basada en un ensayo previo de mAb316P (McKenney et al., "Safety and efficacy of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease, SAR236553/REGN727, in patients with primary hypercholesterolemia receiving ongoing stable atorvastatin therapy", J Am Coll Cardiol, vol. 59, pp. 2344-2353 (2012)) y con una tasa de exclusión esperada de 5 %.

Se evaluó el criterio primario de valoración en la población por intención de tratar (IDT), que incluyó todos los pacientes aleatorizados que tenían al menos 1 valor de C-LDL calculado en el nivel inicial y en uno de los momentos de tiempo planeados desde la Semanas 4 a 24. También se llevó a cabo un análisis durante el tratamiento (correspondiente a la IDT modificada o IDTm) que incluyó todos los pacientes aleatorizados y tratados que tenían al menos 1 valor de C-LDL calculado en el nivel inicial y en uno de los momentos de tiempo planeados desde las Semanas 4 a 24 en tratamiento, definido como el periodo entre la primera dosis del tratamiento del estudio y hasta 21 días después de la última inyección o 3 días después de la última ingestión de cápsula, sea cual fuera primero.

Se tuvieron en cuenta los datos que faltan por medio de un modelo de efecto mixto con el enfoque de medidas repetidas (MMRM) (Siddiqui et al., MMRM vs. LOCF: a comprehensive comparison based on simulation study and 25 NDA datasets", J Biopharm Stat, vol. 19, pp. 227-246 (2009); National Research Council, "The Prevention and Treatment of Missing Data in Clinical Trials" Panel on Handling Missing Data in Clinical Trials. Committee on National Statistics, Division of Behavioral and Social Sciences and Education. 2010. Washington, DC: The National Academies Press; Andersen et al., "On the practical application of mixed effects models for repeated measures to clinical trial data", Pharm Stat., vol. 12, pp.7-16 (2013)). Para el análisis IDT, se usaron en MMRM todas las mediciones disponibles en los momentos de tiempo planeados desde las Semanas 4 hasta 24 (que significa la Semana 4, 8, 12, 16 y 24), sea cual sea su estado en tratamiento o sin tratamiento. Se usó un modelo de MMRM para C-LDL para proporcionar estimaciones de las medias de mínimos cuadrados y la comparación entre brazos de tratamiento en las Semanas 24 y 12. Más detalles sobre el modelo se dan a continuación. Para el análisis durante el tratamiento, se usaron todas las mediciones disponibles durante el tratamiento (es decir, hasta 21 días después de la última inyección/3 días después de la última cápsula, sea cual fuera primero) en momentos de tiempo planeados desde las Semanas 4 hasta 24 en el modelo de MMRM. De la misma forma que para el análisis IDT, se usó un modelo para proporcionar estimaciones y la comparación en la Semana 24 y Semana 12 para el análisis durante el tratamiento. Se analizaron criterios secundarios de valoración clave continuos distintos de Lp(a) y triglicéridos de un modo similar al criterio primario de valoración y a continuación se proporciona la descripción de la metodología estadística para los criterios secundarios de valoración y análisis de subgrupos.

El análisis de seguridad incluyó todos los pacientes aleatorizados y tratados. Los datos de seguridad se analizaron por estadística descriptiva. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando SAS® versión 9.2 o superior (SAS Institute Inc., Gary, NC).

## 5 Modelo de efectos mixtos con medidas repetidas (MMRM)

El MMRM incluyó efectos categóricos fijos del grupo de tratamiento (mAb316P frente a ezetimiba), momento de tiempo (semanas 4, 8, 12, 16 y 24) e interacción de tratamiento por momento de tiempo, así como las covariables fijas continuas del valor de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en el nivel inicial y la interacción de tratamiento por momento de tiempo en el nivel inicial. Las salidas del modelo fueron las estimaciones de la media de mínimos cuadrados (MC) ajustada en el nivel inicial en la Semana 24 para ambos grupos de tratamiento con su error estándar (EE) correspondiente. Se usó la instrucción de contraste apropiada para probar la diferencia entre estas estimaciones en el nivel alfa de 5 % bilateral. Para evaluar la robustez del análisis primario y para comparar los resultados durante el tratamiento entre grupos, también se aplicó el modelo de MMRM a los valores de C-LDL recogidos durante el tratamiento.

#### 15 Análisis de subgrupo

10

20

Para evaluar la homogeneidad del efecto del tratamiento a través de diversos subgrupos, se añadieron los términos de interacción de factor de tratamiento por subgrupo, factor de momento de tiempo por subgrupo y tratamiento por momento de tiempo por subgrupo y un término de factor por subgrupo al modelo primario de MMRM. Los subgrupos de interés incluyeron el índice de masa corporal (IMC) ≥30 kg/m²; sexo; región (América del Norte, Europa Occidental); edad ≥65 años; C-LDL en el nivel inicial (≥130 o ≥160 mg/dL); colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) en el nivel inicial <40 mg/dL; triglicéridos en ayunas en el nivel inicial ≥150 mg/dL; lipoproteína(a) en el nivel inicial [Lp(a)] ≥30 mg/dL; y niveles de proproteína convertasa subtilisina/kexina libre tipo 9 (PCSK9) en el nivel inicial (por debajo / por encima de la mediana).

### Análisis estadístico de criterios secundarios de valoración clave

25 Para analizar los criterios secundarios de valoración clave, se usó un procedimiento jerárquico para controlar el error de tipo I y tratar la multiplicidad. Se probaron secuencialmente los criterios secundarios de valoración de la eficacia usando el orden dado anteriormente, en la población por intención de tratar. Se analizaron los criterios secundarios de valoración clave continuos (incluyendo criterios secundarios de valoración en la Semana 12), excepto Lp(a) y triglicéridos, usando el mismo modelo de MMRM que para el criterio primario de valoración con efectos categóricos fijos 30 del grupo de tratamiento, momentos de tiempo planeados hasta la Semana 24 e interacción de tratamiento por momento de tiempo, así como las covariables fijas continuas de valor en el nivel inicial correspondiente e interacción de valor por momento de tiempo en el nivel inicial. Se analizaron Lp(a) y triglicéridos (que tienen una distribución no gaussiana) y los criterios de evaluación binarios (proporción de pacientes con C-LDL < 100 mg/dL y < 70 mg/dL) usando un enfoque de imputación múltiple para la manipulación de valores faltantes. Para Lp(a) y triglicéridos, la imputación 35 múltiple fue seguida por el robusto modelo de regresión con grupos de tratamiento y valor en el nivel inicial correspondiente como efectos. Para los criterios de evaluación binarios. la imputación múltiple fue seguida por regresión logística con grupo de tratamiento como efecto y valor en el nivel inicial correspondiente como covariable. Se aplicó un análisis de sensibilidad de criterios secundarios de valoración clave usando el mismo enfoque estadístico que se ha descrito anteriormente usando valores durante el tratamiento.

## 40 **RESULTADOS**

45

50

55

De los 204 pacientes seleccionados, 103 cumplieron los criterios de elegibilidad para el estudio y se aleatorizaron (52 al brazo de mAb316P y 51 al brazo de ezetimiba; **Figura 2**). Las características en el nivel inicial y los parámetros de lípidos fueron, en general, distribuidos uniformemente a través de los 2 brazos del estudio **(Tabla 1)**. Se identificaron un total de 4 pacientes que tenían diabetes mellitus en la selección (3 en el brazo de mAb316P y 1 en el brazo de ezetimiba). Los niveles de C-LDL medios en el nivel inicial fueron 141,1 mg/dL (3,65 mmol/L) en el brazo de mAb316P y 138,3 mg/dL (3,58 mmol/L) en el brazo de ezetimiba **(Tabla 1)**.

Se ajustó de forma ascendente la dosis en un modo ciego de catorce pacientes en el brazo de mAb316P en la Semana 12 hasta la pauta posológica 150 mg Q2W debido a que su C-LDL en la Semana 8 fue ≥70 mg/dL; solo uno de estos pacientes tuvo C-LDL >100 mg/dL. Los valores medios de C-LDL en el nivel inicial fueron 153,2 mg/dL (3,96 mmol/L) en pacientes en los que la dosis se ajustó de forma ascendente hasta mAb316P 150 mg Q2W y 134,7 mg/dL (3,48 mmol/L) en pacientes en los que la dosis no se ajustó de forma ascendente. Los valores en el nivel inicial de otros valores de lípidos según si la dosis de los pacientes se ajustó de forma ascendente o no se muestran en la **Tabla 2.** 

En general, 44/52 (85 %) pacientes en el brazo de mAb316P y 44/51 (86 %) pacientes en el brazo de ezetimiba completaron el periodo de tratamiento de 24 semanas (Figura 2). El principal motivo para la interrupción del tratamiento del estudio fue TEAEs en ambos brazos de tratamiento (Figura 2). De los 15 pacientes que interrumpieron prematuramente el tratamiento, 3 (6 %) pacientes en el brazo de mAb316P y 5 (10 %) pacientes en el brazo de ezetimiba no tuvieron un valor de C-LDL calculado en la Semana 24.

Cuarenta y ocho pacientes en cada brazo se auto-inyectaron todas las inyecciones (94 % en el brazo de ezetimiba, 92 % en el brazo de mAb316P). Tres pacientes en el brazo de ezetimiba y 4 en el brazo de mAb316P se auto-inyectaron algunas de las inyecciones y pidieron a otra persona que lo hiciera para las otras inyecciones. Ningún paciente pidió a otra persona que realizara todas sus inyecciones.

Todos los pacientes aleatorizados recibieron al menos 1 dosis de su fármaco asignado y se incluyeron en las poblaciones por intención de tratar (IDT) y de seguridad (Figura 2). Un paciente de cada brazo de tratamiento se retiró del tratamiento antes de que se hiciera cualquier medición de C-LDL post-aleatorización y así se excluyeron del análisis durante el tratamiento. Sin embargo, continuaron el estudio y se les tomaron mediciones de C-LDL mientras que estuvieron sin tratamiento, pero antes del final del periodo del estudio de 24 semanas, por lo que se incluyeron en el análisis IDT.

Tabla 1. Características en el nivel inicial (Todos los pacientes aleatorizados)

Característica (media [DE] a menos que se establezca de	Ezetimiba 10 mg	mAb316P 75 mg Q2W
otro modo)	(N=51)	(N=52)
Edad, años	59,6 (5,3)	60,8 (4,6)
≥65 años, n (%)	8 (15,7)	11 (21,2)
Sexo masculino, n (%)	27 (52,9)	28 (53,8)
Raza, n (%)		
Blanca	47 (92,2)	46 (88,5)
Negra o afroamericana	4 (7,8)	6 (11,5)
IMC, kg/m <sup>2</sup>	28,4 (6,7)	30,1 (5,9)
HbA1c, %	5,6 (0,4)	5,7 (0,5)
Glucemia en ayunas, mg/dL	97,4 (9,0)	101,4 (14,3)
Tiempo desde el diagnóstico de hipercolesterolemia, años	4,5 (7,8)	4,0 (4,7)
Riesgo de 10 años de ECV mortal (PUNTUACIÓN), %	2,68 (1,14)	2,97 (1,29)
Parámetros de lípidos, mg/DI		
C-LDL	138,3 (24,5)	141,1 (27,1)
Intervalo (mín : máx)	73 : 186	77 : 207
Apolipoproteína B	104,3 (19,1)	104,3 (18,4)
Colesterol total	223,9 (30,2)	221,7 (33,7)
C no HDL	164,0 (29,7)	167,4 (30,3)
Lipoproteína(a), mediana (IQR)	16,0 (6,0:34,0)	13,0 (4,0:39,0)
Triglicéridos, mediana (IQR)	117,0 (87,0:154,0)	119,0 (89,0:153,0)
C-HDL	59,9 (19,2)	54,3 (16,1)
Apolipoproteína A-1	163,8 (33,4)	153,1 (29,2)

Se identificaron un total de 4 pacientes con diabetes mellitus en la selección (3 en el brazo de mAb316P y 1 en el brazo de ezetimiba). No hubo diferencias clínica o estadísticamente significativas entre grupos.

Para convertir las mediciones de glucosa en mmol/L, multiplicar por 0,0555; para convertir las mediciones de colesterol en mmol/L, multiplicar por 0,02586; para convertir las mediciones de triglicéridos en mmol/L, multiplicar por 0,01129.

IMC, índice de masa corporal; HbA1c, hemoglobina glucosilada; C-HDL, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; IQR, intervalo intercuartílico; C-LDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; Q2W, cada 2 semanas; PUNTUACIÓN, Estimación Sistémica del Riesgo Coronario; DE, desviación estándar.

Tabla 2. Parámetros de lípidos en el nivel inicial según el estado de ajuste ascendente de la dosis (pacientes de la población de seguridad con al menos una inyección posterior a la Semana 12)

Parámetro de los línidos	Sin ajuste ascendente de la dosis en el grupo de mAb316P	Ajuste ascendente de la dosis en el grupo de mAb316P		
Parámetro de los lípidos (mg/dL)	(N=32)	(N=14)		
C-LDL				
Media (DE)	134,7 (26,7)	153,2 (24,6)*		
Intervalo (Mín : máx)	77 : 206	122 : 207		
C-HDL				
Media (DE)	51,3 (16,3)	60,3 (15,2)†		
Intervalo (Mín : máx)	30 : 98	33 : 96		
Colesterol total				
Media (DE)	215,1 (32,9)	236,6 (30,6)‡		
Intervalo (Mín : máx)	159 : 289	184 : 296		
C no HDL				
Media (DE)	163,7 (32,5)	176,4 (24,0)§		
Intervalo (Mín : máx)	100: 233	144: 231		
Triglicéridos en ayunas				
Media (DE)	145,3 (80,5)	115,4 (34,1)∥		
Intervalo (Mín : máx)	36 : 373	62 : 183		

Valores de p frente a pacientes sin ajuste ascendente de la dosis: \*P=0,0436; †P=0,0280; †P=0,0546; §P=0,2989, P=0,3455. Los valores de p no se ajustaron para multiplicidad y son solo para fines descriptivos.

C-HDL, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; C-LDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; DE, desviación estándar.

### Resultados de eficacia

15

20

Para el análisis de eficacia primaria (análisis IDT), reducciones en porcentaje en la media de mínimos cuadrados (MC) en C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24 fueron 47 (3) % en el grupo de mAb316P frente a 16 (3) % en el grupo de ezetimiba, con una diferencia de la media de MC (EE) estadísticamente significativa entre grupos de -32 (4) % (P<0,0001) (Tabla 3). Los resultados de los análisis durante el tratamiento fueron similares a los del análisis IDT: las reducciones de C-LDL medias de MC (EE) desde el nivel inicial hasta la Semana 24 fueron 54 (2) % frente a 17 (2) % (P<0,0001), con mAb316P y ezetimiba, respectivamente (Tabla 3).

En la Semana 12, cuando todos los pacientes en el brazo de mAb316P estuvieron recibiendo 75 mg Q2W, los niveles de C-LDL se redujeron en 48 (3) % con mAb316P frente a 20 (3) % con ezetimiba en el análisis IDT, con una diferencia media de MC (EE) entre grupos de -28 (4) % (P<0,0001). Las reducciones de C-LDL correspondientes en el análisis durante el tratamiento en la Semana 12 fueron 53 (2) % con mAb316P frente a 20 (2) % con ezetimiba, con una diferencia media de MC (EE) entre grupos de -33 (3) %.

La **Figura 3** muestra el transcurso de tiempo de cambios en los niveles de C-LDL durante el periodo de estudio para los pacientes tratados con mAb316P y ezetimiba. Aquí se muestran los valores durante el tratamiento puesto que el fin es entender la durabilidad del efecto del fármaco sin confusión por abandono. Hubo una espectacular disminución en el C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 4 en los pacientes que recibieron mAb316P, con robustas reducciones de C-LDL mantenidas desde la Semana 4 hasta el final del periodo de tratamiento en la Semana 24. El análisis estadístico de la interacción entre el tratamiento y el momento de tiempo en el modelo de MMRM no fue significativo, sugiriendo la estabilidad del efecto reductor de LDL de mAb316P frente a ezetimiba con el tiempo (como se ilustra en la **Figura 3**).

Las proporciones estimadas de pacientes con reducciones de C-LDL ≥50 % en la Semana 12, antes del ajuste

ascendente de la dosis, fueron 58 % en el brazo de mAb316P, en comparación con 3 % de pacientes en el brazo de ezetimiba (IDT). Los valores correspondientes en el análisis durante el tratamiento fueron 65 % en el brazo de mAb316P y 2 % en el brazo de ezetimiba. Todos los pacientes respondieron a mAb316P mientras se expusieron al tratamiento (población en tratamiento) (**Figura 4**).

- Para estimar el impacto del ajuste ascendente de la dosis basado en C-LDL ≥70 mg/dL en lugar de ≥100 mg/dL sobre el parámetro primario de eficacia, se realizó un análisis adicional excluyendo los valores de C-LDL después del ajuste ascendente de la dosis para los 13 pacientes en los que se ajustó de forma ascendente la dosis a pesar de que tenían valores de C-LDL <100 mg/dL; este análisis dio resultados similares al análisis IDT global (**Tabla 4**).
- El porcentaje de reducciones desde el nivel inicial en Apo B, colesterol total y C no HDL fue significativamente mayor para mAb316P frente a ezetimiba en la Semana 24 y similar en los análisis IDT y durante el tratamiento (**Tabla 5**). Se observaron reducciones moderadas en Lp(a), TGs y aumentos en C-HDL siguiendo ambos de los tratamientos del estudio, sin diferencias entre los brazos de mAb316P y de ezetimiba (**Tabla 5**).

Los análisis de subgrupos no sugirieron diferencias importantes sobre la eficacia de mAb316P frente a ezetimiba en la población IDT para diversos parámetros (**Figura 5**).

Tabla 3. Cambio en porcentaje en C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24 (análisis IDT o durante el tratamiento como se indica)

_			mAb316P frente a ezetimiba		
C-LDL	Ezeti- miba 10 mg	mAb316P 75 mg Q2W	Diferencia media de MC (EE) %	IC del 95 %	Valor de p
IDT	N=51	N=52			
Cambio de media de MC (EE) desde el nivel inicial (%)	- 15,6(3,1)	-47,2 (3,0)	-31,6(4,3)	-40,2 a - 23,0	<0,0001*
En tratamiento <sup>†</sup>	N=50	N=51			
C-LDL en el nivel inicial, media (DE), mg/dL	137,5 (24,1)	141,1 (27,4)			
Mín : máx	73 : 186	77 : 207			
Cambio de media de MC (EE) desde el nivel inicial (%)	-17,2 (2,0)	-54,1 (2,0)	-36,9 (2,9)	-42,7 a - 31,2	<0,0001‡

<sup>\*</sup>Estadísticamente significativo según el enfoque quirúrgico fijado usado para controlar la tasa de error de tipo I global.

15

<sup>†</sup>Incluye todos los pacientes en la población IDT con al menos 1 valor de C-LDL calculado en un momento de tiempo planeado entre la primera dosis del tratamiento del estudio y hasta 21 días después de la última inyección o 3 días después de la última ingestión de cápsula, sea cual sea primero.

<sup>‡</sup>El valor de p se muestra solo para fines descriptivos.

IC, intervalos de confianza; IDT, intención de tratar; C-LDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; MC, mínimos cuadrados; Q2W, cada 2 semanas; DE, desviación estándar; EE, error estándar.

Tabla 4. Cambio en porcentaje en C-LDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24 excluyendo los datos del posterior ajuste ascendente de la dosis de pacientes a los que se ajustó de forma ascendente la dosis desde mAb316P 75 mg hasta 150 mg Q2W que tienen C-LDL <100 mg/dL (población por intención de tratar)

			mAb316P frente a ezetimiba		
C-LDL, media de MC (EE)	Ezetimiba 10 mg (N=51)	mAb316P 75 mg Q2W (N=52)	Diferencia media de MC (EE) %	IC del 95 %	Valor de p
Cambio en la Semana 24 desde el nivel inicial (%)	-15,6 (3,2)	-44,3(3,4)	-28,7 (4,6)	-37,9 a - 19,5	<0.0001‡

<sup>‡</sup>El valor de p se muestra solo para fines descriptivos.

5

Tabla 5. Cambio en porcentaje desde el nivel inicial en los parámetros secundarios de los lípidos (análisis IDT o durante el tratamiento como se indica)

			mAb316P frente a ezetimiba		
Cambio en % de la media de MC (EE) desde el nivel inicial hasta la Semana 24	Ezetimiba 10 mg	mAb316P 75 mg Q2W	Diferencia media de MC (EE) %	IC del 95 %	Valor de p
IDT	N=51	N=52			
Аро В	-11,0 (2,4)	-36,7 (2,3)	-25,8 (3,3)	-32,3 a -19,2	<0,0001*
C no HDL	-15,1 (2,9)	-40,6 (2,8)	-25,5 (4,1)	-33,5 a -17,4	<0,0001*
Colesterol total	-10,9 (2,2)	-29,6 (2,1)	-18,7 (3,0)	-24,7 a -12,7	<0,0001*
Lp(a) <sup>†</sup>	-12,3 (3,8)	-16,7 (3,7)	-4,4 (5,3)	-14,8 a 5,9	0,4013
TGs <sup>†</sup>	-10,8 (4,3)	-11,9 (4,2)	-1,2 (5,9)	-12,7 a 10,3	0,8433‡
C-HDL	1,6 (1,9)	6,0 (1,9)	4,4 (2,7)	-1,0 a 9,8	0,1116 <sup>‡</sup>
Apo A-1	-0,6 (1,6)	4,7 (1,6)	5,3 (2,2)	0,9 a 9,8	0,0196‡
Durante el tratamiento	N=50	N=51			
Аро В	-11,5 (1,9)	-40,8 (1,9)	-29,2 (2,6)	-34,4 a -24,0	<0,0001§
C no HDL	-16,6 (1,9)	-47,1 (1,9)	-30,5 (2,7)	-35,9 a -25,1	<0,0001§
Colesterol total	-12,0 (1,6)	-34,2 (1,6)	-22,2 (2,3)	-26,7 a -17,7	<0,0001§
Lp(a) <sup>†</sup>	-12,3 (4,0)	-17,7 (4,1)	-5,4 (5,7)	-16,6 a 5,9	0,3506§
TGs <sup>†</sup>	-12,7 (4,2)	-14,7 (4,4)	-1,9 (6,0)	-13,7 a 9,8	0,7452§
C-HDL	1,7 (1,9)	8,0 (1,9)	6,2 (2,7)	0,8 a 11,6	0,0241§
Apo A-1	-0,7 (1,6)	5,3 (1,6)	6,1 (2,3)	1,6 a 10,6	0,0084§

<sup>\*</sup>Estadísticamente significativo según el enfoque jerárquico fijado usado para controlar la tasa de error de tipo I global.

Apo, apolipoproteína; IC, intervalos de confianza; C-HDL, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; IDT, intención de tratar; Lp(a), lipoproteína(a); MC, mínimos cuadrados; Q2W, cada 2 semanas; EE, error estándar; TGs, triglicéridos.

IC, intervalo de confianza; C-LDL, colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; MC, mínimos cuadrados; Q2W, cada 2 semanas.

<sup>†</sup>La estimación combinada para los cambios en porcentaje de la media ajustada (EE) se muestran para Lp(a) y TGs.

<sup>&</sup>lt;sup>‡</sup>Como la diferencia en Lp(a) en la Semana 24 no fue significativa para mAb316P frente a ezetimiba, no se realizó prueba de significancia adicional según el enfoque jerárquico fijado. Valores de *p* para TGs, C-HDL y Apo A-1 se muestran solo para fines descriptivos.

<sup>§</sup>Los valores de *p* se muestran solo para fines descriptivos.

#### Resultados de seguridad

5

10

15

20

25

30

El porcentaje global de pacientes que tuvieron al menos un TEAE fue 69 % en el brazo de mAb316P y 78 % en el brazo de ezetimiba (**Tabla 6**). No hubo muertes. Se informó de dos SAEs durante el periodo de TEAE: un paciente, que había recibido mAb316P 75 mg Q2W durante 3 meses y tenía antecedentes de fibrilación auricular y trastorno pulmonar obstructivo crónico, tuvo una embolia pulmonar; se interrumpió el tratamiento del estudio y el paciente fue hospitalizado, donde él se recuperó. Un paciente en el brazo de ezetimiba con un antecedente personal de artritis tuvo erosión de la glenoides y fue hospitalizado para cirugía (artroplastia de hombro). El paciente se recuperó en el hospital y completó el estudio. Ninguno de los SAEs fue considerado por el investigador como relacionado con el tratamiento del estudio. Los TEAEs que ocurren en 5 % o más pacientes en cualquiera de los brazos de tratamiento se muestran en la **Tabla 6**.

