



No. 10-061141- -00009-0000

Fecha: 2013-06-19 16:42:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 15

As. 113.822

Señor

**DIRECTOR DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

E.

S.

D.

REF: Expediente No. **10 61141**– solicitud de patente de invención a favor de **GENENTECH, INC.** Título **PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS POR CROMATOGRFÍA DE INTERCAMBIO CATIÓNICO**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO, portador de la tarjeta profesional No. 57.492 del C.S.J., obrando como apoderado de la sociedad solicitante me permito dar respuesta al oficio número 5391 relacionado con la patentabilidad de la presente invención y notificado por fijación en lista el 19 de Marzo de 2013.

Con el ánimo de subsanar las objeciones planteadas por el señor Examinador, nos permitimos presentar un nuevo pliego reivindicatorio compuesto por 17 reivindicaciones, en donde no se amplía en ningún momento la materia inicialmente divulgada, y se encuentra enteramente sustentado en la descripción. Adjuntamos el recibo correspondiente a las reivindicaciones adicionales.

Claridad

Como primera medida queremos informar a su Despacho que el término “alrededor” ha sido eliminado del pliego reivindicatorio con el fin de superar la objeción al respecto. Ahora bien, en lo que respecta al término “sustancialmente mayor”, el nuevo pliego reivindicatorio establece lo siguiente,

*“eluir el anticuerpo del material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora de elución a una conductividad que es al menos **2 mS/cm mayor** que la de la segunda solución amortiguadora de lavado (...)”*

Consideramos que dicha expresión es completamente clara para el versado en la materia, y por tanto, no debe proceder ninguna objeción al respecto.

El señor Examinador objetó la materia revelada por las anteriores reivindicaciones 3 y 4 al considerar que los elementos funcionales del anticuerpo no caracterizan el método reivindicado. Al respecto, consideramos que el método de purificación objeto de la presente invención se encuentra debidamente definido por la reivindicación independiente 1 (en términos de sus etapas y condiciones), y que en este sentido, el objetivo de las nuevas reivindicaciones 2 y 3 es definir las modalidades preferidas de la invención, es decir, definir cuáles son los anticuerpos que son objeto de purificación mediante la aplicación del método revelado por la reivindicación 1. Lo anterior es completamente claro, y además permite definir características específicas del método reivindicado, tal como puede evidenciarse en el siguiente fragmento de la descripción,

“Preferiblemente, el anticuerpo se une al CD20 humano, tal como rituximab, o se une al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), tal como bevacizumab.”

Ahora bien, nos permitimos mostrar nuestro total desacuerdo frente a la apreciación del señor Examinador según la cual:

“La reivindicación 11 incluye una etapa adicional (...); esta etapa no se encuentra sustentada en el capítulo descriptivo”

al tener en cuenta que la descripción establece claramente que:

*“Opcionalmente, según se desea, **se conjuga el anticuerpo con una o más moléculas**. Por ejemplo, la molécula heteróloga, puede aumentar la vida media sérica del anticuerpo (por ejemplo, polietilenglicol, PEG), o puede ser un marcador (por ejemplo, una enzima, marcador fluorescente y/o radionúclido), o*

una molécula citotóxica (por ejemplo, una toxina, fármaco quimioterapéutico, o isótopo radioactivo, etc.).” (Página 30, líneas 5 a 9 de la publicación PCT)

Por tanto, la materia revelada por la nueva reivindicación 10 se encuentra completamente sustentada en la descripción.

La nueva reivindicación 11 fue modificada con el fin de revelar un método para la preparación de una composición farmacéutica, el cual se lleva a cabo mediante la combinación de la preparación homogénea del anticuerpo, o del anticuerpo conjugado, de las reivindicaciones 9 o 10 con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Así las cosas, damos por superada la objeción al respecto.

En relación con la sugerencia del señor Examinador que hace referencia a la especificación de los parámetros (pH, conductividad, resina y buffer), el nuevo pliego reivindicatorio define debidamente los rangos de pH y conductividad que son de utilidad para el método reivindicado, y así mismo establece la naturaleza de la resina de intercambio al definir puntualmente que la misma debe ser de intercambio **catiónico**, lo cual consideramos completamente claro y conciso. En cuanto a la solución amortiguadora, la naturaleza de la misma no es esencial para el desarrollo del método, toda vez que el aspecto fundamental radica en el pH y la conductividad de la misma.

Ahora bien, las anteriores reivindicaciones 13 y 16 (nuevas reivindicaciones 12 y 15) se encuentran definiendo dos modalidades específicas del método que hace parte de la presente invención. En este sentido, dichas reivindicaciones establecen puntualmente la naturaleza del anticuerpo objeto de purificación, los contaminantes de los cuales es separado dicho anticuerpo, y cada una de las etapas para llevar a cabo el método de purificación.

Teniendo en cuenta lo anterior