Nueve pacientes interrumpieron prematuramente el tratamiento del estudio tras uno o más TEAEs (5 [10 %] pacientes en el brazo de mAb316P y 4 [8 %] en el brazo de ezetimiba). En el grupo de ezetimiba, los TEAEs que condujeron a la interrupción fueron gota en 1 paciente, fatiga, dolor de espalda y micción frecuente en 1 paciente, dolor abdominal de tipo cólico y reacción del sitio de inyección en 1 paciente, y sueños demasiado intensos en 1 paciente. En el grupo de ezetimiba mAb316P, los TEAEs que condujeron a la interrupción fueron embolia pulmonar en 1 paciente, náuseas, fatiga, cefalea y rubor en 1 paciente, artralgia (dolor generalizado) en 1 paciente, reacción del sitio de inyección en 1 paciente y diarrea en otro paciente.

La clase más común de TEAEs fue infección (42,3 % de mAb316P frente a 39,2 % de ezetimiba), principalmente respiratoria. Los TEAEs relacionados con los músculos ocurrieron en 2 (4 %) de los pacientes con mAb316P y 2 (4 %) de los pacientes con ezetimiba. Se informaron niveles elevados de creatina cinasa superiores a 10 veces el límite superior de la normalidad en 1 paciente en el grupo de ezetimiba (**Tabla** 6). Los tres pacientes tuvieron una reacción local del sitio de inyección (1 [2 %] paciente en el grupo de mAb316P y 2 [4 %] en el grupo de ezetimiba). Estos acontecimientos fueron de intensidad leve. El paciente en el brazo de mAb316P tuvo 3 episodios de reacción local del sitio de inyección tras las inyecciones consecutivas. Tres pacientes que se trataron con mAb316P 75 mg Q2W tuvieron al menos 1 valor de C-LDL <25 mg/dL; no se observó preocupación de seguridad particular asociada a los bajos niveles de C-LDL con estos 3 pacientes.

Algunos pacientes (2 o menos) en el grupo de ezetimiba y ningún paciente en el grupo de mAb316P presentaron anomalías en las constantes vitales (tensión arterial, frecuencia cardíaca). Además, no hubo aumentos superiores a 3 veces el límite superior de la normalidad en la alanina aminotransferasa o aspartato aminotransferasa (**Tabla 6**). Más pacientes tuvieron glucemia ≥126 mg/dL (7 mmol/L) en el brazo de mAb316P que en el brazo de ezetimiba (6 pacientes frente a 1 paciente; **Tabla 6**). Los 6 pacientes en el brazo de mAb316P que tuvieron alta glucemia durante el periodo de tratamiento tuvieron glucosa en ayunas anormal en la selección o nivel inicial y no se observó ningún patrón en los cambios ni en la glucemia ni en HbA1c desde la selección hasta la Semana 24 (**Tabla 7**).

Se encontraron anticuerpos anti-fármaco emergentes del tratamiento en 6 (12 %) pacientes en el brazo de mAb316P y no se observaron en pacientes en el brazo de ezetimiba. Para todos los pacientes positivos para anticuerpos antifármaco, los títulos fueron bajos (≤240 en el ensayo usado) y no se detectó anticuerpo anti-fármaco neutralizante que pudiera afectar la farmacocinética de mAb316P, efectos de C-LDL, o la seguridad.

Tabla 6. TEAEs y parámetros de laboratorio (población de seguridad)

	Ezetimiba 10 mg	mAb316P 75 mg Q2W
Categoría de AE o parámetro de laboratorio, n (%)	(n=51)	(n=52)
Pacientes con cualquier TEAE	40 (78,4)	36 (69,2)
Pacientes con cualquier SAE emergente del tratamiento	1 (2,0)	1 (1,9)
Pacientes con cualquier TEAE que conduce a muerte	0	0
Pacientes con cualquier TEAE que conduce a interrupción del tratamiento	4 (7,8)	5 (9,6)
TEAEs que ocurren en ≥5 % de pacientes en cualquier grupo		
Nasofaringitis	8 (15,7)	12 (23,1)
Diarrea	2 (3,9)	6 (11,5)
Gripe	3 (5,9)	6 (11,5)
Artralgia	2 (3,9)	3 (5,8)
Cefaleas	2 (3,9)	3 (5,8)
Náuseas	3 (5,9)	3 (5,8)
Infección de las vías respiratorias superiores	5 (9,8)	2 (3,8)
Dolor de espalda*	3 (5,9)	1 (1,9)
Mareos	3 (5,9)	1 (1,9)
Infección de las vías urinarias	3 (5,9)	0
Pacientes con TEAEs de interés		
Trastornos musculoesquelético y de tejido conjuntivo	11 (21,6)	8(15,4)
Músculo trastornos	2 (3,9)	2 (3,8)
Mialgia	1 (2,0)	2 (3,8)
Espasmos musculares	1 (2,0)	0
Trastornos musculoesquelético y de tejido conjuntivo NEC	5 (9,8)	2 (3,8)
Dolor musculoesquelético	1 (2,0)	1 (1,9)
Trastornos generales y condiciones del sitio de administración	5 (9,8)	5 (9,6)
Reacción del sitio de inyección	2 (3,9)	1 (1,9)
Parámetros de laboratorio n/N (%)		
Alanina aminotransferasa (ALT)		
$\geq 3\times$ ULN (si ALT en el nivel inicial <uln) <math="" o="">\geq 2\times valor en el nivel inicial (si ALT en el nivel inicial <math>\geq</math>ULN)</uln)>	0/51	0/52
>3× ULN	0/51	0/52
Aspartato aminotransferasa		
>3× ULN	0/51	0/52
Glucosa		

	Ezetimiba 10 mg	mAb316P 75 mg Q2W
Categoría de AE o parámetro de laboratorio, n (%)	(n=51)	(n=52)
≤70 mg/dL (3,9 mmol/L) y <lln< td=""><td>0/50</td><td>0/52</td></lln<>	0/50	0/52
≥126 mg/dL (7 mmol/L) (en ayunas)	1/50 (2,0)	6/51 (11,8)**
Albúmina		
≤25 g/L	0/50	0/51
Creatina cinasa		
>3× ULN	1/50 (2,0)	0/51
>10× ULN	1/50 (2,0)	0/51

<sup>\*</sup>También se contó el dolor de espalda como un TEAE de especial interés (trastornos musculoesqueléticos y de tejido conjuntivo NEC).

TEAEs son eventos adversos que se desarrollaron o empeoraron o se volvieron graves durante el periodo de TEAE (definido como el tiempo desde la primera dosis de tratamiento del estudio de doble ciego hasta la última inyección más 70 días [10 semanas], ya que se esperó el efecto residual de mAb316P hasta 10 semanas después de la última inyección.

LLN, límite inferior de normal; NEC, no clasificado en otra parte; Q2W, cada 2 semanas; SAE, acontecimiento adverso grave; TEAE, acontecimiento adverso emergente del tratamiento; y ULN, límite superior de la normalidad.

Tabla 7. Niveles de glucemia para pacientes en el brazo de mAb316P que informaron alta glucemia durante el estudio (n=6)

Paciente (número arbitrario)	Momento de tiempo	Glucemia en ayunas (mg/dL)	HbA1c (%)
1	Selección (Semana -2)	121	5,7
	Nivel inicial (Semana 0)	115	
	Semana 24	112	5,9
2	Selección (Semana -2)	128	6,2
	Nivel inicial (Semana 0)	119	
	Semana 24	121	6,5
3*	Selección (Semana -2)	126	6,2
	Semana 24	112	5,9
4*	Selección (Semana -2)	105	7,0
	Nivel inicial (Semana 0)	97	
	Semana 24	70	6,2
5*	Selección (Semana -2)	164	7,5
	Nivel inicial (Semana 0)	142	
	Semana 24	183	7,7
6	Selección (Semana -2)	125	6,7

<sup>\*\*</sup> Se identificó que tres de estos pacientes tenían diabetes mellitus en la selección y los 6 pacientes tenían glucemia en ayunas anormal en la selección o nivel inicial; no se observó patrón en los cambios en glucemia con el tiempo (véase la Tabla complementaria 6).

Paciente (número arbitrario)	Momento de tiempo Glucemia en ayunas (mg/dL)		HbA1c (%)
	Nivel inicial (Semana 0)	129	
	Semana 12	135	6,3

Los valores no estuvieron disponibles en todos los momentos de tiempo para todos los pacientes.

Este fue el primer estudio de mAb316P de fase 3, el primer estudio de mAb316P de monoterapia, y el primer estudio para usar la pauta posológica de 75 mg Q2W. MAb316P demostró eficacia superior en la monoterapia en comparación con ezetimiba durante 24 semanas de tratamiento. Se observaron reducciones de C-LDL de 48 % en la Semana 12 (antes del ajuste ascendente de la dosis) en pacientes que recibieron mAb316P 75 mg Q2W, en comparación con 20 % para ezetimiba 10 mg al día, en el análisis IDT. Las reducciones correspondientes para pacientes que estuvieron en tratamiento fueron 53 % con mAb316P 75 mg Q2W frente a 20 % con ezetimiba.

La eficacia de mAb316P fue coherente a través de los parámetros en el nivel inicial que incluyen niveles de C-LDL y PCSK9, y características demográficas. De hecho, todos los pacientes tratados con mAb316P respondieron a 75 mg Q2W en monoterapia en el análisis durante el tratamiento. La monoterapia de mAb316P mostró un efecto reductor de LDL sostenido desde las Semanas 4 hasta 24.

De acuerdo con las marcadas reducciones en C-LDL, mAb316P también proporcionó robustas reducciones en el colesterol total, Apo B y C no HDL. mAb316P produjo un 18 % de reducción en Lp(a) en el presente estudio, en comparación con 12 % en el brazo de ezetimiba.

MAb316P demostró tolerabilidad y seguridad comparable con ezetimiba. Los AEs relacionados con los músculos ocurrieron en una frecuencia similar en ambos brazos de tratamiento (4 % de los pacientes con mAb316P y 4 % de ezetimiba). Además, fue bajo el desarrollo de anticuerpos anti-fármaco en los pacientes tratados con mAb316P.

En resumen, esta es la primera evaluación cegada de 6 meses duración, fase 3, cegada, de un anticuerpo anti-PCSK9. Se observó una reducción en C-LDL de -50 % en el brazo de mAb316P 75 mg Q2W a las 12 semanas en una población de monoterapia, que fue sustancialmente superior a la que se observó en el brazo de ezetimiba (20 %). Este estudio extiende las observaciones de seguridad desde los ensayos de fase 2, sin pruebas de señales de seguridad que parecen limitar el uso y la tolerabilidad. Este también fue el primer ensayo controlado aleatorizado de un anticuerpo monoclonal inyectable contra PCSK9 utilizando un autoinyector desechable, que produjo menos AEs relacionados con la inyección (<2 % de pacientes con mAb316P y <4 % de ezetimiba).

### 25 Resultados farmacocinéticos

5

10

20

45

Se evaluó la relación entre las concentraciones de mAb316P, PCSK9 libre y C-LDL en pacientes que recibieron monoterapia de mAb316P. También se evaluaron cambios en PCSK9 libre y C-LDL en el brazo de ezetimiba.

Se determinaron niveles de mAb316P en suero y de PCSK9 libre usando enzimoinmunoanálisis de adsorción validados

30 Se realizaron análisis farmacocinéticos en 46 pacientes en el brazo de tratamiento de mAb316P que no se habían retirado antes de la Semana 12 (**Tabla 8**). De los 46 pacientes tratados con mAb316P, 32 pacientes alcanzaron C-LDL <70 mg/dL en la Semana 8 y se mantuvieron con mAb316P 75 mg Q2W, y a 14 pacientes se les ajustó de forma ascendente la dosis hasta mAb316P 150 mg Q2W.

Los niveles de C-LDL en el nivel inicial fueron mayores en los pacientes con mAb316P con ajuste ascendente de la dosis en comparación con los pacientes con mAb316P sin ajuste ascendente de la dosis (P=0,044) (**Tabla 9**). En el grupo sin ajuste ascendente de la dosis, las reducciones de C-LDL observadas en la Semana 4 fueron sostenidas hasta la Semana 24 (**Figura 6A**). En el grupo de ajuste ascendente de la dosis, los niveles de C-LDL también se redujeron en la Semana 4, pero hasta un grado relativo menor que el grupo sin ajuste ascendente de la dosis (**Figura 6A**). Las reducciones en C-LDL con mAb316P fueron similares en las Semanas 12 y 24, independientemente de si la dosis de mAb316P se ajustó de forma ascendente en la Semana 12 (**Figura 6A**), y fueron coherentemente superiores a con ezetimiba (**Tabla 9**).

Los niveles de mAb316P en suero fueron similares en los grupos de ajuste ascendente de la dosis y sin ajuste ascendente de la dosis durante las primeras 12 semanas del estudio cuando todos los pacientes recibieron la dosis de 75 mg, y aproximadamente se duplicaron en pacientes de ajuste ascendente de la dosis en la Semana 12 (**Figura 6B**; **Tabla 9**).

Los niveles de PCSK9 libre y total en el nivel inicial fueron ligeramente mayores en el grupo de ajuste ascendente de la dosis en comparación con los grupos sin ajuste ascendente de la dosis y de ezetimiba (**Tabla 9**). Los niveles de

<sup>\*</sup>Se identificó que tenía diabetes mellitus en la selección.

PCSK9 libre alcanzaron el punto más bajo en la Semana 4 en el grupo sin ajuste ascendente de la dosis; los niveles de PCSK9 libre también se redujeron en las Semanas 4-12 en el grupo de ajuste ascendente de la dosis pero fueron 2-3 veces superiores a en el grupo sin ajuste ascendente de la dosis (**Figura 6C**; **Tabla** 9). El ajuste ascendente de la dosis hasta mAb316P 150 mg Q2W en la Semana 12 se asoció a supresión adicional de los niveles de PCSK9 libre; las reducciones se mantuvieron hasta la Semana 24 (**Figura 6C**; **Tabla 9**). Los niveles de PCSK9 libre permanecieron relativamente invariables desde el nivel inicial hasta la Semana 12 en el grupo de ezetimiba, pero se redujeron en la Semana 24 (**Tabla 9**). Los niveles de PCSK9 total aumentaron tras el tratamiento con mAb316P pero no ezetimiba (**Tabla 9**), posiblemente debido a que el complejo de anticuerpo:PCSK9 tuvo una semivida más larga que PCSK9 libre.

- En pacientes mantenidos con monoterapia de mAb316P 75 mg Q2W hasta la Semana 24, los niveles de PCSK9 libre se redujeron de forma máxima en la Semana 4; se mantuvo la eficacia reductora de C-LDL desde la Semana 4 hasta 24. En pacientes con ajuste ascendente de la dosis hasta mAb316P 150 mg Q2W en la Semana 12, aumentaron las concentraciones de mAb316P en suero como era de esperar y hubo una disminución adicional en los niveles de PCSK9 libre, pero hubo poco efecto adicional sobre C-LDL. Los resultados sugieren que la monoterapia con mAb316P 75 mg Q2W es suficiente para bloquear PCSK9 libre y mantener la eficacia de reducción de C-LDL durante 24 semanas en la mayoría de los pacientes que no reciben una estatina u otras terapias modificadoras de lípidos. A medida que se acelera la eliminación mediada por diana de mAb316P por su unión a PCSK9 libre, se pueden requerir dosis más altas de mAb316P en el ámbito clínico donde los pacientes están recibiendo estatina simultánea u otros agentes modificadores de lípidos que aumentan PCSK9 libre.
- La presente invención no se debe limitar en alcance por las realizaciones específicas descritas en el presente documento. De hecho, las diversas modificaciones de la invención, además de las descritas en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la anterior descripción y la figura adjunta. Dichas modificaciones pretenden entrar dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Tabla 8. Características del nivel inicial medio (DE)

	mA		
Característica	Ajuste ascendente de la dosis* en la Semana 12 (n=14)	Sin ajuste ascendente de la dosis en la Semana 12 (n=32)	Ezetimiba (n=51)
Edad, años	61,8 (3,9)	60,2 (5,1)	59,6(5,3)
Sexo masculino, n (%)	3 (21,4)	22 (68,8)	27 (52,9)
Raza, blanca, n (%)	13 (92,9)	28 (87,5)	47 (92,2)
IMC, kg/m <sup>2</sup>	31,8 (6,4)	29,8 (5,8)	28,4 (6,7)
Diabetes de tipo 2, n (%)	0	3 (9,4)	1 (2,0)
Riesgo de 10 años de ECV mortal (PUNTUACIÓN), %	3,2 (1,2)	2,9 (1,4)	2,68 (1,1)

\*La dosis de mAb316P se ajustó de manera ascendente en un modo ciego hasta 150 mg Q2W en la Semana 12 si el C-LDL en la Semana 8 fue ≥70 mg/dL (~1,8 mmol/L)

IMC, índice de masa corporal; ECV, enfermedad cardiovascular; PUNTUACIÓN, Estimación Sistémica de Riesgo Coronario; DE, desviación estándar

25

Tabla 9. Concentraciones medias (DE) de mAb316P en suero, PCSK9 total y libre, y C-LDL

	mAb		
	Ajuste ascendente de la do- sis* en la Semana 12 (n=14)	Sin ajuste ascendente de la dosis en la Semana 12 (n=32)	Ezetimiba (n=51)
C-LDL (durante el trata- miento), mg/dL			
Nivel inicial	153,2 (24,6)	134,7 (26,7)	137,5 (24,1)
Semana 4	83,5 (23,6)	59,8 (13,6)	109,9 (22,4)

	mAl	o316P	
	Ajuste ascendente de la do- sis* en la Semana 12 (n=14)	Sin ajuste ascendente de la dosis en la Semana 12 (n=32)	Ezetimiba (n=51)
C-LDL (durante el trata- miento), mg/dL			
Semana 12	78,3 (22,8)	58,8 (16,8)	109,8 (25,2)
Semana 24	74,8 (19,5)	57,8 (16,2)	113,4 (25,0)
mAb316P, ng/mL**			
Semana 4	4533,9 (3996,5)	5784,7 (2456,4)	-
Semana 12	5702,9 (4816,4)	5979,0 (2780,3)	-
Semana 24	14772,2 (10201,7)	6991,4 (4418,4)	-
PCSK9 total, ng/mL			
Nivel inicial	551,6 (129,5)	470,3 (144,7)	496,1 (161,0)
Semana 4	2948,2 (1284,8)	3186,9 (634,1)	508,8 (244,1)
Semana 12	3762,3 (1588,3)	3204,2 (988,8)	645,5 (694,2)
Semana 24	4680,8 (1297,2)	3408,2 (969,7)	482,0 (128,5)
PCSK9 libre, ng/mL			
Nivel inicial	213,8 (38,3)	178,4 (53,6)	181,5 (61,5)
Semana 4	65,9 (80,2)	22,8 (37,4)	180,1 (57,4)
Semana 12	59,3 (76,9)	40,4 (53,4)	191,0 (65,0)
Semana 24	14,3 (37,1)	36,9 (55,0)	138,5 (56,4)

Para convertir C-LDL mg/dL en mmol/L, multiplicar por 0,02586

Ejemplo 3: Un estudio aleatorizado de doble ciego de la eficacia y seguridad de un anticuerpo anti-PCSK9 ("mAb316P") en pacientes con hipercolesterolemia primaria que son intolerantes a las estatinas

Introducción

10

El objetivo del presente estudio era evaluar la capacidad de un anticuerpo anti-PCSK9 ("mAb316P," también conocido como REGN727 o alirocumab) para reducir C-LDL en comparación con ezetimiba (EZE) en pacientes con hipercolesterolemia primaria (HFhe y H no F) que son intolerantes a las estatinas.

Los síntomas relacionados con los músculos en los ensayos clínicos, que implican grupos de pacientes altamente seleccionados con alto cumplimiento del tratamiento y tolerancia a las estatinas, pueden no reflejar la verdadera prevalencia de la mialgia en la clínica, como se evidencia por los hallazgos en estudios de observación. La discrepancia de la incidencia de acontecimientos adversos (AEs) relacionados con los músculos puede ser secundaria a algunos pacientes que tienen AEs con múltiples medicaciones, y esto puede no representar la verdadera intolerancia a las estatinas. Por tanto, para tener en cuenta los pacientes que pueden tener AEs con múltiples medicaciones y no solo

<sup>\*</sup>La dosis de mAb316P se ajustó de manera ascendente en un modo ciego hasta 150 mg Q2W en la Semana 12 si C-LDL en la Semana 8 fue ≥70 mg/dL (~1,8 mmol/L)

<sup>\*\*</sup>Los valores de C<sub>valle</sub> se tomaron 14 ± 6 días después de la inyección previa

C, concentración

con estatinas, se seleccionó un número suficiente de pacientes y se incluyeron en el periodo de preinclusión con placebo de simple ciego del presente estudio para garantizar el tamaño de muestra del periodo de tratamiento de doble ciego de 250 pacientes (100:100:50; mAb316P:EZE:atorvastatina).

El tamaño de muestra de 250 pacientes (100:100:50; mAb316P:EZE:atorvastatina), con una duración del tratamiento del estudio de doble ciego de 24 semanas, tenía como objetivo obtener información de la eficacia y obtener experiencia descriptiva con acontecimientos de seguridad en general, todos los acontecimientos relacionados con los músculos esqueléticos, y abandonos relacionados con los músculos esqueléticos en particular. Se incluyeron en este estudio pacientes hipercolesterolémicos con riesgo CV moderado, alto o muy alto, como una población en la que la obtención del objetivo de C-LDL es más difícil de alcanzar cuando se usan solo alternativas no de estatina. La definición de riesgo CV se basa en las pautas existentes (véase, por ejemplo, The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology [ESC] and the European Atherosclerosis Society [EAS], ESC/EAS Guidelines for the management of dislipidaemias. European Heart Journal 2011; 32:1769-1818); Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program [NCEP] Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults [Adult Treatment Panel III], JAMA 2001; 285:2486-2497).

El uso de un periodo de lavado de 2 semanas garantizó que no hubo un efecto residual de la terapia de fondo en los brazos comparativos.

Se usó el periodo de preinclusión con placebo de 4 semanas para eliminar pacientes que podían desarrollar síntomas relacionados con los músculos con otras medicaciones, que incluyen placebo.

- Los datos farmacocinéticos preliminares de los estudios de mAb316P de fase 2 mostraron que la exposición a mAb316P disminuyó durante el periodo de seguimiento de 8 semanas que siguió al periodo de tratamiento de doble ciego, con concentraciones totales en suero de mAb316P todavía detectables, pero a niveles muy bajos. Por tanto, para garantizar concentraciones de mAb316P en suero suficientemente bajas, no eficaces, los pacientes fueron seguidos durante un periodo de seguimiento de 8 semanas (es decir, 10 semanas después de la última dosis).
- Se usó ezetimiba como comparador activo debido a que es el actual tratamiento de referencia para pacientes que son incapaces de tolerar estatinas, y el objetivo primario del estudio fue evaluar la reducción de C-LDL después de 24 semanas para mAb316P en comparación con EZE. También se incluyó atorvastatina como un comparador para determinar que la población seleccionada en el estudio era una población verdaderamente intolerante a las estatinas, evaluando la incidencia y frecuencia de interrupción debido a los AEs relacionados con los músculos esqueléticos (Fung y Crook, Cardiovasc. Ther. 2012 Oct, 30(5):e212-218).

Se usaron dos dosis de mAb316P en el presente estudio: 75 mg y 150 mg administrados por vía subcutánea cada dos semanas (Q2W). La selección de dosis se basó en los datos de los programas de fase 1 y fase 2. La selección de dosis, frecuencia de administración y el enfoque de ajuste ascendente de la dosis también se basaron en la reducción de C-LDL necesaria para proporcionar el mejor beneficio en términos de reducción de ECV, y las posibles consideraciones de seguridad referentes a los bajos valores de C-LDL.

Se espera que la pauta posológica Q2W mantenga la reducción de C-LDL constante durante todo el intervalo entre la administración, proporcionando la máxima eficacia a las 12 semanas por la dosis de 150 mg Q2W. Sin embargo, para muchos pacientes, la magnitud de efecto observada con la dosis de 150 mg Q2W puede no ser necesaria para lograr el objetivo de C-LDL, y el tratamiento puede empezar con una dosis más baja. Por tanto, en el presente estudio, todos los pacientes fueron inicialmente tratados con 75 mg Q2W, y solo los pacientes con riesgo CV alto y muy alto y un C-LDL ≥70 mg/dL y pacientes con riesgo CV moderado y un C-LDL ≥100 mg/dL después de 8 semanas de tratamiento se sometieron a ajuste ascendente de la dosis hasta 150 mg Q2W en la Semana 12.

Basándose en los datos clínicos disponibles en el momento del comienzo del presente estudio, el tratamiento con mAb316P ha demostrado un efecto significativo de reducción de C-LDL y era, en general, bien tolerado en una población de pacientes con hipercolesterolemia no familiar o con hipercolesterolemia familiar heterocigótica. La eficacia sobre la reducción de C-LDL se asoció a resultados coherentes en C total, ApoB, C no HDL y la relación ApoB/ApoA-1 y una tendencia positiva para C-HDL, TG y Lp(a). No hubo evidencia de que mAb316P afectara adversamente otros factores de riesgo cardiovascular (CV), por ejemplo, peso corporal, tensión arterial, glucosa, o proteína C reactiva.

## **OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

35

40

45

55

50 El objetivo primario del estudio era demostrar la reducción de C-LDL por mAb316P en comparación con EZE 10 mg por vía oral una vez al día (PO QD) después de 24 semanas en pacientes con hipercolesterolemia primaria (HFhe y H no F) que fueron intolerantes a las estatinas.

Los objetivos secundarios del estudio fueron: (1) Evaluar el efecto de mAb316P 75 mg en comparación con EZE sobre C-LDL después de 12 semanas de tratamiento; (2) Evaluar el efecto de mAb316P sobre otros parámetros de lípidos (por ejemplo, ApoB, C no HDL, C total, Lp(a), C-HDL, niveles de TG y niveles de ApoA-1); (3) Evaluar la seguridad y tolerabilidad de mAb316P, que incluye la caracterización de la tasa de incidencia y la tasa de abandonos del tratamiento de AEs relacionados con los músculos esqueléticos; y (4) Evaluar el desarrollo de anticuerpos anti-mAb316P.

#### DISEÑO DEL ESTUDIO

El presente estudio fue un estudio aleatorizado, de doble ciego, con doble simulación, de control activo, de grupos paralelos, multinacional, multicéntrico, en pacientes con hipercolesterolemia primaria y riesgo CV moderado, alto o muy alto que son intolerantes a las estatinas. El diseño del estudio se ilustra en la Figura 7.

5 La intolerancia a las estatinas se definió como la incapacidad para tolerar al menos 2 estatinas previas a la dosis diaria autorizada más baja debido a síntomas relacionados con los músculos esqueléticos, distintos de los debidos a esfuerzo o traumatismo, tal como dolor, debilidad, o dolor de tipo cólico, que empezaron o aumentaron durante la terapia con estatinas y se detuvieron cuando se interrumpió la terapia con estatinas.

El estudio consistió en 5 periodos: selección; lavado; preinclusión con placebo de simple ciego; tratamiento de doble ciego; y seguimiento.

#### (1) Selección:

10

15

30

35

40

La selección duró aproximadamente 1 semana (Semana -7). Se les solicitó a los pacientes que mantuvieran una dieta estable equivalente a la dieta de Cambios Terapéuticos en el Estilo de Vida (TLC) del Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP-ATP III) durante toda la duración del estudio, empezando en la selección hasta la visita de final de tratamiento.

#### (2) Lavado:

Los pacientes que cumplieron todos los criterios de inclusión y exclusión de la selección entraron en un periodo de lavado de 2 semanas (Semana -6 a Semana -4) de EZE, estatinas (para pacientes que tomaban una dosis o régimen no autorizado) y arroz de levadura roja.

#### 20 (3) Preinclusión con placebo de simple ciego:

Tras el lavado, los pacientes entraron en un periodo de preinclusión con placebo de 4 semanas (Semana -4 a Semana 0), de simple ciego (solo los pacientes están cegados al tratamiento) que consistió en 4 semanas de tratamiento con placebo para mAb316P Q2W (un total de 2 dosis) más un placebo para cápsula de EZE/atorvastatina PO QD (28 dosis).

Solo los pacientes que no tuvieron AEs relacionados con los músculos esqueléticos, distintos de los debidos a esfuerzo o traumatismo, durante el periodo de preinclusión de placebo de simple ciego fueron elegibles para entrar en el periodo de tratamiento de doble ciego, descrito a continuación.

Se les informó a los pacientes que tuvieron AEs relacionados con los músculos esqueléticos, distintos de los debidos a esfuerzo o traumatismo durante el periodo de preinclusión de placebo de simple ciego de 4 semanas que pararan la terapia y fueron retirados del estudio.

En la primera visita programada del periodo de preinclusión con placebo de simple ciego (Semana -4), los pacientes (o sus cuidadores) fueron instruidos sobre la administración del fármaco del estudio usando un autoinyector de simple ciego que contenía placebo para mAb316P y se auto-administraron la primera dosis (en la Semana -4) en la clínica. La segunda dosis del fármaco del estudio durante el periodo de preinclusión con placebo de simple ciego (en la Semana -2) se administró por el paciente o cuidador en casa usando el segundo autoinyector de simple ciego de placebo para mAb316P. Los pacientes tomaron un placebo para cápsula de EZE/atorvastatina QD durante 4 semanas durante el periodo de preinclusión con placebo.

### (4) Tratamiento de doble ciego:

Se aleatorizaron los pacientes que cumplen todos los criterios de inclusión, y que no cumplen ninguno de los criterios de exclusión, que incluyen haber tenido AEs relacionados con los músculos esqueléticos, distintos de los debidos a esfuerzo o traumatismo, durante el periodo de preinclusión con placebo de simple ciego de 4 semanas, para recibir cualquiera de: (A) mAb316P 75 mg SC Q2W + un placebo para EZE/atorvastatina PO QD; o (B) EZE 10 mg PO QD + placebo para mAb316P SC Q2W; o (C) Atorvastatina 20 mg PO QD + placebo para mAb316P SC Q2W.

Ezetimiba 10 mg y atorvastatina 20 mg estuvieron sobre-encapsulados en una cápsula para hacer coincidir el placebo para EZE/atorvastatina para garantizar el doble ciego. Ezetimiba 10 mg, atorvastatina 20 mg y placebo fueron indistinguibles entre sí.

La aleatorización se estratificó por antecedentes de infarto de miocardio (IM) documentado o accidente cerebrovascular isquémico, (Sí/No).

La primera inyección durante el periodo de tratamiento de doble ciego se administró en el sitio en el día de aleatorización (Semana 0 [día 1] - Visita 4) y tan pronto como fue posible después de la llamada al sistema interactivo de respuesta de voz (IVRS)/ sistema interactivo de respuesta web (IWRS) para la aleatorización en el estudio. Se administraron inyecciones posteriores por el paciente (auto-inyección) o un cuidador designado (cónyuge, pariente, etc.) en una localización preferida por el paciente (por ejemplo, casa o lugar de trabajo). Se les permitió a los pacientes elegir volver al sitio Q2W para que la inyección fuera administrada por el personal del estudio. Los pacientes aleatorizados a mAb316P recibieron 75 mg del fármaco del estudio desde la aleatorización hasta la Semana 12 (semanas 0, 2, 4, 6, 8 y 10).

- 5 En la visita de la Semana 12, basándose en su C-LDL en la Semana 8 y el riesgo CV en el nivel inicial (definido en cualquier parte en el presente documento), los pacientes o continuaron recibiendo mAb316P 75 mg Q2W o ajustaron de forma ascendente sus dosis, del siguiente modo:
  - (A) Pacientes con riesgo CV muy alto, en un modo cegado, o: (i) continuaron recibiendo mAb316P 75 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22, si su C-LDL en la Semana 8 fue <70 mg/dL (1,81 mmol/L); o (ii) recibieron una dosis que se ajusta de forma ascendente hasta mAb316P 150 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22, si su C-LDL en la Semana 8 fue ≥70 mg/dL (1,81 mmol/L).
  - (B) Pacientes con riesgo CV alto o moderado, en un modo cegado, o: (i) continuaron recibiendo mAb316P 75 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22, si su C-LDL en la Semana 8 fue <100 mg/dL (2,59 mmol/L), o (ii) recibieron una dosis que se ajustó de manera ascendente hasta mAb316P 150 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22, si su C-LDL en la Semana 8 fue ≥100 mg/dL (2,59 mmol/L).

#### (5) Seguimiento:

10

15

30

35

40

45

50

Los pacientes fueron seguidos durante un periodo de 8 semanas después del final del periodo de tratamiento de doble ciego, o después de la interrupción prematura del tratamiento del estudio.

#### Durante todo el estudio:

Los pacientes fueron instruidos para seguir tomando su terapia modificadora de lípidos (TML) de fondo durante todo el estudio (con la excepción de EZE, estatinas, arroz de levadura roja y fibratos [distintos de fenofibrato]).

Las TMLs permitidas (si fue aplicable) fueron estables (incluyendo dosis) desde la selección hasta la visita de final de tratamiento, excepto circunstancias excepcionales por las que las preocupaciones principales (que incluyen, pero no se limitan a, alerta de TG informada por el laboratorio central) garantizaran dichos cambios, según el criterio del investigador.

La duración máxima del estudio por paciente fue hasta aproximadamente 39 semanas (9 meses): hasta 1 semana para la selección; 2 semanas para el lavado; 4 semanas para la preinclusión con placebo de simple ciego; 24 semanas para tratamiento de doble ciego; y 8 semanas de seguimiento. El final de estudio se definió como la última visita al sitio del paciente, como se programó por el protocolo.

### SELECCIÓN DE PACIENTES

Se seleccionó un número suficiente de pacientes, y se incluyeron en el periodo de preinclusión con placebo de simple ciego para garantizar que al menos 250 pacientes (100:100:50; mAb316P:EZE:atorvastatina) fueron elegibles para ser aleatorizados en el periodo de tratamiento de doble ciego.

Población del estudio: La población del estudio consistió en pacientes con hipercolesterolemia (HFhe o H no F) y riesgo CV moderado, alto o muy alto que fueron intolerantes a las estatinas. El riesgo CV moderado se definió como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de ECV mortal ≥1 y <5 % (ESC/EAS 2011). Riesgo CV alto se definió como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de ECV mortal ≥5 % (ESC/EAS 2011), enfermedad renal crónica (ERC) moderada, diabetes mellitus de tipo 1 o tipo 2 sin daño de órganos afectados, o HFhe. Riesgo CV muy alto se definió como antecedentes de ECC documentada, accidente cerebrovascular isquémico, enfermedad arterial periférica (EAP), ataque isquémico transitorio (AIT), aneurisma de la aorta abdominal, oclusión de la arteria carótida >50 % sin síntomas, endarterectomía carotídea o procedimiento de prótesis endovascular de la arteria renal, diabetes mellitus de tipo 1 o tipo 2 con daño de órganos afectados.

Antecedentes documentada de ECC se definió como la aparición de uno o más de los siguientes: (i) IM agudo; (ii) IM silencioso; (iii) Angina inestable; (iv) Procedimiento de revascularización coronaria (por ejemplo, intervención coronaria percutánea [ICP] o cirugía de injerto de derivación de las arterias coronarias [IDAC]); y/o (v) ECC clínicamente significativa diagnosticada por prueba invasiva o no invasiva (tal como angiografía coronaria, ensayo de esfuerzo usando cinta de correr, ecocardiografía de esfuerzo o imágenes de resonancia magnética nuclear).

<u>Criterios de inclusión:</u> Para ser elegible para el presente estudio, los pacientes deben tener hipercolesterolemia primaria (HFhe o H no F) con riesgo cardiovascular moderado, alto o muy alto, y antecedentes de intolerancia a las estatinas.

El diagnóstico de HFhe se hizo o por genotipificación o por criterios clínicos. Para pacientes que no fueron genotipificados, se requirió que el diagnóstico clínica fuera un diagnóstico cierto/determinado y se podría basar en o los criterios

de Simon Broome o los criterios de la OMS/Dutch Lipid Network. El riesgo CV moderado, alto y muy alto fue como se ha definido anteriormente.

Definición de intolerancia a las estatinas: Incapacidad para tolerar al menos 2 estatinas previas a la dosis diaria autorizada más baja debido a síntomas relacionados con los músculos esqueléticos, distintos de los debidos a esfuerzo o traumatismo, tal como dolor, debilidad, o dolor de tipo cólico, que empezaron o aumentaron durante la terapia con estatinas y se detuvieron cuando se interrumpió la terapia con estatinas.

<u>Criterios de exclusión:</u> Se excluyeron del estudio los posibles pacientes que cumplieron cualquiera de los siguientes criterios (subcategorizados en los puntos A, B y C, a continuación):

### A. Criterios de exclusión relacionados con la metodología del estudio:

5

10

15

20

25

30

35

- C-LDL en suero calculado <70 mg/dL (1,81 mmol/L) y riesgo CV muy alto (como se define en cualquier parte en el presente documento) en la visita de selección (Semana -7);
  - 2. C-LDL en suero calculado <100 mg/dL (2,59 mmol/L) y riesgo CV alto o moderado (como se define en cualquier parte en el presente documento) en la visita de selección (Semana -7);
  - 3. Una PUNTUACIÓN de riesgo de 10 años de ECV mortal <1 % en la visita de selección (Semana -7);
  - 4. Uso de una estatina que es o está por encima de la dosis diaria autorizada más baja en el plazo de 4 semanas antes de la visita de selección (Semana -7);
    - 5. Tuvieron acontecimientos adversos relacionados con los músculos esqueléticos (AEs), distintos de los debidos a esfuerzo o traumatismo durante la preinclusión con placebo de simple ciego de 4 semanas;
  - 6. Tuvieron AE(s) relacionados con los músculos esqueléticos, distintos de los debidos a esfuerzo o traumatismo en el momento de la selección (Semana -7), comienzo del periodo de preinclusión con placebo de simple ciego (Semana -4), o día 1/semana 0;
  - 7. No en una dosis estable de terapia modificadora de lípidos (TML) durante al menos 4 semanas y/o fenofibrato durante al menos 6 semanas, según sea aplicable, antes de la visita de selección (Semana -7) o desde la selección hasta la aleatorización, según sea aplicable;
  - 8. Uso de fibratos, distintos de fenofibrato, en el plazo de 6 semanas desde la visita de selección (Semana -7);
  - 9. Uso de nutracéuticos o terapias sin receta médica conocidas por afectar los lípidos, a una dosis/cantidad que no ha sido estable durante al menos 4 semanas antes de la visita de selección (Semana -7) o entre las visitas de selección y de aleatorización;
  - 10. Uso de arroz de levadura roja desde la visita de selección (Semana -7) hasta la visita de final de estudio (Semana 32);
  - 11. Uso de analgésicos para los que no está planeado que la dosis sea estable desde la visita de selección hasta la visita de final de estudio (Semana 32);
  - 12. Diagnóstico de fibromialgia;
  - 13. Antecedentes de dolor neuropático grave;
  - 14. Antecedentes de enfermedad reumatológica asociada a síntomas que pueden ser confundidos con síntomas de intolerancia a las estatinas (por ejemplo, artritis reumatoide);
  - 15. Antecedentes de mialgia o miopatía que empezó o aumentó durante el tratamiento con TML, distinta de la terapia con estatinas, y se detuvo cuando se interrumpió la TML;
  - 16. Antecedentes conocidos de trastorno convulsivo;
- 40 17. Antecedentes de cirugía de trasplante previa;
  - 18. Uso de medicaciones que requieren administración intramuscular, o inyecciones intramusculares planeadas durante el estudio;
  - 19. Antecedentes conocidos de miopatía, distinta de miopatía asociada a estatinas;
  - 20. Antecedentes de rabdomiólisis (definida como evidencia de daño al órgano con creatina cinasa >10.000 UI/L);
  - 21. Presencia de cualquier enfermedad endocrina no controlada clínicamente significativa conocida por influir

en los lípidos o lipoproteínas en suero. [Nota: Se permitió que se incluyeran pacientes con terapia de reemplazo tiroideo si la dosificación de tiroxina era estable durante al menos 12 semanas antes de la selección y el nivel de hormona estimulante de la tiroides (TSH) estaba dentro del intervalo normal del laboratorio central en la visita de selección (Semana -7)];

- 5 22. Antecedentes de cirugía bariátrica en el plazo de 12 meses antes de la visita de selección (Semana -7);
  - 23. Peso inestable (variación >5 kg) en el plazo de 2 meses antes de la visita de selección (Semana -7);
  - 24. Antecedentes conocidos de pérdida de función de PCSK9 (por ejemplo, mutación genética o variación de secuencias);
  - 25. Antecedentes conocidos de FH homocigótica;
- 10 26. Diabetes mellitus recién diagnosticada (en el plazo de 3 meses antes de la visita de aleatorización [Semana 0/Día 1]) o diabetes mal controlada (A1c en hemoglobina [HbA1c] >8.5 %);
  - 27. Uso de corticosteroides sistémicos, a menos que se usen como terapia de sustitución para enfermedad hipofisaria-suprarrenal con un régimen estable durante al menos 6 semanas antes de la aleatorización. Nota: Las terapias esteroideas tópicas, intrarticulares, nasales, inhaladas y oftálmicas no se consideraron "sistémicas" y se permitieron;
  - 28. Uso de terapia de estrógenos o testosterona a menos que el régimen hubiera sido estable en las 6 semanas antes de la visita de selección (Semana -7), y sin planes de cambiar el régimen durante el estudio;
  - 29. Antecedentes de recibir tratamiento de plasmaféresis en el plazo de 2 meses antes de la visita de selección (Semana -7), o planes de recibir plasmaféresis durante el estudio;
  - 30. Tensión arterial sistólica >160 mm Hg o tensión arterial diastólica >100 mm Hg en la visita de selección (Semana -7) o tiempo de aleatorización (Semana 0/Día 1);
  - 31. Antecedentes de un infarto de miocardio (IM), angina inestable que conduce a hospitalización, cirugía de injerto de derivación de las arterias coronarias (IDAC), intervención coronaria percutánea (ICP), arritmia cardíaca no controlada, cirugía carotídea o prótesis endovascular, accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio, revascularización carotídea, procedimiento endovascular o intervención quirúrgica para enfermedad vascular periférica en el plazo de 3 meses antes de la visita de selección (Semana -7);
  - 32. Pacientes que participan actualmente en un programa de rehabilitación o de ejercicios
  - 33. Antecedentes de insuficiencia cardíaca de clase III o IV de la Asociación del Corazón de Nueva York en el plazo de los últimos 12 meses;
  - 34. Edad <18 años o mayoría de edad legal en la visita de selección (Semana -7), cualquiera que sea mayor;
  - 35. No previamente informados sobre una dieta baja en colesterol antes de la visita de selección (Semana -7);
  - 36. Antecedentes conocidos de un accidente cerebrovascular hemorrágico;
  - 37. Antecedentes de cáncer en el plazo de los últimos 5 años, excepto cáncer de piel de células basales adecuadamente tratado, cáncer de piel de células escamosas, o cáncer de cuello uterino in situ;
- 35 38. Antecedentes conocidos de positividad a VIH;
  - 39. Uso de cualquier fármaco en investigación activa en el plazo de 1 mes o 5 semividas, cualquiera que sea más largo;
  - 40. Participación previa en cualquier ensayo clínico de mAb316P (alirocumab) o cualquier otro anticuerpo monoclonal anti-PCSK9:
- 40 41. Condiciones/situaciones tales como: (A) Cualquier anomalía clínicamente significativa identificada en el momento de la selección que, a criterio del investigador o cualquier investigador colaborador, impediría la terminación segura del estudio o restringiría la valoración de criterios de evaluación; por ejemplo, enfermedades sistémicas importantes, pacientes con una esperanza de vida corta; (B) Considerados por el investigador o cualquier investigador colaborador como inapropiados para este estudio por cualquier motivo, por ejemplo: (i) Considerados incapaces de cumplir requisitos específicos del protocolo, tales como visitas programadas; (ii) Considerados incapaces de administrar o tolerar invecciones a largo plazo según el paciente o el investigador; (iii) Investigador o cualquier investigador colaborador, farmacéutico, coordinador del estudio, otro personal del estudio o pariente de los mismos directamente implicado en la realización del protocolo, etc.; (iv) Presencia de cualquier otra condición (por ejemplo, geográfica o social), tanto actual como anticipada, que el investigador 50 sienta que restringiría o limitaría la participación del paciente durante la duración del estudio;

45

15

20

25

- 42. Datos de laboratorio durante el periodo de selección (que no incluyen laboratorios de aleatorización): (A) Prueba positiva para antígeno de superficie de la hepatitis B y/o anticuerpo de la hepatitis C; (B) Positivo de beta-hCG en suero o prueba del embarazo en orina en mujeres en potencial de procrear; (C) TG >400 mg/dL (>3,95 mmol/L) (se permite 1 laboratorio de repetición); (D) eGFR <30 mL/min/1,73 m2 según la ecuación del Estudio de MDRD de 4 variables (calculado por el laboratorio central); (E) Alanina aminotransferasa (ALT) o aspartato aminotransferasa (AST) >3 x límite superior de la normalidad (ULN) (se permite 1 laboratorio de repetición); (F) CPK >2 x ULN; (G) TSH < límite inferior de la normalidad (LLN) o > ULN del laboratorio central; (H) Vitamina D3 <20 ng/mL [50 nmol/L];
- B. Criterios de exclusión relacionados con el comparador activo u otros fármacos del estudio:
- 43. Todas las contraindicaciones a los otros fármacos del estudio (atorvastatina y EZE) o advertencias/precauciones de uso (cuando convenga) como se presenta en el etiquetado nacional de productos respectivo;
  - C. Criterios de exclusión relacionados con el agente activo (mAb316P):
    - 44. Hipersensibilidad conocida a terapéuticos de anticuerpo monoclonal;
    - 45. Muieres embarazadas o lactantes:
  - 46. Mujeres en potencial de procrear sin método anticonceptivo eficaz de control de la natalidad y/o que no están dispuestas o son incapaces de hacerse la prueba del embarazo.

Los pacientes que interrumpieron prematuramente el estudio no fueron sustituidos.

#### TRATAMIENTOS DEL ESTUDIO

5

10

15

- El tratamiento del estudio fue una única inyección subcutánea (SC) de 1 mL para una dosis de 75 o 150 mg de mAb316P o placebo proporcionado en un autoinyector, administrado en el abdomen, el muslo, o área externa del brazo superior. Durante el periodo de tratamiento de doble ciego (Semana 0 a 24), se aleatorizaron pacientes elegibles para recibir: (1) mAb316P 75 mg SC una vez cada dos semanas (Q2W) + placebo para ezetimiba (EZE)/atorvastatina por vía oral una vez al día (PO QD); o (2) EZE 10 mg PO QD + placebo para mAb316P SC Q2W; o (3) Atorvastatina 20 mg PO QD + placebo para mAb316P SC Q2W.
- Ezetimiba 10 mg y atorvastatina 20 mg estuvieron sobre-encapsulados en una cápsula para hacer coincidir el placebo para EZE/atorvastatina para garantizar el doble ciego. Ezetimiba 10 mg, atorvastatina 20 mg y placebo fueron indistinguibles entre sí. El fármaco del estudio se administró por inyección SC Q2W, empezando en la Semana 0 y continuando hasta la última inyección (Semana 22), 2 semanas antes del final del periodo de tratamiento de doble ciego.
- La primera inyección del fármaco del estudio de doble ciego se administró en el sitio clínico, tan pronto como fuera posible después de que el paciente se aleatorizara dentro del estudio. El paciente se observó en el sitio clínico durante 30 minutos tras la primera inyección. El paciente/cuidador administró inyecciones posteriores fuera de la clínica según el programa de administración. En los días donde la visita a la clínica del estudio coincidió con la administración, la dosis de fármaco del estudio se administró después de que se hubieran realizado todas las evaluaciones del estudio y se hubieran recogido todas las muestras de laboratorio.
- El fármaco del estudio fue idealmente administrado Q2W SC a aproximadamente la misma hora del día; sin embargo, se consideró aceptable tener un periodo de ventana de ± 3 días. La hora del día se basó en la preferencia del paciente.
  - En el caso de que una inyección se retrasara durante más de 7 días o faltara completamente, el paciente fue instruido para volver al programa original de administración de fármaco del estudio sin administrar inyecciones adicionales. Si el retraso fue inferior o igual a 7 días desde la fecha incumplida, el paciente fue instruido para administrar la inyección retrasada y luego reanudar el programa de administración original. Se les permitió a los pacientes elegir que el personal del sitio del estudio les administrara las inyecciones y volver al sitio Q2W para sus inyecciones. El placebo para EZE/atorvastatina, EZE 10 mg o cápsulas de atorvastatina 20 mg se tomó por vía oral una vez al día. Las instrucciones detalladas para el transporte, almacenamiento, preparación y administración del fármaco del estudio se proporcionarán por el sitio al paciente/cuidador.
- 45 Modificación de dosis ("opción de ajuste ascendente de la dosis")
  - En la visita de la Semana 12, basándose en su C-LDL en la Semana 8 y el riesgo CV en el nivel inicial (definido en cualquier parte en el presente documento), los pacientes o continuaron recibiendo mAb316P 75 mg Q2W o ajustaron de forma ascendente sus dosis, del siguiente modo:
- (A) Pacientes con riesgo CV muy alto, en un modo cegado, o: (1) continuaron recibiendo mAb316P 75 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22 si su C-LDL en la Semana 8 fue <70 mg/dL (1,81 mmol/L); o (2) recibieron una dosis que fue ajustada de forma ascendente hasta mAb316P 150 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22 si su C-LDL en la Semana 8 fue ≥70 mg/dL (1,81 mmol/L).

(B) Pacientes con riesgo CV alto o moderado, en un modo cegado, o: (1) continuaron recibiendo mAb316P 75 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22, si su C-LDL en la Semana 8 fue <100 mg/dL (2,59 mmol/L); o (2) recibieron una dosis que fue ajustada de forma ascendente hasta mAb316P 150 mg Q2W desde la Semana 12 en adelante hasta la última inyección en la Semana 22 si su C-LDL en la Semana 8 fue ≥100 mg/dL (2,59 mmol/L).

#### Entrenamiento de inyección

5

10

15

Durante la primera visita programada del periodo de preinclusión con placebo de simple ciego (en la Semana -4), los pacientes fueron instruidos sobre la administración del fármaco del estudio usando un autoinyector de simple ciego que contenía placebo para mAb316P y se auto-administró la primera dosis en la clínica. La segunda dosis de fármaco del estudio durante el periodo de preinclusión con placebo de simple ciego (en la Semana -2) fue administrada por el paciente o cuidador en casa usando el segundo autoinyector de simple ciego de placebo para mAb316P.

La primera inyección durante el periodo de tratamiento de doble ciego se administró en el sitio en el día de la aleatorización (Semana 0 [día 1] - visita 4) y tan pronto como fuera posible después de la aleatorización en el estudio, usando un autoinyector del kit al que se aleatorizaron los pacientes. Se administraron inyecciones posteriores por el paciente (auto-inyección) o por un cuidador designado, o los pacientes tuvieron opción de volver al sitio Q2W para que la inyección fuera administrada por el personal del estudio. Todos los pacientes y cuidadores que planearon inyectarse el fármaco del estudio fueron entrenados por el personal del estudio antes de administrar las inyecciones.

#### Tratamiento en investigación

Se suministró medicamento de mAb316P estéril a una concentración de 75 mg/mL o 150 mg/mL en histidina, pH 6,0, polisorbato 20 y sacarosa en un autoinyector. Se suministró placebo equivalente a mAb316P en la misma formulación que mAb316P, sin la adición de proteína, en un autoinyector. Se sobre-encapsularon ezetimiba 10 mg y atorvastatina 20 mg en una cápsula para igualar el placebo para EZE/atorvastatina para garantizar el doble ciego. Ezetimiba 10 mg, atorvastatina 20 mg, y placebo fueron indistinguible entre sí.

#### Tratamiento de fondo

Se requirió que los pacientes estuvieran en la TML estable durante al menos 4 semanas (6 semanas para fenofibrato) antes de la visita de selección (Semana -7). Los pacientes fueron instruidos para continuar tomando su TML de fondo durante todo el estudio (distinto de EZE, estatinas, arroz de levadura roja y fibratos [distinto de fenofibrato]). Se cegaron los valores del perfil de lípidos de las muestras obtenidas después de la aleatorización. No se hizo cambio en la TML de fondo del paciente desde la visita de selección (Semana -7) hasta la visita de final de estudio (Semana 32). No ocurrió ajuste de dosis, interrupción o inicio de otra TML (incluyendo TML prohibida) durante este tiempo, excepto circunstancias excepcionales por lo que las principales preocupaciones garantizaron dichos cambios, por el criterio del investigador.

En resumen, la TML de fondo no se modificó desde la selección hasta la visita de seguimiento. Otros tratamientos de fondo permitidos en el estudio incluyeron: secuestrantes de la unión a ácidos nucleicos (tales como colestiramina, colestipol, colesevelam); ácido nicotínico; fenofibrato; y ácidos grasos omega-3 (≥1000 mg al día).

### Aleatorización

Los pacientes se aleatorizaron para recibir mAb316P, EZE, o atorvastatina durante el periodo de tratamiento del estudio de doble ciego usando una relación 2:2:1, con aleatorización por bloques permutados. La aleatorización se estratificó según antecedentes de IM documentado o accidente cerebrovascular isquémico [Sí/No].

## 40 Cegado

35

<u>Inclusión de placebo de simple ciego</u>. Para la preinclusión con placebo de simple ciego y según el diseño de simple ciego, solo los pacientes del estudio siguieron ciegos al tratamiento; los investigadores no se cegaron al tratamiento del estudio. El placebo para mAb316P se suministró en autoinyectores. Se suministró placebo oral para EZE/atorvastatina en una cápsula para conservar el cegado.

- Periodo de tratamiento de doble ciego. Para el periodo de tratamiento de doble ciego, se proporcionaron mAb316P y placebo para mAb316P en autoinyectores idénticamente correspondientes, y se envasaron y se etiquetaron de forma idéntica para conservar el cegado. Ezetimiba y atorvastatina fueron sobre-encapsulados en una cápsula para igualar el placebo para EZE/atorvastatina para garantizar el doble ciego. Ezetimiba 10 mg, atorvastatina 20 mg y placebo fueron indistinguibles entre sí.
- Cada kit de tratamiento de doble ciego se etiquetó con un número, que se generó por un programa informático. Los números del kit de tratamiento se obtuvieron por el investigador en el momento de la aleatorización de pacientes y las posteriores visitas del paciente programadas por un sistema de asignación de tratamiento centralizado que estuvo disponible 24 horas al día, 7 días a la semana.

Según el diseño de doble ciego, los pacientes del estudio, investigadores y personal del sitio del estudio siguieron

cegados al tratamiento del estudio y no tuvieron acceso a la aleatorización (códigos de tratamiento), excepto en circunstancias específicamente definidas.

Los valores de los parámetros de lípidos de las muestras de sangre obtenidas después de la visita de aleatorización, analizadas por el laboratorio central, no fueron comunicados a los sitios de manera que no fueran capaces de deducir el grupo de tratamiento de sus pacientes basándose en el nivel de C-LDL obtenido. El equipo de operaciones del patrocinador no tuvo acceso a los parámetros de lípidos después de la aleatorización y hasta después de que ocurrió el cierre de la base de datos final. Los sitios y el equipo de operaciones del patrocinador se cegaron al ajuste ascendente de la dosis desde 75 mg hasta 150 mg, en el caso de que un paciente cumpliera los criterios para el ajuste ascendente de la dosis. Se usaron los kits de fármacos del estudio cegados codificados con un sistema de numeración de la medicación. Para mantener el cegado, no estuvieron accesibles para los individuos las listas que conectan estos códigos con los números de lotes de productos implicados en la realización del estudio.

No se comunicaron los resultados de anticuerpos anti-fármaco (ADA) a los sitios y el equipo de operaciones del patrocinador no tuvo acceso a los resultados asociados a la identificación de pacientes hasta después del cierre final de la base de datos. De los pacientes que tuvieron títulos en 240 o superiores para anticuerpos anti-mAb316P en la visita de seguimiento se obtuvieron muestra(s) de anticuerpos adicionales 6 a 12 meses después de la última dosis, y a partir de aquí, aproximadamente cada 3 a 6 meses, hasta que el título volvió a ser bajo 240. Para mantener el cegado del estudio, las solicitudes de recogida de muestras de los anticuerpos anti-mAb316P después del estudio se hicieron en pacientes con títulos inferiores a 240 en la visita de seguimiento.

#### Medicaciones simultáneas

5

10

15

35

40

45

55

- Si se considera necesario para el bienestar del paciente y es poco probable que interfiera con el fármaco del estudio, se permitió administrar medicaciones simultáneas (distintas de las que están prohibidas durante el estudio) a criterio del investigador, en una dosis estable (cuando fuera posible). Se permitió cualquier otra medicación (medicaciones) simultáneas y se registraron según conviniera.
- Se permitieron productos nutracéuticos o terapias sin receta médica que pueden afectar los lípidos solo si habían sido usado en una dosis estable durante al menos 4 semanas antes de la visita de selección (Semana -7) y se mantuvieron desde la visita de selección hasta el final de estudio (Semana 32). Los ejemplos de dichos productos nutracéuticos o terapias sin receta médica incluyen: ácidos grasos omega-3 a dosis <1000 mg, estanoles vegetales tales como los encontrados en Benecol, aceite de semilla de lino y psilio.
- Las medicaciones simultáneas prohibidas de la visita de selección inicial hasta la visita de seguimiento incluyeron las siguientes: estatinas; fibratos, distintos de fenofibrato; EZE; y productos de arroz de levadura roja.

#### CRITERIOS DE VALORACIÓN DEL ESTUDIO

Las características del nivel inicial incluyeron demografía estándar (por ejemplo, edad, raza, peso, altura, etc.), características de la enfermedad que incluyen antecedentes personales, y antecedentes de medicación para cada paciente. La información histórica referente a las estatinas, dosis y eventos relacionados con músculos esqueléticos reales que condujeron al diagnóstico de "intolerancia a las estatinas" se recogieron como parte de los antecedentes médicos/quirúrgicos.

<u>Criterio de valoración primario de eficacia:</u> El criterio primario de valoración de eficacia fue el cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 24, que se definió como: 100 x (Valor de C-LDL calculado en la Semana 24 - Valor de C-LDL calculado en el nivel inicial) / Valor de C-LDL calculado en el nivel inicial. Se necesitó un valor de C-LDL en el nivel inicial para cada paciente ya que el valor de C-LDL calculado en el nivel inicial fue el último nivel de C-LDL obtenido antes de la primera inyección del fármaco del estudio de doble ciego.

El C-LDL calculado en la Semana 24 fue el nivel de C-LDL obtenido dentro de la ventana de análisis de la Semana 24 y durante el principal periodo de eficacia. El principal periodo de eficacia se definió como el tiempo desde la primera inyección del fármaco del estudio de doble ciego hasta 21 días después de la última inyección del fármaco del estudio de doble ciego o hasta el límite superior de la ventana de análisis de la Semana 24, lo que ocurra primero.

Se usaron todos los valores de C-LDL calculados (programados o no programados, en ayunas o no en ayunas) para proporcionar un valor para el criterio primario de valoración de eficacia si es apropiado según la definición anterior. La ventana de análisis usada para asignar un momento de tiempo a una medición se definió en un plan de análisis estadístico (SAP).

- 50 <u>Criterios secundarios de valoración de la eficacia</u>: Los criterios secundarios de valoración del presente estudio incluyeron los siguientes:
  - (1) El cambio en porcentaje en C-LDL calculado desde el nivel inicial hasta la Semana 12: el C-LDL calculado en la Semana 12 fue el nivel de C-LDL obtenido dentro de la ventana de análisis de la Semana 12 y durante el periodo de eficacia de 12 semanas. El periodo de eficacia de 12 semanas se define como el tiempo desde la primera inyección de fármaco del estudio de doble ciego hasta el contacto de la visita 6 o hasta 21 días después

de la última inyección de doble ciego del fármaco del estudio, lo que ocurra primero.

- (2) El cambio en porcentaje en ApoB desde el nivel inicial hasta la Semana 24.
- (3) El cambio en porcentaje en C no HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24.
- (4) El cambio en porcentaje en C total desde el nivel inicial hasta la Semana 24.
- (5) El cambio en porcentaje en ApoB desde el nivel inicial hasta la Semana 12.

5

10

15

25

- (6) El cambio en porcentaje en C no HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
- (7) El cambio en porcentaje en C total desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
- (8) La proporción de pacientes que alcanzan el objetivo de C-LDL en la Semana 24; por ejemplo, C-LDL <70 mg/dL (1,81 mmol/L) en caso de riesgo CV muy alto, o C-LDL <100 mg/dL (2,59 mmol/L) para pacientes con riesgo CV moderado o alto, definido como: (número de pacientes cuyo valor de C-LDL calculado en la Semana 24 alcanza el objetivo de C-LDL/número de pacientes en la población por intención de tratar modificada [IDTm])\*100, usando la definición y las reglas usadas para el criterio primario de valoración.
- (9) La proporción de pacientes que alcanzan C-LDL <70 mg/dL (1,81 mmol/L) en la Semana 24.
- (10) El cambio en porcentaje en Lp(a) desde el nivel inicial hasta la Semana 24.
- (11) El cambio en porcentaje en C-HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 24.
  - (12) El cambio en porcentaje en C-HDL desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
  - (13) El cambio en porcentaje en Lp(a) desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
  - (14) El cambio en porcentaje en TG en ayunas desde el nivel inicial hasta la Semana 24.
  - (15) El cambio en porcentaje en TG en ayunas desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
- 20 (16) El cambio en porcentaje en ApoA-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 24.
  - (17) El cambio en porcentaje en ApoA-1 desde el nivel inicial hasta la Semana 12.
  - (18) La proporción de pacientes que alcanzan el objetivo de C-LDL en la Semana 12; por ejemplo, C-LDL <70 mg/dL (1,81 mmol/L) en caso de riesgo CV muy alto, y C-LDL <100 mg/dL (2,59 mmol/L) en caso de riesgo CV moderado o alto, definido como: (número de pacientes cuyo valor de C-LDL calculado en la Semana 12 alcanza el objetivo de C-LDL/número de pacientes en la población IDTm)\*100.
  - (19) La proporción de pacientes que alcanzan C-LDL <100 mg/dL (2,59 mmol/L) en la Semana 24.
  - (20) La proporción de pacientes que alcanzan C-LDL <100 mg/dL (2,59 mmol/L) en la Semana 12.
  - (21) La proporción de pacientes que alcanzan C-LDL <70 mg/dL (1,81 mmol/L) en la Semana 12.
  - (22) El cambio absoluto en C-LDL calculado (mg/dL y mmol/L) desde el nivel inicial hasta las semanas 12 y 24.
- 30 (23) El cambio en relación ApoB/ApoA-1 desde el nivel inicial hasta las semanas 12 y 24.
  - (24) La proporción de pacientes con ApoB <80 mg/dL (0,8 mmol/L) en las Semanas 12 y 24.
  - (25) La proporción de pacientes con C no HDL <100 mg/dL en las Semanas 12 y 24.
  - (26) La proporción de pacientes con C-LDL calculado <70 mg/dL (1,81 mmol/L) y/o ≥50 % de reducción en C-LDL calculado (si C-LDL calculado ≥70 mg/dL [1,81 mmol/L]) en las Semanas 12 y 24.
- Otros criterios de valoración: (1) Estado de anticuerpos anti-fármaco anti-mAb316P (positivos/negativos) y títulos evaluados durante todo el estudio; (2) El cambio en porcentaje en proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP) desde el nivel inicial hasta la Semana 24; (3) El cambio absoluto en HbA1c (%) desde el nivel inicial hasta la Semana 24.

#### PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Se recogieron todas las muestras de laboratorio antes de administrar la dosis de fármaco del estudio. Se recogieron muestras de sangre para paneles de lípidos por la mañana, en ayunas (es decir, durante la noche, al menos un ayuno de 10 horas y abstenerse de fumar) para todas las visitas clínicas. Se recomendó no consumir alcohol en el plazo de 48 horas y no hacer ejercicio físico intenso en el plazo de las 24 horas precedentes al muestreo de sangre. Nota: si el paciente no estaba en ayunas, no se recogió la muestra de sangre y se programó una nueva cita el día después (o

tan pronto como fuera posible a esa fecha) con un recordatorio de que la muestra de sangre debía ser tomada en ayunas (al menos 10 horas).

Se midieron directamente C total, C-HDL, TG, ApoB, ApoA-1 y Lp(a) por un laboratorio central según un programa predeterminado. Se calculó el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad usando la fórmula de Friedewald en todas las visitas (excepto la Semana -15 y la visita de seguimiento). Si los valores de TG superaron 400 mg/dL (4,52 mmol/L), entonces el laboratorio central midió (mediante el método de cuantificación beta) el C-LDL en vez de calcularlo. No se calculó C-HDL restando C-HDL del C total. Se calculó la relación ApoB/ApoA-1.

<u>Panel de lípidos (en ayunas)</u>: Se recogieron muestras de sangre para el panel de lípidos (C total, TG, C-HDL y C-LDL calculado) después de al menos un ayuno de 10 horas en momentos de tiempo previamente especificados.

Panel de lípidos especializado (en ayunas): Se recogieron muestras de sangre para el panel de lípidos especializado (ApoB, ApoA-1, relación ApoB/ApoA-1 y Lp[a]) después de al menos un ayuno de 10 horas en momentos de tiempo previamente especificados.

Tensión arterial y frecuencia cardíaca: Se evaluaron la tensión arterial y la frecuencia cardíaca en momentos de tiempo previamente especificados. La tensión arterial se midió preferentemente en sedestación en condiciones normalizadas, aproximadamente a la misma hora del día, en el mismo brazo, con el mismo aparato (después de que el paciente hubiera descansado cómodamente en sedestación durante al menos 5 minutos). En la primera visita de selección, se midió la tensión arterial en ambos brazos. Se determinó en la primera visita el brazo con la tensión diastólica más alta, y se midió la tensión arterial en ese brazo durante todo el estudio. Se registró el valor más alto en el cuaderno electrónico de recogida de datos (eCRF). Se midió la frecuencia cardíaca en el momento de la medición de la tensión arterial.

20 <u>Examen físico</u>: Se realizó un examen físico exhaustivo y completo, que incluye altura y peso, en la visita de selección (visita 1). Se realizó el examen físico con el peso corporal en momentos de tiempo previamente especificados.

<u>Peso corporal y altura:</u> Se obtuvo el peso corporal con el paciente vistiendo ropa interior y ropa muy ligera y sin zapatos, con una vejiga vacía. Se usó preferentemente la misma báscula durante todo el estudio. Se recomendó el uso de básculas calibradas, si fue posible.

Electrocardiograma: Se realizaron electrocardiogramas antes de que la sangre se extrajera durante las visitas que requirieron extracciones de sangre. Se realizó un ECG estándar de 12 derivaciones en los momentos de tiempo previamente especificados. Los ECGs de 12 derivaciones se realizaron después de al menos 10 minutos de descanso y en decúbito supino. Los electrodos se situaron en el mismo sitio, en la medida de lo posible, para cada trazado de ECG durante todo el estudio. El ECG fue interpretado locamente por el investigador. Se analizó cada trazado en comparación con el trazado registrado en la selección.

<u>Pruebas de laboratorio:</u> Todas las muestras de laboratorio se recogieron antes de que se administrara la dosis de fármaco del estudio. Se recogieron muestras para pruebas de laboratorio en momentos de tiempo previamente especificados y se analizaron por un laboratorio central durante el estudio.

#### **RESULTADOS**

5

15

40

45

50

55

35 Disposición de sujetos

Se seleccionaron un total de 519 pacientes este estudio, de los que 361 (69,6 %) pacientes completaron la selección y entraron en el periodo de preinclusión con placebo de simple ciego. Para los pacientes que entraron en el periodo de preinclusión con placebo de simple ciego, 47 (13 %) pacientes interrumpieron prematuramente el tratamiento con placebo, entre los que 29 (8 %) pacientes lo interrumpieron debido a acontecimientos adversos relacionados con los músculos esqueléticos (es decir, cumplieron los criterios de exclusión especificados). Por tanto, 314 pacientes (87 %) completaron el periodo de preinclusión y fueron elegibles para ser aleatorizados en el periodo de doble ciego.

Se aleatorizaron un total de 314 pacientes (63 al grupo de atorvastatina, 125 al grupo de ezetimiba y 126 al grupo de mAb316P), con un único paciente en el grupo de ezetimiba aleatorizado, pero que no recibió tratamiento del estudio debido a un motivo de "Otros" (problemas para fijar las visitas de protocolo requeridas). Por tanto, la población de seguridad contuvo 313 pacientes. Este paciente no volvió para ninguna evaluación después y, por tanto, no se incluyó en la población IDT. Además, se excluyeron 3 pacientes más de la población IDT, 1 (en el grupo de ezetimiba) debido a la falta de valor de C-LDL en el nivel inicial y los otros 2 (1 en el grupo de atorvastatina y 1 en el grupo de ezetimiba) debido a una falta de evaluaciones post-nivel inicial. Finalmente, se excluyeron 9 pacientes adicionales (2 en el grupo de atorvastatina, 4 en el grupo de ezetimiba y 3 en el grupo de mAb316P) de la población IDTm debido a la falta de evaluaciones post-nivel inicial durante el tratamiento.

En cuanto al corte de datos de la primera etapa, el estado de los pacientes durante el estudio fue del siguiente modo: 220 (70,1 %) pacientes completaron el periodo de tratamiento de doble ciego de 24 semanas: 42 (66,7 %) en el grupo de atorvastatina, 82 (65,6 %) en el grupo de ezetimiba y 96 (76,2 %) en el grupo de ezetimiba.

93 (29,6 %) pacientes interrumpieron prematuramente el tratamiento del estudio antes de completar el periodo de tratamiento de doble ciego: 21 (33,3 %) en el grupo de atorvastatina, 42 (33,6 %) en el grupo de ezetimiba y 30 (23,8 %)

en el grupo de mAb316P. 70 (22,3 %) pacientes terminaron prematuramente el tratamiento del estudio debido a acontecimientos adversos: 16 (25,4 %) en el grupo de atorvastatina, 31 (24,8 %) en el grupo de ezetimiba y 23 (18,3 %) en el grupo de mAb316P. 2 (3,2 %) pacientes terminaron prematuramente el tratamiento del estudio debido a un mal cumplimiento del protocolo, y ambos pacientes estuvieron en el grupo de atorvastatina. 21 (6,7 %) pacientes terminaron prematuramente los tratamientos del estudio debido a diversos otros motivos: 3 (4,8 %) en el grupo de atorvastatina, 11 (8,8 %) en el grupo de ezetimiba y 7 (5,6 %) en el grupo de mAb316P.

281 (89,5 %) pacientes fueron administrados con al menos un tratamiento de mAb316P de etiqueta abierta, y por tanto, están incluidos en la población OLE.

9 (3,2 %) pacientes terminaron el tratamiento del estudio en el periodo de OLE, en cuanto al corte de datos para este KRM, y 8 (2,8 %) de los pacientes terminaron debido a un acontecimiento adverso.

Los 272 (96,8 %) pacientes restantes en la población OLE están en curso y recibiendo tratamiento del estudio en el periodo OLE.

Las características del nivel inicial de los pacientes incluidos en el estudio se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10. Características del nivel inicial

	Atorvastatina	Ezetimiba	mAb316P
	(N = 63)	(N = 125)	(N = 126)
Edad, años, media (DE)	63,4 (8,9)	62,8 (10,1)	64,1 (9,0)
Varones, % (n)	55,6 (35)	53,6 (67)	55,6 (70)
Raza, blanca, % (n)	98,4 (62)	92,8 (116)	92,9 (117)
IMC, kg/m², media (DE)	29,7 (5,4)	28,4 (4,9)	29,6 (6,6)
HFhe, % (n)	12,7 (8)	20,0 (25)	11,1 (14)
Hipertensión	35 (55,6 %)	77 (61,6 %)	85 (67,5 %)
Diabetes de tipo 2	15 (23,8 %)	24 (19,2 %)	36 (28,6 %)
Antecedentes de ECC, % (n)			
Fumador actual, % (n)			
LLT distinta de estatina/ezetimiba	54,0 (34)	44,0 (55)	37,3 (47)

Los parámetros de lípidos en el nivel inicial se resumen en la Tabla 11.

Tabla 11. Lípidos en el nivel inicial

Modio (DE) ma/dl	Atorvastatina	Ezetimiba	mAb316P
Media (DE), mg/dL	(N = 63)	(N = 125)	(N = 126)
C-LDL (calculado)	187,3 (59,5)	193,5 (70,9)	191,1 (72,7)
C no HDL	223,8 (64,8)	229,8 (82,7)	230,0 (80,4)
Аро В	139,1 (34,7)	138,2 (37,4)	141,7 (39,5)
Lp(a), mediana (IQR)	12,0 (6,0 : 50,0)	14,0 (7,0 : 43,0)	18,0 (8,0 : 47,0)

#### Resultados de eficacia

5

10

15

20

25

La preinclusión con placebo fue completada por 87,0 % (314/361) de pacientes. En general, las características demográficas, las características de enfermedad en el nivel inicial, el cuestionario de intolerancia a las estatinas, los parámetros de lípidos de eficacia en el nivel inicial, antecedentes de TML y uso de TML de fondo fueron comparables entre pacientes aleatorizados a cada uno de los tres grupos de tratamiento del estudio. El quince por ciento de los pacientes tuvieron FH heterocigótica. El C-LDL medio en el nivel inicial fue 187,3 mg/dL en el grupo de atorvastatina, 194,2 mg/dL en el grupo de ezetimiba y 191,1 mg/dL en el grupo de mAb316P. En total, 89,5 % de los pacientes aleatorizados entraron en la extensión de etiqueta abierta.

El análisis de los criterios de valoración de eficacia del periodo de doble ciego da como resultado el orden de pruebas jerárquicas estadísticas como se especificó en el protocolo anterior (con los múltiples ensayos controlados al nivel de significancia de 0,05) se expone en la Tabla 12. Se realizaron análisis de eficacia primaria y secundaria clave comparando pacientes tratados con mAb316P con pacientes tratados con ezetimiba. Para aclaración, el análisis IDT se define para pacientes en la población IDT e incluye todas las valoraciones de los criterios de evaluación en una ventana de análisis, independientemente del tratamiento del estado de dosificación del tratamiento del estudio (es decir, incluye evaluaciones post-tratamiento). El análisis durante el tratamiento se define para pacientes en la población IDTm e incluye todas las valoraciones de los criterios de evaluación desde el primer fármaco del estudio de doble ciego (cápsula o inyección, sea cual sea primero) hasta 21 días después de la última inyección del fármaco del estudio de doble ciego, o 3 días después de la última ingestión de cápsula, sea cual sea primero (es decir, incluye evaluaciones en el periodo de tratamiento de eficacia). Nota: Un resultado es estadísticamente significativo si el valor de P es ≤ 0,05, en el orden de prueba jerárquico.

5

Tabla 12. Resumen de los resultados del análisis de eficacia (cambio en porcentaje desde el nivel inicial)

Criterio de valoración/análisis	Resultado de ezetimiba	Resultado de mAb316P	Comparación	Valor de p
C-LDL en WK24 - análisis IDT	Media de MC: -14,6 %	Media de MC: - 45,0 %	Dif: -30,4 %	<0,0001
C-LDL en WK24 - análisis durante el tratamiento	Media de MC: -17,1 %	Media de MC: - 52,2 %	Dif: -35,1 %	< 0,0001
C-LDL en WK12 - análisis IDT	Media de MC: -15,6 %	Media de MC: - 47,0 %	Dif: -31,5 %	< 0,0001
C-LDL en WK1 2 - análisis durante el tratamiento	Media de MC: -18,0 %	Media de MC: - 51,2 %	Dif: -33,1 %	< 0,0001
Apo B en WK24 - análisis IDT	Media de MC: -11,2 %	Media de MC: - 36,3 %	Dif: -25,1 %	< 0,0001
Apo B en WK24 - análisis durante el tratamiento	Media de MC: -14,4 %	Media de MC: - 42,6 %	Dif: -28,2 %	< 0,0001
C no HDL en WK24 - análisis IDT	Media de MC: -14,6 %	Media de MC: - 40,2 %	Dif: -25,6 %	< 0,0001
C no HDL en WK24 - análisis durante el tratamiento	Media de MC: -17,1 %	Media de MC: - 46,9 %	Dif: -29,8 %	< 0,0001
Colesterol total en WK24 - análisis IDT	Media de MC: -10,9 %	Media de MC: - 31,8 %	Dif: -20,8 %	< 0,0001
Apo B en WK12 - análisis IDT	Media de MC: -11,6 %	Media de MC: - 36,1 %	Dif: -24,5 %	< 0,0001
C no HDL en WK12 - análisis IDT	Media de MC: -15,8 %	Media de MC: - 25,7 %	Dif: -25,7 %	< 0,0001
Colesterol total en WK12 - análisis IDT	Media de MC: -11,6 %	Media de MC: - 32,7 %	Dif: -21,1 %	< 0,0001
CV muy alto C-LDL < 70 mg/dL o CV moderado/alto C-LDL < 100 mg/dL en WK24 - análisis IDT	Propor- ción=4,1 %	Propor- ción=41,3 %	Razón de probabili- dades=20,2	< 0,0001
CV muy alto C-LDL < 70 mg/dL o CV moderado/alto C-LDL < 100 mg/dL en WK24 - análisis durante el tratamiento	Propor- ción=4,2 %	Propor- ción=50,4 %	Razón de probabili- dades=33,9	< 0,0001
C-LDL < 70 mg/dL en WK24 - análisis IDT	Propor- ción=0,8 %	Propor- ción=32,5 %	Razón de probabili- dades=71,5	< 0,0001
C-LDL < 70 mg/dL en WK24 - análisis durante el tratamiento	Propor- ción=0,8 %	Propor- ción=39,0 %	Razón de probabili- dades=109,8	< 0,0001

Criterio de valoración/análisis	Resultado de ezetimiba	Resultado de mAb316P	Comparación	Valor de p
Lp(a) en WK24 - análisis IDT	Media de MC: -7,3 %	Media de MC: - 25,9 %	Dif: -18,7 %	< 0,0001
C-HDL en WK24 - análisis IDT	Media de MC: 6,8 %	Media de MC: 7,7 %	Dif: 0,9 %	0,6997
Triglicéridos en ayunas en WK24 - aná- lisis IDT	Media de MC: -3,5 %	Media de MC: - 9,2 %	Dif: -5,6 %	0,1678
Apo A-1 en WK24 - análisis IDT	Media de MC: 2,9 %	Media de MC: 4,8 %	Dif: 1,9 %	0,2768
Lp(a) en WK12 - análisis de IDT	Media de MC: -4,5 %	Media de MC: - 21,7 %	Dif: -17,2 %	< 0,0001
C-HDL en WK12 - análisis IDT	Media de MC: 7,6 %	Media de MC: 9,0 %	Dif: 1,4 %	0,4148
Triglicéridos en ayunas en WK12 - aná- lisis IDT	Media de MC: -9,4 %	Media de MC: - 8,1 %	Dif: 1,3 %	0,7152
Apo A-1 en WK12 - análisis IDT	Media de MC: 3,9 %	Media de MC: 5,5 %	Dif: 1,6 %	0,2685

Para pacientes tratados con mAb316P, el valor de C-LDL medio de MC en la Semana 24 fue 108,5 mg/dL que representa un cambio en el nivel de C-LDL desde el nivel inicial de -84 mg/dL (es decir, -45,0 %). Por el contrario, para pacientes tratados con EZE, el valor de C-LDL medio de MC en la Semana 24 fue 159,9 mg/dL que representa un cambio en el nivel de C-LDL desde el nivel inicial de -33 mg/dL (es decir, -14,6 %). La diferencia en % de la media de MC en C-LDL en la Semana 24 para pacientes tratados con mAb316P frente a pacientes tratados con ezetimiba fue -30,4 % (EE = 3,1, p<0,0001).

Cincuenta y dos pacientes con mAb316P (41,9 %) alcanzaron el objetivo de C-LDL en la Semana 24, mientras que solo 5 pacientes de EZE (4,4 %) alcanzaron el objetivo de C-LDL en la Semana 24 (valor de p <0,0001). Para los fines de este análisis, el objetivo de C-LDL se definió como inferior a 70 mg/dL para pacientes en riesgo muy alto, e inferior a 100 mg/dL para pacientes en riesgo moderado y alto. Además, 54/109 pacientes con mAb316P (49,5 %) se sometieron a un ajuste ascendente de la dosis desde 75 mg Q2W hasta 150 mg Q2W en la Semana 12 (basado en el nivel de C-LDL de la Semana 8).

Un resumen de reducciones en los parámetros de lípidos secundarios seleccionados (C no HDL, Apo B y Lp(a)) en la Semana 24 se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13. Reducciones en los parámetros de lípidos secundarios en la Semana 24

Cambio en porc	centaje medio de		inicial hasta la Sen ezetimiba	nana 24 y diferenci	a media de MC	
C no HDL ApoB Lp(a)						
mAb316P	EZE	mAb316P	EZE	mAb316P	EZE	
-40,2* (1,7)	-14,6* (1,7)	-36,3* (1,7)	-11,2* (1,7)	-25,9* (2,4)	-7,3* (2,5)	
-25,6 <sup>#</sup> (2,4)						
p < 0,	0001	p < 0	p < 0,0001 p < 0,0001		0001	
Cambio en porce	entaje medio de M	C (EE) desde el nive	el inicial			

\* Cambio en porcentaje medio de MC (EE) desde el nivel inicial # Diferencia media de MC (EE) frente a ezetimiba

El criterio primario de valoración de eficacia y más de dos tercios de los criterios secundarios de valoración de eficacia clave alcanzaron beneficio estadísticamente significativo en favor de los pacientes tratados con mAb316P según el procedimiento de prueba jerárquica.

Resultados de seguridad

10

15

20

Se aleatorizaron un total de 313 pacientes y recibieron al menos una dosis parcial de tratamiento de doble ciego del

estudio (Población de seguridad), y 281 pacientes recibieron el tratamiento del estudio OLE (Población OLE). Los SAEs emergentes del tratamiento ocurrieron en un total de 29 pacientes, específicamente, 7 (11,1 %) pacientes en el grupo de tratamiento de atorvastatina, 10 (8,1 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba, y 12 (9,5 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P. No hubo más de 1 notificación en ningún término preferente de acontecimiento para cada uno de los tres grupos de tratamiento, con la única excepción de 4 (3,2 %) pacientes que informaron dolor de pecho no cardíaco en el grupo de tratamiento con ezetimiba.

Un total de 70 (22,4 %) pacientes interrumpieron prematuramente el tratamiento del estudio debido a un TEAE. Específicamente, 16 (25,4 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 31 (25,0 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba, y 23 (18,3 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P terminaron el tratamiento del estudio antes de tiempo. Los acontecimientos más predominantes que causaron la terminación antes de tiempo estuvieron contenidos en el SOC Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo (14 [22,2 %] pacientes en el grupo de atorvastatina, 26 [21,0 %] pacientes en el grupo de ezetimiba y 20 [15,9 %] pacientes en el grupo de ezetimiba), con el término preferente más frecuentemente informado de mialgia.

No se informaron muertes de pacientes en el momento del análisis provisional.

5

10

30

35

40

45

50

55

Los TEAEs ocurrieron en 54 (85,7 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 100 (80,6 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba y 104 (82,5 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P. Los TEAEs que ocurrieron en ≥5 % de los pacientes en cualquier grupo de tratamiento son: - nasofaringitis (3,2 % / 8,1 % / 6,3 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - infección de las vías respiratorias superiores (3,2 % / 4,0 % / 5,6 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - cefalea (6,3 % / 4,8 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - parestesia (6,3 % / 0 / 3,2 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - espasmos musculares (11,1 % / 7,3 % / 4,0 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - debilidad muscular (6,3 % / 1,6 % / 0,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - mialgia (27 % / 23,4 % / 24,6 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - y fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente); - w fatiga (7,9 % / 3,2 % / 4,8 % para atorvastatina / ezetimiba

Los SOCs con una frecuencia de pacientes ≥ 5 % en el grupo de mAb316P y una frecuencia más alta en el grupo de mAb316P en comparación con tanto los grupos de tratamiento de atorvastatina como de EZE fueron: Los "Trastornos psiquiátricos" ocurrieron en 9 (7,1 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P, frente a 2 (3,2 %) en el grupo de tratamiento con atorvastatina y 5 (4,0 %) pacientes en el grupo de tratamiento con EZE. El acontecimiento más común fue 5 (4,0 %) notificaciones de insomnio en el grupo de tratamiento con mAb316P frente a 1 (1,6 %) de dichos eventos en el grupo de tratamiento con atorvastatina frente a 2 (1,6 %) de dichas notificaciones en el grupo de tratamiento con ezetimiba. Los "Trastornos del oído y del laberinto" ocurrieron en 8 (6,3 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P, frente a 1 (1,6 %) paciente en el grupo de tratamiento con atorvastatina y 4 (3,2 %) pacientes en el grupo de tratamiento con EZE. El acontecimiento más común fue 6 (4,8 %) notificaciones de vértigo en el grupo de tratamiento con mAb316P frente a 1 (1,6 %) de dicha notificaciones en el grupo de tratamiento con atorvastatina frente a 2 (1,6 %) de dichas notificaciones en el grupo de tratamiento con ezetimiba. Los "Trastornos cardíacos" ocurrieron en 10 (7,9 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P, frente a 2 (3,2 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina y 6 (4,8 %) pacientes en el grupo de tratamiento con EZE. El acontecimiento más común fue 4 (3,2 %) notificaciones de palpitaciones en el grupo de tratamiento con mAb316P frente a 0 de dichas notificaciones en el grupo de tratamiento con atorvastatina frente a 2 (1,6 %) de dichas notificaciones en el grupo de tratamiento con ezetimiba. Las "Investigaciones" ocurrieron en 9 (7,1 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P, frente a 3 (4,8 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina y 7 (5,6 %) paciente en el grupo de tratamiento con EZE. El único SOC con una frecuencia más alta en tanto los grupos de tratamiento de atorvastatina como de EZE en comparación con el grupo de tratamiento con mAb316P fue los trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo.

Para TEAEs de especial interés (AESIs), los resultados se presentan por agrupaciones de términos preferentes SMQ o CMQ predefinidos: Las reacciones del sitio de inyección (ISRs) emergentes del tratamiento ocurrieron en 1 (1,6 %) paciente en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 6 (4,8 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba y 6 (4,8 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P. Los TEAEs alérgicos generales, identificados mediante el SMQ de MedDRA de "Hipersensibilidad" ocurrieron en 4 (6,3 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 9 (7,3 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba y 12 (9,5 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P. Los AEs neurológicos emergentes del tratamiento ocurrieron en 8 (12,7 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 4 (3,2 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba y 11 (8,7 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P. Los términos preferentes más comunes fueron parestesia (6,3 % / 0 / 3,2 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente) y debilidad muscular (6,3 % / 1,6 % / 0,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente). Los trastornos neurocognitivos emergentes del tratamiento ocurrieron en cero pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 2 (1,6 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba y 3 (2,4 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P.

Para pacientes con acontecimientos cardiovasculares identificados para adjudicación, un (0,8 %) paciente fue adjudicado positivamente para IM no mortal, y este paciente estuvo en el grupo de tratamiento con mAb316P.

Con respecto a la frecuencia de pacientes con 2 mediciones consecutivas de C-LDL calculado inferiores a 25 mg/dL, ningún paciente tuvo una manifestación en ninguno de los tres grupos de tratamiento.

Los TEAEs relacionados con los músculos esqueléticos se definen dos veces para este estudio, específicamente para los eventos recogidos en el CRF relacionado con los músculos esqueléticos y otra vez por CMQ (como se define en el apéndice del protocolo). Un total de 99 (31,6 %) pacientes informaron un término preferente de CMQ, específicamente 25 (39,7 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 40 (32,3 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba y 34 (27,0 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P. Los términos preferentes definidos por CMQ más predominantes que causaron eventos relacionados con músculos esqueléticos fueron mialgia (27 % / 23,4 % / 24,6 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente), espasmos musculares (11,1 % / 7,3 % / 4,0 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente) y debilidad muscular (6,3 % / 1,6 % / 0,8 % para atorvastatina / ezetimiba / mAb316P, respectivamente), todos los cuales están contenidos en el SCO Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo.

Se informaron acontecimientos relacionados con los músculos esqueléticos emergentes del tratamiento que dan como resultado la interrupción del tratamiento antes de tiempo en 55 (17,6 %) pacientes, específicamente 13 (20,6 %) pacientes en el grupo de tratamiento con atorvastatina, 23 (18,5 %) pacientes en el grupo de tratamiento con ezetimiba y 19 (15,1 %) pacientes en el grupo de tratamiento con mAb316P. No se informó ningún acontecimiento grave relacionado con los músculos esqueléticos emergente del tratamiento en ningún grupo de tratamiento. No se informó ninguna muerte de paciente debido a TEAE de eventos relacionados con los músculos esqueléticos en ningún grupo de tratamiento.

#### 20 Conclusiones

5

10

15

25

30

35

40

El presente estudio evaluó pacientes con antecedentes de intolerancia a al menos dos estatinas diferentes, incluyendo una a la dosis más baja, debido a síntomas relacionados con los músculos. Los pacientes se aleatorizaron para recibir mAb316P, ezetimiba o atorvastatina 20 mg (un brazo calibrador). Los pacientes tratados en este estudio tuvieron niveles de C-LDL muy altos cuando entraron por primera vez en el ensayo (entre 187-193,5 mg/dL en promedio). En la práctica clínica, 10-25 por ciento de los pacientes informan intolerancia a estatinas.

El presente estudio alcanzó el criterio primario de valoración de eficacia en la población IDT de una reducción estadísticamente significativa en cambio en porcentaje desde el C-LDL en el nivel inicial calculado en los pacientes tratados con mAb316P (media de MC = -45,0 %), en comparación con los pacientes tratados con ezetimiba (media de MC = -14,6 %), con una diferencia media de MC entre grupos de tratamiento de -30,4 %. Para más de dos tercios de los criterios secundarios de valoración de la eficacia clave, este estudio alcanzó beneficio estadísticamente significativo en los pacientes tratados con mAb316P, en comparación con los pacientes tratados con ezetimiba. Basándose en los datos disponibles de este estudio, la administración subcutánea de mAb316P en pacientes con hipercolesterolemia primaria (HFhe y H no F) que son intolerantes a las estatinas fue, en general, segura y bien tolerada. La tasa de AEs relacionados con los músculos esqueléticos para los pacientes tratados con mAb316P fue menos en cualquier grupo de control, y se determinó que esta diferencia era estadísticamente significativa en pacientes tratados con 20 mg de atorvastatina (como se evaluó en el momento del primer AE de músculo esquelético, p=0,042). Además, la tasa de abandonos del estudio de AEs relacionados con los músculos esqueléticos para los pacientes tratados con mAb316P fue inferior a los dos grupos de control. Se observó una tasa similar de AEs entre todos los grupos de tratamiento (mAb31682 5 por ciento, ezetimiba 81 por ciento, atorvastatina 86 por ciento) en el presente estudio. Los AEs más comunes fueron mialgia (25 por ciento para mAb316, 23 por ciento para ezetimiba, 27 por ciento para atorvastatina), nasofaringitis (6 por ciento para mAb316, 8 por ciento para ezetimiba, 3 por ciento para atorvastatina), artralgia (6 por ciento para mAb316, 7 por ciento para ezetimiba, 8 por ciento para atorvastatina) e infección de las vías respiratorias superiores (6 por ciento para mAb316, 4 por ciento para ezetimiba, 3 por ciento para atorvastatina).

La presente invención no se debe limitar en alcance por las realizaciones específicas descritas en el presente documento. De hecho, diversas modificaciones de la invención, además de las descritas en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior y las figuras adjuntas.

### **LISTADO DE SECUENCIAS**

<210> 3 <211> 8

```
<110> BACCARA-DINET, MARIE BESSAC, LAURENCE CHAUDHARI, UMESH HANOTIN, CORINNE PORDY,
          ROBERT C. SASIELA, WILLIAM J. SCHWEMMER GIPE, DANIEL A.
          <120> USO DE UN INHIBIDOR DE PCSK9 PARA TRATAR HIPERLIPIDEMIA
          <130> US2013/257 PCT
 5
          <140>
          <141>
          <160> 198
          <170> PatentIn versión 3.5
10
          <210> 1
          <211>118
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
15
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético
          <400> 1
                    Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                                                           10
                    Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
                                                       25
                    Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
                    Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
                    Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys His Thr Leu Tyr
                    Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                                      85
                                                           90
                    Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
                                 100
                                                       105
                    Leu Val Thr Val Ser Ser
                             115
          <210> 2
          <211>8
          <212> PRT
20
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 2
                                     Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala
                                                       5
25
```

```
<212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
 5
           <400> 3
                                        Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr
           <210> 4
           <211> 11
           <212> PRT
10
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 4
                                 Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu
15
           <210> 5
           <211> 447
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la cadena pesada de REGN727 sintético
20
           <400> 5
                      Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                      Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
                      Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
```

Ser	Thr 50	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly 55	Gly	Thr	Thr	Asn	Tyr 60	Ala	Asp	Ser	Val
Lys 65	Gly	Arg	Phe	Ile	Ile 70	Ser	Arg	Asp	Ser	Ser 75	Lys	His	Thr	Leu	Tyr 80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser 85	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Сув
Ala	Lys	Asp	Ser 100	Asn	Trp	G1y	Asn	Phe 105	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg 110	Gly	Thr
Leu	Val	Thr 115	Val	Ser	Ser	Ala	Ser 120	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser 125	Val	Phe	Pro
Leu	Ala 130	Pro	Ser	Ser	Lys	<b>Ser</b> 135	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr 140	Ala	Ala	Leu	Gly
Cys 145	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr 150	Phe	Pro	Glu	Pro	Val 155	Thr	Val	Ser	Trp	Asn 160
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr 165	Ser	Gly	Val	His	Thr 170	Phe	Pro	Ala	Val	<b>Le</b> u 175	Gln
Ser	Ser	Gly	<b>Leu</b> 180	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser 185	Val	Val	Thr	Val	Pro 190	Ser	Ser
Ser	Leu	Gly 195	Thr	Gln	Thr	Tyr	11e 200	Суз	Asn	Val	Asn	His 205	Lys	Pro	Ser
Asn	Thr 210	Lys	Val	Asp	Lys	Lys 215	Val	Glu	Pro	Lys	Ser 220	Cys	Asp	Lys	Thr
His 225	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys 230	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu 235	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser 240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro 245	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp 250	Thr	Leu	Met	Ile	Ser 255	Arg
Thr	Pro	Glu	Val 260	Thr	Сув	Val	Val	<b>Val</b> 265	Asp	Val	Ser	His	Glu 270	Asp	Pro
Glu	Val	<b>Lys</b> 275	Phe	Asn	Trp	Tyr	<b>Val</b> 280	Asp	Gly	Val	Glu	Val 285	His	Asn	Ala
Lys	Thr 290	Lys	Pro	Arg	Glu	G1u 295	Gln	туг	Asn	Ser	Thr 300	Tyr	Arg	Val	Val

	Ser 305	Val	Leu	Thr	Val	Leu 310	His	Gln	Asp	Trp	<b>Leu</b> 315	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr 320
	Lys	Cys	Lys	Val	Ser 325	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro 330	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys 335	Thr
	Ile	Ser	Lys	Ala 340	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg 345	Glu	Pro	Gln	Val	<b>Tyr</b> 350	Thr	Leu
	Pro	Pro	Ser 355	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr 360	Lys	Asn	Gln	Val	Ser 365	Leu	Thr	Cys
	Leu	<b>Val</b> 370	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro 375	Ser	Asp	Ile	Ala	<b>Val</b> 380	Glu	Trp	Glu	Ser
	<b>As</b> n 385	Gly	Gln	Pro	Glu	<b>As</b> n 390	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr 395	Pro	Pro	Val	Leu	<b>Asp</b>
	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe 405	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys 410	Leu	Thr	Val	Asp	Lys 415	Ser
	Arg	Trp	Gln	Gln 420	Gly	Asn	Val	Phe	Ser 425	Cys	Ser	Val	Met	His 430	Glu	Ala
	Leu	His	Asn 435	His	Tyr	Thr	Gln	Lys 440	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser 445	Pro	Gly	
<210> 6 <211> 113 <212> PRT <213> Secu		antifi	cial													
<220>	iei iei	aaiiii	Ciai													
<223> Desc	ripció	ón de	la se	cuen	cia ar	tificial	I: Poli	pépti	do sir	ntético	)					
<400> 6	Agn	Ile	Val	Mo+	Thr	Gln	Ser	Pro	Aen	Ser	T. <del></del> 11	Δla	Val	Ser	T.011	Glv
	1	116	Vai	Hec	5	OIII	Der	110	иор	10	пец	ΑLQ	Val	DET	15	OLY
	Glu	Arg	Ala	Thr 20	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser 25	Ser	Gln	Ser	Val	Leu 30	Tyr	Arg
	Ser	Asn	Asn 35	Arg	Asn	Phe	Leu	Gly 40	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys 45	Pro	Gly	Gln
	Pro	Pro 50	Asn	Leu	Leu	Ile	Tyr 55	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg 60	Glu	Ser	Gly	Val

```
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
                     Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
                     Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
                                   100
                                                         105
                     Lys
          <210> 7
          <211> 12
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 7
                              Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Phe
                                                5
10
          <210>8
          <211>3
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
15
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400>8
                                                   Trp Ala Ser
          <210>9
           <211> 220
          <212> PRT
20
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la cadena ligera de REGN727 sintético
          <400> 9
                     Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
                     Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Arg
25
                                   20
                                                         25
```

		Ser	Asn	Asn 35	Arg	Asn	Phe	Leu	Gly 40	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys 45	Pro	Gly	Gln
		Pro	Pro 50	Asn	Leu	Leu	Ile	Tyr 55	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg 60	Glu	Ser	Gly	Val
		Pro 65	Asp	Arg	Phe	Ser	<b>Gly</b> 70	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr 75	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr 80
		Ile	Ser	Ser	Leu	Gln 85	Ala	Glu	Asp	Val	<b>Ala</b> 90	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln 95	Gln
		Tyr	Tyr	Thr	Thr 100	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly 105	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu 110	Glu	Ile
		Lys	Arg	Thr 115	Val	Ala	Ala	Pro	Ser 120	Val	Phe	Ile	Phe	Pro 125	Pro	Ser	Asp
		Glu	Gln 130	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr 135	Ala	Ser	Val	Val	Cys 140	Leu	Leu	Asn	Asn
		Phe 145	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala 150	Lys	Val	Gln	Trp	Lys 155	Val	Asp	Asn	Ala	Leu 160
		Gln	Ser	Gly	Asn	Ser 165	Gln	Glu	Ser	Val	Thr 170	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys 175	Asp
		Ser	Thr	Tyr	Ser 180	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu 185	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala 190	Asp	Tyr
		Glu	Lys	His 195	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys 200	Glu	Val	Thr	His	Gln 205	Gly	Leu	Ser
		Ser	Pro 210	Val	Thr	Lys	Ser	Phe 215	Asn	Arg	Gly	Glu	C <b>ys</b> 220				
5	<210> 10 <211> 9 <212> PRT <213> Secu		a artifi	icial													
	<220> <223> Desc	ripció	ón de	la se	cuen	cia ar	tificia	l: Pép	otido s	sintéti	со						
	<400> 10																
					G1 1	ln Gl	Ln Ty	r T	yr Th 5	ır Th	ir Pi	:O T <u>y</u>	yr Th	ır			
10	<210> 11 <211> 127 <212> PRT <213> Secu		a artifi	icial													
15	<220> <223> Desc	cripció	ón de	la se	cuen	cia ar	tificia	l: Poli	pépti	do sir	ntético	o					
	<400> 11																

```
Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                     Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
                    Trp Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                    Ala Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
                    Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
                    Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                    Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
                                                        105
                    Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
          <210> 12
          <211>8
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 12
                                      Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
          <210> 13
10
          <211>8
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
15
          <400> 13
                                      Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
          <210> 14
          <211> 20
20
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 14
```

```
Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
                     Gly Met Asp Val
          <210> 15
          <211> 112
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético
          <400> 15
                     Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
                     Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
                     Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
                     Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
                     Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
                     Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
                     Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                                  100
                                                        105
          <210> 16
10
          <211>11
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
15
          <400> 16
                                Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr
          <210> 17
          <211>3
          <212> PRT
20
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 17
                                                 Leu Gly Ser
25
          <210> 18
```

```
<211>9
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
 5
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 18
                                       Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
           <210> 19
           <211>8
           <212> PRT
10
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 19
                                         Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
15
                                                            5
           <210> 20
           <211>8
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
20
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 20
                                         Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
                                                            5
           <210> 21
25
           <211> 20
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
30
           <400> 21
                         Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
                                                                    10
                          Gly Met Asp Val
           <210> 22
           <211>11
           <212> PRT
35
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 22
                                  Gln Ser Leu His His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr
                                                     5
                                                                             10
           <210> 23
40
           <211>3
```

```
<212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 23
 5
                                                     Leu Gly Ser
           <210> 24
           <211>9
           <212> PRT
10
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 24
                                       Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
                                       1
15
           <210> 25
           <211>8
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
20
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 25
                                         Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
                                                             5
           <210> 26
           <211>8
25
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 26
30
                                          Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
           <210> 27
           <211>20
           <212> PRT
35
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 27
                          Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr His Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
                                            5
                                                                    10
                          Gly Met Asp Val
40
           <210> 28
           <211>11
```

```
<212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 28
 5
                                     Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr
           <210> 29
           <211>3
           <212> PRT
10
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 29
                                                        Leu Gly Ser
                                                        1
           <210> 30
15
           <211>9
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
20
           <400> 30
                                          Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
                                                              5
           <210>31
           <211>8
           <212> PRT
25
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 31
                                            Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp
30
                                                                5
           <210> 32
           <211>8
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
35
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 32
                                             Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys
                                                                5
           <210>33
40
           <211>20
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
```

```
<400> 33
                         Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr His Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
                         Gly Met Asp Val
                                       20
           <210> 34
           <211> 11
           <212> PRT
 5
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 34
                                     Gln Ser Leu His His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr
10
           <210> 35
           <211>3
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
15
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 35
                                                       Leu Gly Ser
           <210>36
20
           <211>9
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
25
           <400> 36
                                         Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr
                                                            5
           <210>37
           <211> 131
           <212> PRT
30
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: VH sintética; polipéptido m2CX1D05
           <400> 37
```

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
                       Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asn Ser His
                       Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
                       Gly Gly Ile Asn Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
                       Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
                                            70
                       Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                       Ala Arg His Tyr Glu Ile Gln Ile Gly Arg Tyr Gly Met Asn Val Tyr
                                    100
                                                          105
                       Tyr Leu Met Tyr Arg Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
                                                     120
                               115
                       Val Ser Ser
                           130
          <210>38
          <211>10
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR1 de VH sintética; m2CX1D05 péptido
          <400> 38
                                    Gly Gly Thr Phe Asn Ser His Ala Ile Ser
                                                     5
                                                                           10
          <210>39
10
          <211> 20
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR2 de VH sintética; péptido m2CX1D05
15
          <400>39
                       Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln
                                                              10
                       Lys Phe Gln Gly
                                    20
          <210> 40
20
          <211>22
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR3 de VH sintética; péptido m2CX1D05
```

	<400> 40		_							_			_		_	_	
		His 1	Tyr	Glu	Ile	Gln 5	Ile	Gly	Arg	Tyr	Gly 10	Met	Asn	Val	Tyr	Tyr 15	Leu
		Met	Tyr	Arg	Phe 20	Ala	Ser										
5	<210> 41 <211> 213 <212> PRT <213> Secuen	cia a	rtificia	ıl													
	<220> <223> Descripción de la secuencia artificial: LC sintética; polipéptido m2CX1D05																
	<400> 41																
		Asp 1	Ile	Gln	Met	Thr 5	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser 10	Leu	Ser	Ala	Ser	Val 15	Gly
		Asp	Arg	Val	Thr 20	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala 25	Ser	Gln	Gly	Ile	Arg 30	Ser	Ala
		Leu	Asn	Trp 35	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro 40	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys 45	Leu	Leu	Ile
		Tyr	Asn 50	Gly	Ser	Thr	Leu	Gln 55	Ser	Gly	Val	Pro	Ser 60	Arg	Phe	Ser	Gly
		Ser 65	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp 70	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile 75	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro 80
		Glu	Asp	Phe	Ala	Val 85	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln 90	Phe	Asp	Gly	Asp	Pro 95	Thr
		Phe	Gly	Gln	Gly 100	Thr	Lys	Val	Glu	Ile 105	Lys	Arg	Thr	Val	Ala 110	Ala	Pro
10		Ser	Val	Phe 115	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser 120	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys 125	Ser	Gly	Thr
		Ala	Ser 130	Val	Val	Cys	Leu	Leu 135	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro 140	Arg	Glu	Ala	Lys
		Val 145	Gln	Trp	Lys	Val	<b>Asp</b> 150	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser 155	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu 160
		Ser	Val	Thr	Glu	Gln 165	Asp	Ser	Lys	Asp	<b>Ser</b> 170	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser 175	Ser
		Thr	Leu	Thr	Leu 180	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr 185	Glu	Lys	His	Lys	<b>V</b> al 190	Tyr	Ala
		Cys	Glu	Val 195	Thr	His	Gln	Gly	Leu 200	Ser	Ser	Pro	Val	Thr 205	Lys	Ser	Phe

Asn Arg Gly Glu Ala 210

```
<210> 42
           <211>11
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
 5
           <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR1 de VL sintética; péptido m2CX1D05
           <400> 42
                                     Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Ala Leu Asn
                                                        5
                                                                                10
           <210> 43
10
           <211>11
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR2 de VL sintética; péptido m2CX1D05
15
           <400> 43
                                     Leu Leu Ile Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Gln Ser
                                                        5
                                                                                10
           <210> 44
           <211>7
           <212> PRT
20
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR3 de VL sintética; péptido m2CX1D05
           <400> 44
                                              Gln Gln Phe Asp Gly Asp Pro
                                                                 5
25
           <210> 45
           <211>119
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
30
           <223> Descripción de la secuencia artificial: VH sintética; polipéptido 1B20
           <400> 45
```

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
                       Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
                       Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
                       Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe
                       Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
                       Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                                                               90
                       Ala Arg Asp Tyr Trp Tyr Lys Pro Leu Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
                                    100
                       Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                                115
          <210> 46
          <211> 10
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR1 de VH sintética; péptido 1B20
          <400> 46
                                    Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Ser
          <210> 47
10
          <211> 20
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR2 de VH sintética; péptido 1B20
15
          <400> 47
                       Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro
                                                              10
                       Ser Phe Gln Gly
          <210> 48
          <211>10
20
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR3 de VH sintética; péptido 1B20
          <400> 48
```

```
Asp Tyr Trp Tyr Lys Pro Leu Phe Asp Ile
                                                  5
         <210>49
         <211> 220
 5
         <212> PRT
         <213> Secuencia artificial
         <223> Descripción de la secuencia artificial: LC sintética; polipéptido 1B20
         <400>49
                     Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
                                                          10
                      Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
                     Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
                     Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
                     Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
                                          70
                                                               75
                     Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
10
                     Tyr Ser Ser Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
                     Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                     Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
                                              135
                     Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
                     Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
                     Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
                     Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
                                                  200
                                                                       205
                     Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Ala
         <210> 50
```

<210> 50 <211> 17 <212> PRT

```
<213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR1 de VL sintética; péptido 1B20
           <400> 50
                         Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
                                                                    10
                         Ala
 5
           <210> 51
           <211>11
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
10
           <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR2 de VL sintética; péptido 1B20
           <400> 51
                                     Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
                                                        5
           <210> 52
15
           <211>8
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: CDR3 de VL sintética; péptido 1B20
20
           <400> 52
                                            Gln Gln Tyr Ser Ser Phe Pro Ile
                                                               5
           <210> 53
           <211> 120
           <212> PRT
25
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la región de anticuerpo pesada variable sintética
           <400> 53
```

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                       Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
                       Gly Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
                       Gly Trp Ile Asp Pro Gly Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
                       Lys Gly Lys Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
                       Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                                                               90
                       Ala Arg Glu Arg Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
                                                           105
                       Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
                                115
          <210> 54
          <211> 16
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR1 de cadena pesada AX132
          sintética
          <400> 54
                       Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Tyr Trp Val Arg
10
          <210> 55
          <211>23
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
15
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR2 de cadena pesada AX132
          sintética
          <400> 55
                       Trp Ile Gly Trp Ile Asp Pro Gly Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu
                       Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr
                                    20
20
          <210> 56
          <211> 15
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
25
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR3 de cadena pesada AX132
          sintética
```

<400> 56 Cys Ala Arg Glu Arg Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln 10 <210> 57 <211> 108 5 <212> PRT <213> Secuencia artificial <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la región de anticuerpo ligera variable sintética <400> 57 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly 10 Glu Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr 20 25 30 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile 10 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly 50 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro 90 Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 100 <210> 58 <211> 17 <212> PRT 15 <213> Secuencia artificial <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR1 de cadena ligera AX213 y AX132 sintética <400> 58 Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr 5 20 Gln <210> 59 <211>13 <212> PRT <213> Secuencia artificial 25 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR2 de cadena ligera AX213 y AX132 sintética <400> 59 Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro 5 10

```
<210> 60
          <211> 16
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
 5
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR3 de cadena ligera AX132 y
          AX213 sintética
          <400>60
                       Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro Val Val Phe Gly Gly
                                                               10
10
          <210>61
          <211> 120
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
15
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la región de anticuerpo pesada variable sintética
          <400> 61
                       Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                       Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Tyr
                       Gly Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
                       Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Asn Glu Lys Phe
                       Lys Gly Lys Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
                                             70
                       Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                       Ala Arg Ala Asn Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
                                                           105
                       Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
          <210> 62
          <211> 16
          <212> PRT
20
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR1 de cadena pesada AX213
          sintética
25
          <400> 62
                       Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Ile Asn Trp Val Arg
                                                               10
          <210> 63
          <211>23
```

```
<212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR2 de cadena pesada AX213
 5
          sintética
          <400> 63
                       Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Asn Glu
                       Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr
                                     20
          <210> 64
          <211>15
10
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR3 de cadena pesada AX213
          sintética
          <400> 64
15
                         Cys Ala Arg Ala Asn Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
                                           5
                                                                  10
          <210>65
          <211> 108
          <212> PRT
20
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la región de anticuerpo ligera variable sintética
          <400>65
                       Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                                                               10
                                                                                      15
                       Glu Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr
                       Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
                       Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
                                                  55
                       Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
                                              70
                       Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro
                                                               90
                       Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                                                           105
25
          <210>66
          <211> 17
          <212> PRT
```

<213> Secuencia artificial

```
<220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR1 de cadena ligera AX213 y
           AX132 sintética
           <400> 66
                        Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr
                                           5
                                                                  10
 5
                        Gln
           <210> 67
           <211>13
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
10
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR2 de cadena ligera AX213 y
           AX132 sintética
           <400> 67
                               Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro
                                                  5
15
           <210>68
           <211> 16
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la región de anticuerpo CDR3 de cadena ligera AX132 y
20
           AX213 sintética
           <400> 68
                        Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro Val Val Phe Gly Gly
           <210> 69
25
           <211>119
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de anticuerpos de VH AX1 sintética
           <400> 69
30
                        Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                        Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr
                                      20
                                                              25
```

```
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
                                35
                       Gly Arg Ile Asn Pro Asp Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
                                                  55
                       Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
                                             70
                       Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                       Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Trp Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
                                                           105
                       Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                                115
          <210> 70
          <211> 16
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR1 de VH AX1 sinté-
          <400> 70
                       Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg
                                                               10
10
          <210>71
          <211>23
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
15
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR2 de VH AX1 sinté-
          tica
          <400> 71
                       Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asp Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu
                       Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr
                                    20
20
          <210> 72
          <211> 16
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
25
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR3 de VH AX1 sinté-
          tica
          <400> 72
                       Cys Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Trp Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln
                                         5
                                                               10
                                                                                      15
          <210> 73
30
          <211> 109
```

```
<212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de anticuerpos de VL AX1 sintética
 5
           <400> 73
                        Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
                                                                 10
                        Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Arg Tyr
                                                            25
                        Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                        Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                        Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
                                               70
                                                                      75
                        Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Gly
                                                                 90
                        Gly Tyr Val Phe Gly Asp Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           <210> 74
           <211>11
           <212> PRT
10
           <213> Secuencia artificial
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR1 de VL AX1 sintética
          <400> 74
                                   Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Arg Tyr Leu Ala
                                                     5
                                   1
                                                                            10
15
           <210> 75
           <211>7
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
20
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR2 de VL AX1 AX9
           AX189 sintética
           <400> 75
                                            Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
                                                               5
           <210> 76
25
           <211>11
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR3 de VL AX1 sintética
```

<400> 76

30

```
Ala Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Tyr Val
          <210>77
          <211> 121
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de anticuerpos de VH AX9 AX189 sin-
          tética
          <400> 77
                       Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                       Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
                       Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
                       Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
                       Lys Gly Lys Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
                       Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                       Ala Arg Tyr Gly Tyr Tyr Leu Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
                                                           105
                       Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
10
                       115
                                             120
          <210> 78
          <211>16
          <212> PRT
15
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR1 de VH AX9 AX189
          sintética
          <400> 78
                       Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg
                                                             10
20
          <210> 79
          <211>23
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
25
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR2 de VH AX9 AX189
          sintética
          <400> 79
```

```
Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu
                       Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr
                                    20
          <210>80
          <211> 18
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR3 de VH AX9 AX189
          sintética
          <400>80
                       Cys Ala Arg Tyr Gly Tyr Tyr Leu Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
                                         5
                                                               10
                       Gly Gln
10
          <210>81
          <211> 109
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
15
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido de la secuencia de anticuerpos de VL AX189 sintética
          <400> 81
                       Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
                       Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Arg Tyr
                                                          25
                       Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                                35
                       Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                                                  55
                       Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
                                             70
                       Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Ser
                       Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                                                          105
          <210> 82
20
          <211>11
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR1 de VL AX189
25
          sintética
          <400> 82
```

```
Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Arg Tyr Leu Thr
                                                   5
          <210>83
          <211>7
          <212> PRT
 5
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR2 de VL AX1 AX9
          AX189 sintética
          <400>83
                                          Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
10
          <210>84
          <211>11
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
15
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido de la secuencia de anticuerpos de CDR3 de VL AX189
          sintética
          <400> 84
                                 Gln Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Ser Gly Tyr Val
20
          <210>85
          <211> 115
          <212> PRT
          <213> Homo sapiens
          <400>85
                       Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
                       Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
                       Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
                       Gly Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
                                                 55
                       Gln Gly Arg Gly Thr Met Thr Thr Asp Pro Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
                                            70
                      Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                                                              90
                      Ala Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
                                                         105
                       Val Ser Ser
```

115

25

```
<210>86
         <211>5
         <212> PRT
 5
         <213> Homo sapiens
         <400> 86
                                            Ser Tyr Gly Ile Ser
10
         <210>87
         <211>17
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
15
         <400>87
                      Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
                      Gly
20
         <210>88
         <211>6
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
25
         <400> 88
                                          Gly Tyr Gly Met Asp Val
         <210>89
30
         <211> 109
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
35
         <400>89
                      Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
                      Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
                     Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
                      Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
                      Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
                                          70
                      Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Ser Thr
                      Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
         <210> 90
40
         <211> 14
```

```
<212> PRT
          <213> Homo sapiens
          <400>90
 5
                          Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
                                                               10
          <210> 91
         <211> 7
<212> PRT
10
          <213> Homo sapiens
          <400> 91
                                        Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser
15
          <210>92
          <211>9
          <212> PRT
20
          <213> Homo sapiens
          <400> 92
                                    Asn Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val
25
          <210>93
          <211> 123
          <212> PRT
          <213> Homo sapiens
30
          <400> 93
                      Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
                      Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                      Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                      Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val
                          50
                      Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
                      Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
                      Ala Arg Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Ala Tyr Tyr Asp Ala Phe Asp Val
                                  100
                                                       105
                      Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
35
          <210> 94
          <211> 10
          <212> PRT
```

```
<213> Homo sapiens
         <400> 94
                                  Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn
 5
                                                 5
         <210>95
         <211> 17
         <212> PRT
10
         <213> Homo sapiens
         <400>95
                      Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
                                                         10
                     Gly
15
         <210>96
         <211> 14
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
20
         <400>96
                         Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Ala Tyr Tyr Asp Ala Phe Asp Val
         <210> 97
25
         <211> 111
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
         <400> 97
30
                     Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
                     Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
                                                      25
                     Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
                     Leu Ile Ser Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
                     Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
                                          70
                     Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
                     Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                                                      105
         <210>98
         <211> 14
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
```

	<400> 98																
			Thr 1	Gly	Ser	Ser	Ser 5	Asn	Ile	Gly	Ala	Gly 10	Tyr	Asp	Val	His	
5	<210> 99 <211> 7 <212> PRT <213> Homo s	sapier	าร														
10	<400> 99																
						G: 1	Ly As	sn Se	er As	sn Ai 5	rg Pı	co Se	er				
15	<210> 100 <211> 11 <212> PRT <213> Homo s	sapier	าร														
	<400> 100																
20				G] 1	Ln Se	er Ty	yr As	sp Se 5	er Se	er Le	eu Se	er G	ly So		al		
25	<210> 101 <211> 114 <212> PRT <213> Homo s	sapier	ns														
	<400> 101																
		Gln 1	Val	Gln	Leu	Val 5	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly 10	Val	Ala	Gln	Pro	Gly 15	Arg
		Ser	Leu	Arg	Leu 20	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser 25	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser 30	Ser	Tyr
		Gly	Met	His 35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala 40	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu <b>4</b> 5	Glu	Trp	Val
		Ala	Val 50	Ile	Tyr	Tyr	Asp	Gl <b>y</b> 55	Ile	Asn	Lys	His	Tyr 60	Ala	Asp	Ser	Val
		Lys 65	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile 70	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser 75	Lys	Asn	Thr	Leu	<b>Tyr</b> 80
		Leu	Gln	Met	Asn	Ser 85	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
		Ala	Arg	Asp	Arg 100	Gly	Leu	Asp	Trp	Gly 105	Gln	Gly	Thr	Leu	Val 110	Thr	Val
30		Ser	Ser														
35	<210> 102 <211> 10 <212> PRT <213> Homo s	sapier	าร														
	<400> 102																

					Gly 1	Phe	Thr	Phe	Ser 5	Ser	Tyr	Gly	Met	His 10			
5	<210> 103 <211> 17 <212> PRT <213> Homo s	sapier	าร														
	<400> 103																
		Val 1	Ile	Tyr	Tyr	Asp 5	Gly	Ile	Asn	Lys	His 10	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val 15	Lys
10		Gly															
15	<210> 104 <211> 5 <212> PRT <213> Homo s	sapier	ns														
	<400> 104																
								sp A	rg Gl	Ly Le		sp					
20	<210> 105 <211> 113 <212> PRT	anior	20				1				5						
25	<213> Homo s	sapiei	15														
	C400> 103	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Glv
		1				5					10					15	1
		Glu	Arg	Ala	Thr 20	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser 25	Ser	Gln	Ser	Val	Leu 30	Tyr	Ser
		Ser	Asn	Ser 35	Lys	Asn	Tyr	Leu	Val 40	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys 45	Pro	Gly	Gln
		Pro	Pro 50	Lys	Leu	Leu	Ile	<b>Tyr</b> 55	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg 60	Glu	Ser	Gly	Val
		Pro 65	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly 70	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr 75	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr 80
		Ile	Ser	Ser	Leu	Gln 85	Ala	Glu	Asp	Val	Ala 90	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln 95	Gln
		Tyr	Tyr	Ser	Thr 100	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly 105	Gln	Gly	Thr	Lys	Val 110	Glu	Ile
20		Lys															
30	<210> 106 <211> 17 <212> PRT																
35	<213> Homo s	sapier	าร														

<400> 106 Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Ser Lys Asn Tyr Leu 10 Val <210> 107 5 <211>7 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 107 10 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser <210> 108 15 <211>9 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 108 20 Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr 5 <210> 109 <211> 118 <212> PRT 25 <213> Secuencia artificial <220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético de la región variable (FR1-FR4) de la cadena pesada Vh del anticuerpo monoclonal anti-PCSK9 pJG04 (clones LGT-209 y LGT-210) 30 <400> 109 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 5 1 10 15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Thr Met 20 25 30 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Glu His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr 70 Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr 105 Leu Val Thr Val Ser Ser 115 35 <210> 110

<211>5

```
<212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
 5
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR1 de la cadena pesada del anticuerpo
           monoclonal anti-PCSK9 clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211
           <400> 110
                                                    Thr Met Tyr Met Ser
10
           <210> 111
           <211>17
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
15
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR2 de la cadena pesada del anticuerpo
           monoclonal anti-PCSK9 clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211
20
           <400> 111
                         Arg Ile Asp Pro Ala Asn Glu His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
                                                                     10
                         Gly
           <210> 112
           <211>9
           <212> PRT
25
           <213> Secuencia artificial
           <220>
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de la región determinante de la complementariedad
30
           3 (CDR3) de la cadena pesada Vh del anticuerpo monoclonal anti-PCSK9 pJG04 (clones LGT-209 y LGT-210)
           <400> 112
                                          Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Met Asp Tyr 1 	 5
35
           <210> 113
           <211> 106
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
40
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético de la región variable (FR1-FR4) de la cadena
           ligera Vk del anticuerpo monoclonal anti-PCSK9 pJG10 (clones LGT-209 y LGT-211)
           <400> 113
45
```

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met 25 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr 35 40 Gly Val Phe Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Gly Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Trp Ser Ser Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 100 <210> 114 <211> 10 5 <212> PRT <213> Secuencia artificial <220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR1 de la cadena ligera del anticuerpo mono-10 clonal anti-PCSK9 clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 <400> 114 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met His 5 15 <210> 115 <211>7 <212> PRT <213> Secuencia artificial 20 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR1 de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal anti-PCSK9 clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 25 <400> 115 Gly Val Phe Arg Arg Ala Thr 5 <210> 116 <211>9 <212> PRT 30 <213> Secuencia artificial <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR3 de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal anti-PCSK9 de ratón LFU720 y anticuerpo monoclonal anti-PCSK9 clones LGT-209, LGT-210 y LGT-211 35 <400> 116 Leu Gln Trp Ser Ser Asp Pro Pro Thr

40

<210> 117

```
<211> 118
          <212> PRT
          <213> Homo sapiens
 5
          <400> 117
                       Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
                       Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
                       Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
                       Gly Glu Ile Ser Pro Phe Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
                       Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
                       Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95
                       Ala Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr
                       Thr Val Thr Val Ser Ser
                                115
10
          <210> 118
          <211>7
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
15
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 118
                                           Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20
          <210> 119
          <211>6
          <212> PRT
25
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
30
          <400> 119
                                             Ser Pro Phe Gly Gly Arg
          <210> 120
35
          <211>9
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
```

```
<220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR de la cadena pesada variable
          <400> 120
 5
                                       Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu
          <210> 121
          <211> 107
<212> PRT
10
          <213> Homo sapiens
          <400> 121
                        Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
                        1 5 10 15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
15
                        Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                        Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                                                   55
                        Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
                        Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg
                        Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          <210> 122
          <211> 11
20
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR de la cadena ligera variable
25
          <400> 122
                                   Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
                                                     5
                                                                            10
          <210> 123
          <211>7
30
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
35
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR de la cadena ligera variable
          <400> 123
                                            Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
40
          <210> 124
          <211>9
          <212> PRT
```

	<213> Secuer	ncia a	rtificia	al													
_	<220> <223> Descrip	oción (	de la	secu	encia	artific	cial: F	éptid	o sint	tético	de C	DR d	e la c	aden	a lige	era va	riable
5	<400> 124																
					Gln 1	Gln	Arg	Tyr	Ser 5	Leu	Trp	Arg	Thr				
10	<210> 125 <211> 118 <212> PRT <213> Homo s	sapier	ns														
15	<400> 125	Gln 1	Val	Gln	Leu	Val 5	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu 10	Val	Lys	Lys	Pro	Gly 15	Ala
		Ser	Val	Lys	Val 20	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser 25	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr 30	Ser	Tyr
		Tyr	Met	His 35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala 40	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu 45	Glu	Trp	Met
		Gly	<b>Gl</b> u 50	Ile	His	Pro	Ser	G1y 55	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr 60	Asn	Glu	Lys	Phe
		Lys 65	Ser	Arg	Val	Thr	<b>Met</b> 70	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser 75	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr 80
		Met	Glu	Leu	Ser	Ser 85	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
		Ala	Arg	Glu	Arg 100	Pro	Leu	Tyr	Ala	Met 105	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln 110	Gly	Thr
		Thr	Val	Thr 115	Val	Ser	Ser										
20	<210> 126 <211> 10 <212> PRT <213> Homo	sapier	าร														
0.5	<400> 126																
25					Gly 1	Tyr	Thr	Phe	Thr 5	Ser	Tyr	Tyr	Met	His 10			
30	<210> 127 <211> 17 <212> PRT <213> Homo	sapier	าร														
	<400> 127																
		Glu 1	Ile	His	Pro	Ser 5	Gly	Gly	Arg	Thr	Asn 10	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe 15	Lys
35		Ser															

```
<210> 128
          <211>9
          <212> PRT
 5
          <213> Homo sapiens
          <400> 128
                                    Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
10
         <210> 129
          <211> 107
          <212> PRT
          <213> Homo sapiens
15
          <400> 129
                      Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
                      Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
                                  20
                      Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                      Tyr His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                      Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
                                           70
                      Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg
                      Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                                  100
          <210> 130
20
          <211> 11
          <212> PRT
          <213> Homo sapiens
25
          <400> 130
                                Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala Val Ala
          <210> 131
30
          <211> 7
         <212> PRT
          <213> Homo sapiens
         <400> 131
35
                                         His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
                                                          5
          <210> 132
          <211>9
40
          <212> PRT
```

	<213> H	omo sapi	ens														
	<400> 13	32															
					_	ln Gl	Ln Aı	rg Ty	_	er Le	eu Ti	rp Aı	rg Tl	nr			
5					1				5								
10	<210> 13 <211> 1 <212> P <213> H	18	ens														
	<400> 13	33															
		Gla 1	n Val	Gln	Leu	Val 5	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu 10	Val	Lys	Lys	Pro	Gly 15	Ala
		Se	r Val	Lys	Val 20	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser 25	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr 30	Ser	Tyr
		Тy	r Met	His 35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala 40	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu 45	Glu	Trp	Met
		Gl	y Glu 50	Ile	His	Pro	Ser	Gly 55	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr 60	Asn	Glu	Lys	Phe
		Ly: 65	s Ser	Arg	Val	Thr	<b>Met</b> 70	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser 75	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr 80
		Met	t Glu	Leu	Ser	Ser 85	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
		Ala	a Arg	Glu	Arg 100	Pro	Leu	Tyr	Ala	Ser 105	Asp	Leu	Trp	Gly	Gln 110	Gly	Thr
		Th	r Val	Thr 115	Val	Ser	Ser										
15	<210> 13 <211> 10 <212> P <213> H	)	ens														
20	<400> 13		5110														
	V+002 10	<b>,</b> -			Gly 1	Tyr	Thr	Phe	Thr 5	Ser	Tyr	Tyr	Met	His 10			
25	<210> 13 <211> 13 <212> P <213> H	7	ens														
30	<400> 13	35															
		G1: 1	u Ile	His	Pro	Ser 5	Gly	Gly	Arg	Thr	Asn 10	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe 15	Lys
		Se	r														
	<210> 13	36															

```
<211>9
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
 5
         <400> 136
                                    Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu
         <210> 137
         <211> 107
10
         <212> PRT
         <213> Homo sapiens
         <400> 137
15
                      Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
                                                 10
                     Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala
                     Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                      Tyr His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                                              55
                      Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
                      Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg
                                                           90
                      Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
                                  100
         <210> 138
         <211> 11
         <212> PRT
20
         <213> Homo sapiens
         <400> 138
                                Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala Val Ala
25
         <210> 139
         <211>7
         <212> PRT
30
         <213> Homo sapiens
         <400> 139
                                        His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
35
         <210> 140
         <211>9
         <212> PRT
40
         <213> Homo sapiens
```

	<400> 140																
					G: 1	Ln G	ln Ai	g Ty	yr Se 5	er Le	eu Ti	rp Aı	rg Tl	nr			
5	<210> 141 <211> 118 <212> PRT <213> Mus m	usculi	us		•				J								
10	<400> 141																
		Gln 1	Val	Gln	Leu	Gln 5	Gln	Pro	Gly	Ala	Glu 10	Leu	Val	Lys	Pro	Gly 15	Ala
		Ser	Val	Lys	Leu 20	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser 25	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr 30	Ser	Туг
		Trp	Met	His 35	Trp	Val	Lys	Gln	Arg 40	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu 45	Glu	Trp	Ιlε
		Gly	Glu 50	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn 55	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr 60	Asn	Glu	Lys	Phe
		Lys 65	Ser	Lys	Ala	Thr	<b>Le</b> u 70	Thr	Val	Asp	Lys	Ser 75	Ser	Ser	Thr	Ala	Туг 80
		Met	Gln	Leu	Ser	Ser 85	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp 90	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Суя
		Ala	Arg	Glu	Arg 100	Pro	Leu	Tyr	Ala	Met 105	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln 110	Gly	Thr
		Ser	Val	Thr 115	Val	Ser	Ser										
15	<210> 142 <211> 7 <212> PRT <213> Mus m	usculi	us														
00	<400> 142																
20						G: 1	ly Ty	yr Tl	ar Pl	he Ti	nr Se	er Ty	yr				
25	<210> 143 <211> 6 <212> PRT <213> Mus m	usculı	us														
	<400> 143																
30							Asn 1	Pro	Ser	Asn	Gly 5	Arg					
35	<210> 144 <211> 9 <212> PRT <213> Mus m	usculi	us														
	<400> 144																

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr

# <210> 145 5 <211> 108 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 145 10 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg 100 <210> 146 <211> 11 15 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 146 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala 20 <210> 147 <211>7 <212> PRT <213> Secuencia artificial 25 <220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR de la cadena ligera variable <400> 147 30 Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr <210> 148 <211>9 <212> PRT 35 <213> Mus musculus <400> 148

Gln Gln Arg Tyr Ser Thr Pro Arg Thr

# 5 <210> 149 <211> 115 <212> PRT 5 <213> Mus musculus <400> 149 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr 25 Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95 Ala Arg Trp Leu Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr 10 Val Ser Ala 115 <210> 150 <211>7 <212> PRT 15 <213> Mus musculus <400> 150 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr 20 <210> 151 <211>6 <212> PRT 25 <213> Mus musculus <400> 151 Asn Pro Asn Asn Gly Gly 30 <210> 152 <211>6 <212> PRT <213> Mus musculus 35 <400> 152 Trp Leu Leu Phe Ala Tyr

5

```
<210> 153
          <211> 108
          <212> PRT
          <213> Mus musculus
 5
          <400> 153
                      Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
                      Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
                                   20
                      Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Ala Leu Ile
                      Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
                      Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Leu Ser
                      65 70 75 80 Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Tyr Pro Tyr
                      Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
10
          <210> 154
          <211> 11
          <212> PRT
          <213> Mus musculus
15
          <400> 154
                                Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
          <210> 155
20
          <211>7
          <212> PRT
          <213> Mus musculus
25
          <400> 155
                                         Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
                                                         5
          <210> 156
          <211>9
30
          <212> PRT
          <213> Mus musculus
          <400> 156
35
                                     Gln Gln Phe Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
                                                      5
          <210> 157
          <211> 123
          <212> PRT
40
          <213> Mus musculus
          <400> 157
```

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr 20 25 Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr 65 70 75 80 Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Gly Ile Tyr Tyr Arg Tyr Asp Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr 105 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser 120 5 <210> 158 <211>7 <212> PRT <213> Mus musculus 10 <400> 158 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr <210> 159 <211>6 15 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 159 20 Asn Pro Asn Asn Gly Gly 5 <210> 160 <211> 14 25 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 160 Gly Gly Ile Tyr Tyr Arg Tyr Asp Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr 5 30 <210> 161 <211> 107 <212> PRT 35 <213> Mus musculus <400> 161

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro 70 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 100 <210> 162 5 <211> 11 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 162 Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Asn 10 <210> 163 <211>7 <212> PRT 15 <213> Mus musculus <400> 163 Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser 20 <210> 164 <211>9 <212> PRT <213> Secuencia artificial 25 <220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético <400> 164 30 Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Phe Thr 5 <210> 165 <211> 117 35 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 165

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr 20 25 30
Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Val Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Asn Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Ser Tyr Leu Asp Ser Leu 55 Lys Ser Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Phe Ala Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser 105 Val Thr Val Ser Ser 115 <210> 166 5 <211>7 <212> PRT <213> Mus musculus <400> 166 10 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr <210> 167 <211>6 <212> PRT 15 <213> Mus musculus <400> 167 Asn Tyr Asp Gly Ser Asn 20 5 <210> 168 <211>8 <212> PRT 25 <213> Mus musculus <400> 168 Glu Lys Phe Ala Ala Met Asp Tyr 5 30 <210> 169 <211> 108 <212> PRT <213> Mus musculus 35 <400> 169 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Phe Gly

```
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ala
                       Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Leu Leu Ile
                       Phe Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
                       Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
                       Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
                       Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
                                    100
          <210> 170
          <211> 11
          <212> PRT
 5
          <213> Mus musculus
          <400> 170
                                  Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ala Leu Ala
10
          <210> 171
          <211>7
          <212> PRT
15
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético de CDR de la cadena ligera variable
          <400> 171
20
                                           Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
          <210> 172
          <211>9
25
          <212> PRT
          <213> Mus musculus
          <400> 172
30
                                      Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
          <210> 173
          <211> 121
35
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético
40
          <400> 173
```

			Glu 1	Val	Gln	Leu	Val 5	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly 10	Leu	Val	Gln	Pro	Gly 15	Gly
			Ser	Leu	Arg	Leu 20	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser 25	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr 30	Arg	His
			Thr	Ile	His 35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala 40	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu 45	Glu	Trp	Val
			Ala	Arg 50	Ile	Ser	Pro	Ala	Asn 55	Gly	Asn	Thr	Asn	<b>Tyr</b> 60	Ala	Asp	Ser	Val
			Lys 65	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile 70	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser 75	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr 80
			Leu	Gln	Met	Asn	Ser 85	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
			Ala	Arg	Trp	Ile 100	Gly	Ser	Arg	Glu	Leu 105	Tyr	Ile	Met	Asp	Tyr 110	Trp	Gly
			Gln	Gly	Thr 115	Leu	Val	Thr	Val	Ser 120	Ser							
5	<210><211><212><212><213>	10	ıcia aı	rtificia	ıl													
10	<220> <223>	Descrip	ción (	de la	secue	encia	artific	cial: F	éptid	o sint	ético							
10	<400>	174																
						Gly 1	Phe	Thr	Phe	Thr 5	Arg	His	Thr	Ile	His 10			
15	<210><211><212><212><213>	17	ıcia aı	rtificia	ıl													
20	<220>	Descrip	ción (	de la	SACII	encia	artifi	rial· F	Péntid	o sint	ético							
	<400>		CIOIT	uc iu	3000	Jilola	artin	Jiai. i	Ориа	0 3111	Clioo							
25			Arg 1	Ile	Ser	Pro	Ala 5		Gly	Asn	Thr	Asn 1	_	Ala	Asp	Ser	Val 1	_
			G	ly														
30	<210><211><211><212><213>	12	ıcia aı	rtificia	ıl													
25	<220> <223>	Descrip	ción (	de la	secue	encia	artific	cial: F	éptid	o sint	ético							
35	<400>	176																

				Trp 1	Ile	Gly	Ser	Arg 5	Glu	Leu	Tyr	Ile	Met 10	Asp	Tyr		
5	<210> 177 <211> 108 <212> PRT <213> Secuer	ncia ai	tificia	al													
10	<220> <223> Descrip	oción (	de la	secu	encia	artific	cial: F	olipé	ptido	sinté	tico						
	<400> 177																
		Asp 1	Ile	Gln	Met	Thr 5	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser 10	Leu	Ser	Ala	Ser	Val 15	Gly
		Asp	Arg	Val	Thr 20	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala 25	Ser	Gln	Asp	Val	Ser 30	Thr	Ala
		Val	Ala	Trp 35	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro 40	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys 45	Leu	Leu	Ile
		Tyr	Ser 50	Ala	Ser	Phe	Leu	<b>Tyr</b> 55	Ser	Gly	Val	Pro	Ser 60	Arg	Phe	Ser	Gly
		Ser 65	Gly	Ser	Gly	Thr	<b>As</b> p 70	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile 75	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro 80
		Glu	Asp	Phe	Ala	Thr 85	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln 90	Ser	Tyr	Arg	Ile	Gln 95	Pro
4.5		Thr	Phe	Gly	Gln 100	Gly	Thr	Lys	Val	Glu 105	Ile	Lys	Arg				
15	<210> 178 <211> 11 <212> PRT <213> Secuer	ncia ai	tificis	al													
20	<220> <223> Descrip				encia	artific	cial: F	Péptid	o sint	tético							
	<400> 178																
25				A: 1	rg A	la Se	er G	Ln As	sp Va	al Se	er Tl	nr A	la Va 1		la		
30	<210> 179 <211> 7 <212> PRT <213> Secuer	ncia aı	tificia	al													
35	<220> <223> Descrip	oción (	de la	secu	encia	artific	cial: F	Péptid	o sint	tético							
	<400> 179					S€ 1	er Al	La Se	er Pl	ne Le 5	eu Ty	yr Se	er				
40	<210> 180 <211> 9																

```
<212> PRT
           <213> Secuencia artificial
           <220>
 5
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 180
                                        Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Gln Pro Thr
                                                          5
10
           <210> 181
           <211> 121
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
15
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético
           <400> 181
20
                        Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
                        Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Thr
                        Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                        Ala Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
                        50 \phantom{000}55 \phantom{000}60 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
                        Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                        Ala Arg Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr Trp Gly
                                                             105
                        Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
           <210> 182
25
           <211> 10
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
30
           <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
           <400> 182
                                      Gly Phe Thr Phe Ser Ser Thr Ala Ile His
                                                        5
35
           <210> 183
           <211> 17
           <212> PRT
           <213> Secuencia artificial
40
```

```
<220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 183
 5
                       Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
                       Gly
          <210> 184
          <211> 12
10
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
15
          <400> 184
                                Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr
                                                  5
20
          <210> 185
          <211> 108
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
25
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético
          <400> 185
                       Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
                       Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
                                                           25
                       Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                        Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
                        Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
                       Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Pro Ala Leu His
                        Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
30
                                     100
                                                           105
          <210> 186
          <211> 11
          <212> PRT
35
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
```

<400> 186 Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala 5 <210> 187 <211>7 <212> PRT <213> Secuencia artificial 10 <220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético <400> 187 15 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser 5 1 <210> 188 20 <211>9 <212> PRT <213> Secuencia artificial 25 <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético <400> 188 Gln Gln Ser Tyr Pro Ala Leu His Thr 5 30 <210> 189 <211> 125 <212> PRT <213> Secuencia artificial 35 <220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético <400> 189

		Glu 1	Val	Gln	Leu	Val 5	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly 10	Leu	Val	Lys	Pro	Gly 15	Gly
		Ser	Leu	Arg	Leu 20	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser 25	Gly	Phe	Pro	Phe	Ser 30	Lys	Leu
		Gly	Met	Val 35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala 40	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu 45	Glu	Trp	Val
		Ser	Thr 50	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly 55	Gly	Tyr	Thr	Tyr	Tyr 60	Pro	Asp	Ser	Val
		Lys 65	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile 70	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala 75	Lys	Asn	Ser	Leu	<b>Tyr</b> 80
		Leu	Gln	Met	Asn	Ser 85	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys
		Ala	Arg	Glu	Gly 100	Ile	Ser	Phe	Gln	Gly 105	Gly	Thr	Tyr	Thr	Tyr 110	Val	Met
		Asp	Tyr	Trp 115	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu 120	Val	Thr	Val	Ser	Ser 125			
5	<210> 190 <211> 10 <212> PRT <213> Secu		a artifi	cial													
	<220> <223> Desc	cripció	ón de	la se	cuen	cia ar	tificia	l: Pép	otido s	sintéti	со						
10	<400> 190																
					Gly 1	Phe	Pro	Phe	Ser 5	Lys	Leu	Gly	Met	Val 10			
15	<210> 191 <211> 17 <212> PRT <213> Secu		a artifi	cial													
20	<220> <223> Desc	cripció	ón de	la se	cuen	cia ar	tificia	l: Pép	otido s	sintéti	со						
	<400> 191																
		Thr 1	Ile	Ser	Ser	Gly 5	Gly	Gly	Tyr	Thr	<b>Tyr</b> 10	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val 15	Lys
25		Gly															
20	<210> 192 <211> 16 <212> PRT <213> Secu		ortifi	oiol													
30	<220> <223> Desc				cuen	cia ar	tificia	l: Pér	otido s	sintéti	со						
35	<400> 192	•						,									

```
Glu Gly Ile Ser Phe Gln Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Val Met Asp Tyr
                                                             10
          <210> 193
 5
          <211>112
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético
10
          <400> 193
                     Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
                                                             10
                     Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Arg
                                                        25
                     Asn Gly Ile Thr Tyr Ser Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
                     35 40 45 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Leu Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
                         50
                                                55
                     Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
                     Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Asn
                     Leu Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                                                        105
15
          <210> 194
          <211> 16
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
20
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
          <400> 194
25
                     Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Arg Asn Gly Ile Thr Tyr Ser Tyr
                                       5
          <210> 195
          <211>7
30
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
          <220>
          <223> Descripción de la secuencia artificial: Péptido sintético
35
          <400> 195
                                         Gln Leu Ser Asn Leu Ala Ser
                                                           5
40
          <210> 196
          <211>9
          <212> PRT
          <213> Secuencia artificial
```

	<220> <223> Descripción de la se	ecuencia	artifi	cial: F	Péptic	lo sin	tético			
5	<400> 196									
		Tyr 1	Gln	Asn	Leu	Glu 5	Leu	Pro	Leu	Thr
10	<210> 197 <211> 2076 <212> ADN <213> Homo sapiens									
15	<400> 197									

atgggcaccg	tcagctccag	geggteetgg	tggccgctgc	cactgctgct	gctgctgctg	60
ctgctcctgg	gtcccgcggg	cgcccgtgcg	caggaggacg	aggacggcga	ctacgaggag	120
ctggtgctag	ccttgcgttc	cgaggaggac	ggcctggccg	aagcacccga	gcacggaacc	180
acagccacct	tccaccgctg	cgccaaggat	ccgtggaggt	tgcctggcac	ctacgtggtg	240
gtgctgaagg	aggagaccca	cctctcgcag	tcagagcgca	ctgcccgccg	cctgcaggcc	300
caggetgeec	gccggggata	cctcaccaag	atcctgcatg	tcttccatgg	ccttcttcct	360
ggcttcctgg	tgaagatgag	tggcgacctg	ctggagctgg	ccttgaagtt	gccccatgtc	420
gactacatcg	aggaggactc	ctctgtcttt	gcccagagca	tcccgtggaa	cctggagcgg	480
attacccctc	cacggtaccg	ggcggatgaa	taccagcccc	ccgacggagg	cagcctggtg	540
gaggtgtatc	tcctagacac	cagcatacag	agtgaccacc	gggaaatcga	gggcagggtc	600
atggtcaccg	acttcgagaa	tgtgcccgag	gaggacggga	cccgcttcca	cagacaggcc	660
agcaagtgtg	acagtcatgg	cacccacctg	gcaggggtgg	tcagcggccg	ggatgccggc	720
gtggccaagg	gtgccagcat	gcgcagcctg	cgcgtgctca	actgccaagg	gaagggcacg	780
gttagcggca	ccctcatagg	cctggagttt	attcggaaaa	gccagctggt	ccagcctgtg	840
gggccactgg	tggtgctgct	gcccctggcg	ggtgggtaca	gccgcgtcct	caacgccgcc	900
tgccagcgcc	tggcgagggc	tggggtcgtg	ctggtcaccg	ctgccggcaa	cttccgggac	960
gatgcctgcc	tctactcccc	agcctcagct	cccgaggtca	tcacagttgg	ggccaccaat	1020
gcccaagacc	agccggtgac	cctggggact	ttggggacca	actttggccg	ctgtgtggac	1080
ctctttgccc	caggggagga	catcattggt	gcctccagcg	actgcagcac	ctgctttgtg	1140
tcacagagtg	ggacatcaca	ggctgctgcc	cacgtggctg	gcattgcagc	catgatgctg	1200
tctgccgagc	cggagctcac	cctggccgag	ttgaggcaga	gactgatcca	cttctctgcc	1260
aaagatgtca	tcaatgaggc	ctggttccct	gaggaccagc	gggtactgac	ccccaacctg	1320
gtggccgccc	tgccccccag	cacccatggg	gcaggttggc	agctgttttg	caggactgta	1380
tggtcagcac	actcggggcc	tacacggatg	gccacagccg	tcgcccgctg	cgccccagat	1440
gaggagctgc	tgagctgctc	cagtttctcc	aggagtggga	agcggcgggg	cgagcgcatg	1500
gaggcccaag	ggggcaagct	ggtctgccgg	gcccacaacg	cttttggggg	tgagggtgtc	1560
tacgccattg	ccaggtgctg	cctgctaccc	caggccaact	gcagcgtcca	cacageteca	1620
ccagctgagg	ccagcatggg	gacccgtgtc	cactgccacc	aacagggcca	cgtcctcaca	1680
ggctgcagct	cccactggga	ggtggaggac	cttggcaccc	acaageegee	tgtgctgagg	1740
ccacgaggtc	agcccaacca	gtgcgtgggc	cacagggagg	ccagcatcca	cgcttcctgc	1800
tgccatgccc	caggtctgga	atgcaaagtc	aaggagcatg	gaatcccggc	ccctcaggag	1860
caggtgaccg	tggcctgcga	ggagggctgg	accctgactg	gctgcagtgc	cctccctggg	1920
acctcccacg	tcctgggggc	ctacgccgta	gacaacacgt	gtgtagtcag	gageegggae	1980
gtcagcacta	caggcagcac	cagcgaaggg	gccgtgacag	ccgttgccat	ctgctgccgg	2040
agccggcacc	tggcgcaggc	ctcccaggag	ctccag			2076

5

<sup>&</sup>lt;210> 198 <211> 692 <212> PRT

010	11	
<<13>	HOITIO	sapiens

<40	0>	198

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

- Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ala Arg Ala Gln Glu 20 25 30
- Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu 35 40
- Glu Asp Gly Leu Ala Glu Ala Pro Glu His Gly Thr Thr Ala Thr Phe 50 60
- His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val 65 70 75 80
- Val Leu Lys Glu Glu Thr His Leu Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg 85 90 95
- Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu 100 105 110
- His Val Phe His Gly Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met Ser Gly 115 120
- Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr Ile Glu
- Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg 145 150 155 160
- Ile Thr Pro Pro Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro Asp Gly
- Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln Ser Asp 180 185 190

His	Arg	Glu 195	Ile	Glu	Gly	Arg	<b>Val</b> 200	Met	Val	Thr	Asp	Phe 205	Glu	Asn	Val
Pro	Glu 210	Glu	Asp	Gly	Thr	Arg 215	Phe	His	Arg	Gln	Ala 220	Ser	Lys	Cys	Asp
Ser 225	His	Gly	Thr	His	Leu 230	Ala	Gly	Val	Val	Ser 235	Gly	Arg	Asp	Ala	Gly 240
Val	Ala	Lys	G1y	Ala 245	Ser	Met	Arg	Ser	Leu 250	Arg	Val	Leu	Asn	Cys 255	Gln
Gly	Lys	Gly	Thr 260	Val	Ser	G1y	Thr	Leu 265	Ile	Gly	Leu	Glu	Phe 270	Ile	Arg
Lys	Ser	Gln 275	Leu	Val	Gln	Pro	<b>Val</b> 280	Gly	Pro	Leu	Val	Val 285	Leu	Leu	Pro
Leu	Ala 290	Gly	Gly	Tyr	Ser	Arg 295	Val	Leu	Asn	Ala	Ala 300	Cys	Gln	Arg	Leu
<b>Ala</b> 305	Arg	Ala	Gly	Val	<b>Val</b> 310	Leu	Val	Thr	Ala	<b>Ala</b> 315	Gly	Asn	Phe	Arg	<b>Asp</b> 320
Asp	Ala	Суз	Leu	Tyr 325	Ser	Pro	Ala	Ser	<b>Ala</b> 330	Pro	Glu	Val	Ile	Thr 335	Val
Gly	Ala	Thr	Asn 340	Ala	Gln	Asp	Gln	Pro 345	Val	Thr	Leu	Gly	Thr 350	Leu	Gly
Thr	Asn	Phe 355	Gly	Arg	Cys	Val	<b>Asp</b> 360	Leu	Phe	Ala	Pro	Gly 365	Glu	Asp	Ile
Ile	Gly 370	Ala	Ser	Ser	Asp	Cys 375	Ser	Thr	Cys	Phe	Val 380	Ser	Gln	Ser	Gly
Thr 385	Ser	Gln	Ala	Ala	Ala 390	His	Val	Ala	Gly	Ile 395	Ala	Ala	Met	Met	Leu 400
Ser	Ala	Glu	Pro	Glu 405	Leu	Thr	Leu	Ala	Glu 410	Leu	Arg	Gln	Arg	<b>Leu</b> 415	Ile
His	Phe	Ser	Ala 420	Lys	Asp	Val	Ile	Asn 425	Glu	Ala	Trp	Phe	Pro 430	Glu	Asp

His	Gly 450	Ala	Gly	Trp	Gln	Leu 455	Phe	Cys	Arg	Thr	Val 460	Trp	Ser	Ala	His
Ser 465	Gly	Pro	Thr	Arg	Met 470	Ala	Thr	Ala	Val	Ala 475	Arg	Cys	Ala	Pro	Asp 480
Glu	Glu	Leu	Leu	Ser 485	Cys	Ser	Ser	Phe	Ser 490	Arg	Ser	Gly	Lys	Arg 495	Arg
Gly	Glu	Arg	<b>M</b> et 500	Glu	Ala	Gln	Gly	Gly 505	Lys	Leu	Val	Сув	Arg 510	Ala	His
Asn	Ala	Phe 515	Gly	Gly	Glu	Gly	<b>Val</b> 520	Tyr	Ala	Ile	Ala	<b>A</b> rg 525	Cys	Cys	Leu
Leu	Pro 530	Gln	Ala	Asn	Cys	Ser 535	Val	His	Thr	Ala	Pro 540	Pro	Ala	Glu	Ala
Ser 545	Met	Gly	Thr	Arg	Val 550	His	Cys	His	Gln	G1n 555	Gly	His	Val	Leu	Thr 560
Gly	Cys	Ser	Ser	His 565	Trp	Glu	Val	Glu	Asp 570	Leu	Gly	Thr	His	Lys 575	Pro
Pro	Val	Leu	Arg 580	Pro	Arg	Gly	Gln	Pro 585	Asn	Gln	Cys	Val	Gly 590	His	Arg
Glu	Ala	<b>Ser</b> 595	Ile	His	Ala	Ser	Cys 600	Cys	His	Ala	Pro	Gly 605	Leu	Glu	Cys
Lys	Val 610	Lys	Glu	His	Gly	Ile 615	Pro	Ala	Pro	Gln	Glu 620	Gln	Val	Thr	Val
Ala 625	Cys	Glu	Glu	Gly	Trp 630	Thr	Leu	Thr	Gly	<b>Cys</b> 635	Ser	Ala	Leu	Pro	Gly 640
Thr	Ser	His	Val	Leu 645	Gly	Ala	Tyr	Ala	Val 650	Asp	Asn	Thr	Cys	Val 655	Val
Arg	Ser	Arg	<b>Asp</b> 660	Val	Ser	Thr	Thr	Gly 665	Ser	Thr	Ser	Glu	Gly 670	Ala	Val
Thr	Ala	<b>Val</b> 675	Ala	Ile	Cys	Cys	Arg 680	Ser	Arg	His	Leu	Ala 685	Gln	Ala	Ser

Gln Glu Leu Gln 690

#### REIVINDICACIONES

- 1. Una composición farmacéutica que comprende 75 mg o 150 mg de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a PCSK9 humano para su uso en el tratamiento de hipercolesterolemia en un paciente que es intolerante a las estatinas o que tiene antecedentes de reacciones adversas a la terapia con estatinas, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las CDRs de la cadena ligera y pesada que tienen SEQ ID NOs: 2, 3, 4, 7, 8 y 10, y en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administra en ausencia de terapia con estatinas a una frecuencia de una vez cada dos o cuatro semanas a una dosis de 75 mg o de una vez cada dos o cuatro semanas a una dosis de 150 mg.
- La composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 1, en donde el paciente experimentó previamente un síntoma relacionado con los músculos esqueléticos que empezaron o aumentaron mientras que tomaba una dosis diaria autorizada más baja de una o más estatinas.
  - 3. La composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 1 o 2, en donde el paciente experimentó previamente un síntoma relacionado con los músculos esqueléticos que empezaron o aumentaron mientras que tomaba al menos dos regímenes de estatinas terapéuticas diarios separados.
- 4. La composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 3, en donde al menos uno de los regímenes de estatinas terapéuticas diarios es
  - (a) la dosis diaria autorizada más baja de una estatina; o

5

20

- (b) se selecciona del grupo que consiste en: 5 mg de rosuvastatina al día, 10 mg de atorvastatina al día, 10 mg de simvastatina al día, 20 mg de lovastatina al día, 40 mg de pravastatina al día, 40 mg de fluvastatina al día, y 2 mg de pitavastatina al día.
- 5. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, presenta hipercolesterolemia definida como un nivel de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en suero superior a aproximadamente 70 mg/dL o superior a aproximadamente 100 mg/dL.
- 6. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el paciente tiene hipercolesterolemia familiar heterocigótica (HFhe) o una forma de hipercolesterolemia que es hipercolesterolemia no familiar (H no F).
  - 7. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el paciente tiene un riesgo cardiovascular moderado, alto o muy alto.
- 30 8. La composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 7, en donde el paciente, antes o en el momento de la administración del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene
  - (a) un riesgo cardiovascular moderado definido como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de enfermedad cardiovascular mortal superior o igual a 1 % e inferior a 5 %;
- (b) un riesgo cardiovascular alto definido como una PUNTUACIÓN calculada de riesgo de 10 años de enfermedad cardiovascular mortal superior o igual a 5 % junto con uno o más de: (i) enfermedad renal crónica moderada, (ii) diabetes mellitus de tipo 1 sin daño de órganos afectados, (iii) diabetes mellitus de tipo 2 sin daño de órganos afectados, y/o (iv) HFhe; o (c) un riesgo cardiovascular muy alto definido como uno o más de: (i) enfermedad cardíaca coronaria documentada; (ii) accidente cerebrovascular isquémico; (iii) accidente cerebrovascular periférico; (iv) enfermedad arterial periférica (EAP); (v) ataque isquémico transitorio (AIT); (vi) aneurisma de la aorta abdominal; (vii) oclusión de la arteria carótida >50 % sin síntomas; (viii) endarterectomía carotídea; (ix) procedimiento de prótesis endovascular de la arteria carótida; (x) estenosis de la arteria renal; (xi) procedimiento de prótesis endovascular de la arteria renal; (xii) diabetes mellitus de tipo 1 con daño de órganos afectados; y/o (xiii) diabetes mellitus de tipo 2 con daño de órganos afectados.
- 9. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una HCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una LCVR que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.
  - 10. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde se administran cinco dosis iniciales de la composición farmacéutica que comprende 75 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo cada dos semanas, y en donde
- (a) una o más dosis adicionales de la composición farmacéutica que comprende 75 mg del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se administran cada dos semanas si el nivel de C-LDL del paciente después de las dosis iniciales es inferior a 70 mg/dL; o
  - (b) una o más dosis adicionales de la composición farmacéutica que comprende 150 mg del anticuerpo o fragmento

de unión al antígeno del mismo se administran cada dos semanas si el nivel de C-LDL del paciente después de las dosis iniciales es mayor o igual a 70 mg/dL.

- 11. Composición farmacéutica para el uso en una de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la composición farmacéutica mejora los niveles en suero de uno o más componentes lipídicos seleccionados del grupo que consiste en:
  - (a) reducción del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) del paciente en al menos 35 %;
  - (b) reducción de la apolipoproteína B (ApoB) del paciente en al menos 25 %;
  - (c) reducción del colesterol no de las lipoproteínas de alta densidad (C no HDL) del paciente en al menos 30 %;
  - (d) reducción del colesterol total del paciente en al menos 20 %; y

5

(e) reducción de la lipoproteína a (Lp(a)) del paciente en al menos 15 %.

Figura 1

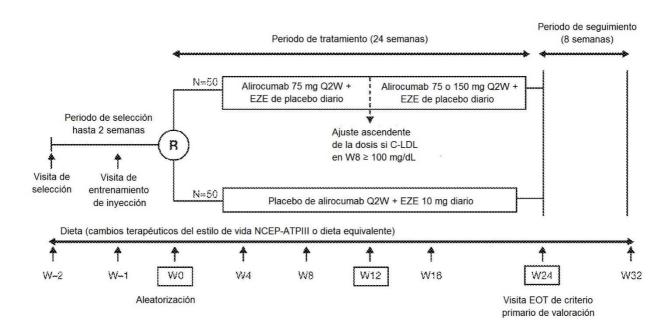
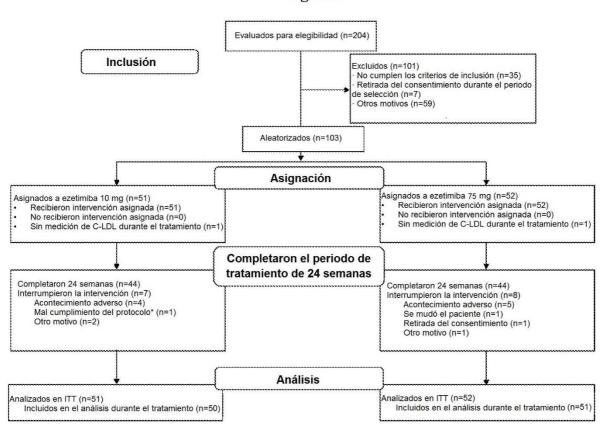


Figura 2



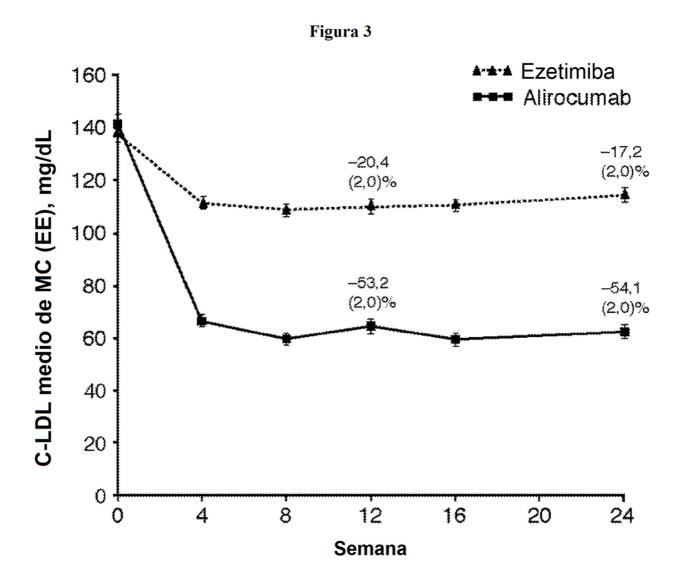
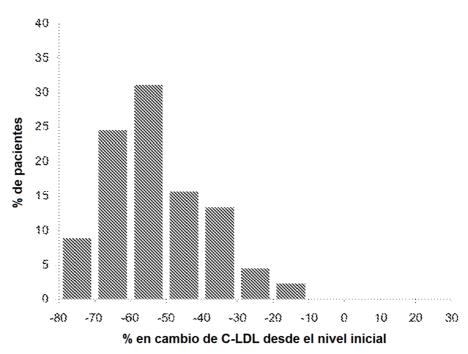


Figura 4

#### A. Semana 12, alicorumab



### B. Semana 24, alirocumab

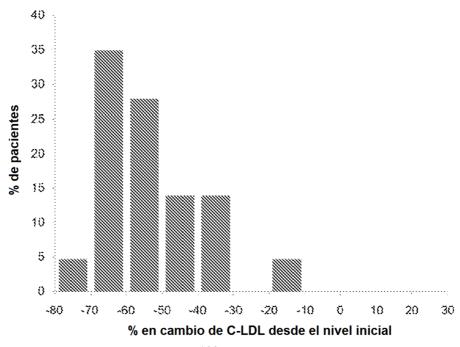
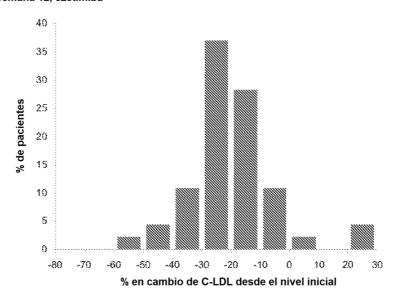


Figura 4

#### C. Semana 12, ezetimiba



### D. Semana 24, ezetimiba

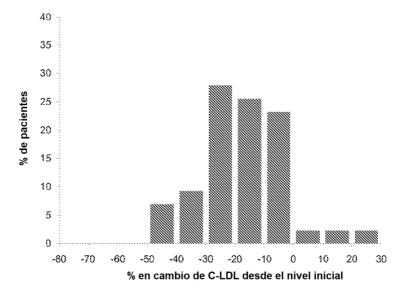


Figura 5

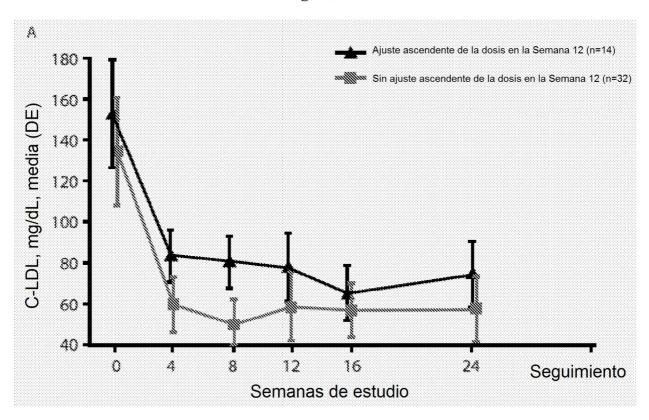
A			Favorece alirocumab	Favorece ezetimiba
Cambio en porcentaje desde el nivel inicial en C- LDL en la semana 24 (%)	N	Diferencia media de MC (IC del 95%)		
Total	103	-31,6 (-40,2 a -23,0)		
Factores de subgrupo				
Sexo				
Masculino	55	-39,3 (-50,8 a -27,8)		
Femenino	48	-22,3 (-34,8 a -9,9)	<del>  • • • • • • • • • • • • • • • • • • •</del>	
Edad (años)				
<65	84	-31,5 (-41,1 a -21,8)		
≥65	19	-31,5 (-51,7 a -11,4)		
IMC (kg/m <sup>2</sup> )				
<30	65	-31,9 (-42,7 a -21,1)		
≤30	38	-28,0 (-42,4 a -13,5)		
Región				
América del Norte	49	-27,9 (-40,5 a -15,2)		
Europa Occidental	54	-35,5 (-47,3 a -23,7)		
			-60 -50 -40 -302010	0 10 20 30
			Diferencia media de MC e IC	C del 95 %

Figura 5

В			Favorece alirocumab	Favorece ezetimiba
Cambio en porcentaje desde el nivel inicial en C- LDL en la semana 24 (%)	N	Diferencia media de MC (IC del 95%)	F E E F E	
Total	103	-31,6 (-40,2 a -23,0)		
Factores de subgrupo			1	
C-LDL en el nivel inicial				
<130 mg/dL/<3,37 mmol/L	30	-36,7 (-52,6 a -20,7)		
≥130 a <160 mg/dL	50	-31,9 (-44,4 a -19,4)		
≥3,37 a < 4,14 mmol/L				
≥160 mg/dL/≥4,14 mmol/L	23	-29,8 (-48,6 a -11,1)		
C-HDL en el nivel inicial				
<40 mg/dL/<1,04 mmol/L	13	-43,9 (-69,6 a -18,1)		
≥ 40 mg/dL/≥ 1,04 mmol/L	90	-29,4 (-38,6 a -20,1)		
TG en ayunas en el nivel inicial			: :	
< 150 mg/dl/< 1,7 mmol/L	73	-25,4 (-35,3 a -15,6)	-	
≥ 150 mg/dL/≥ 1,7 mmol/L	30	-46,8 (-62,3 a -31,4)		
Nivel de PCSK9 total en el nivel	inicial		i	
Por debajo de la mediana	51	-33,7 (-46,2 a -21,2)		
Por encima de la mediana	52	-29,7 (-41,8 a -17,6)		
Nivel de PCSK9 libre en el nivel	l inicial			
Por debajo de la mediana	51	-34,1 (-46,6 a -21,6)		
Por encima de la mediana	51	-29,3 (-41,5 a -17,1)		
Lp(a) en el nivel inicial				
< 30 mg/dL/<0,3 g/L	68	-36,06 (-45,9 a -26,2)		
≥ 30 mg/dL/≥ 0,3 g/L	29	-25,9 (-41,5 a -10,3)		
			-70 -60 -50 -40 -30 -20 -10	0 10 20 30

Diferencia media de MC e IC del 95 %

Figura 6



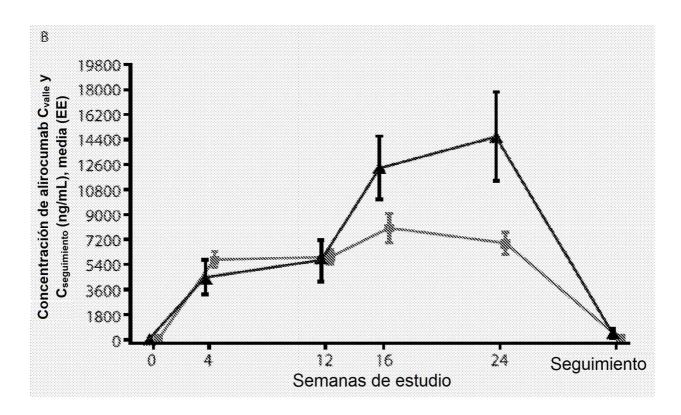
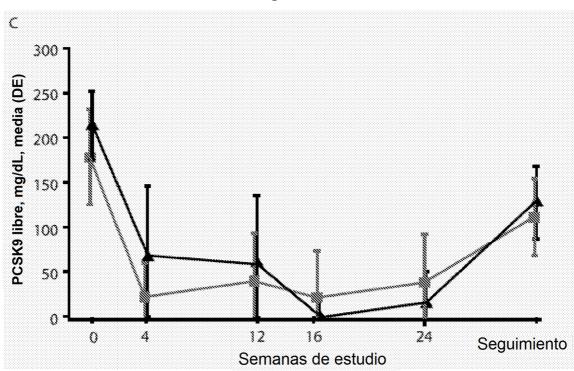


Figura 6



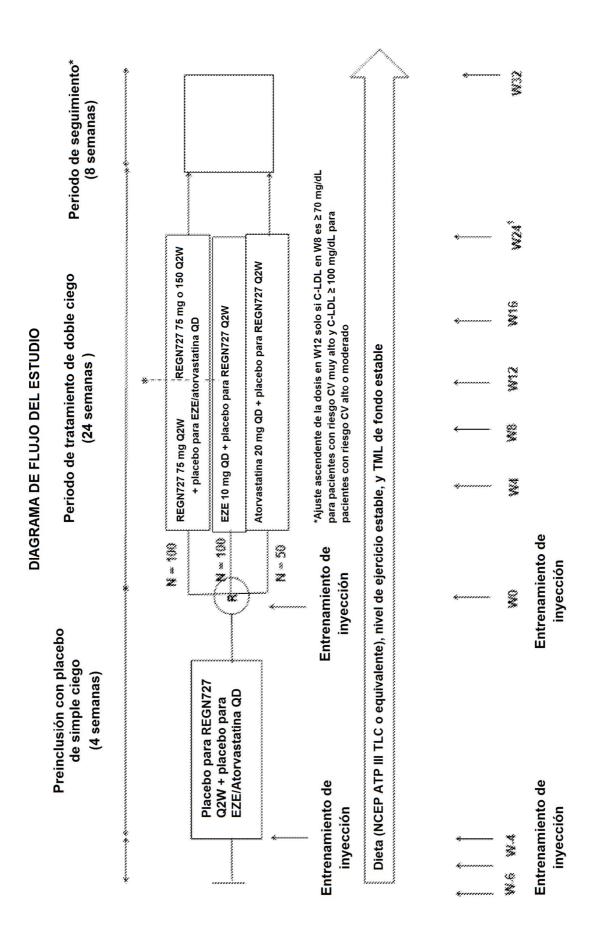


Figura 7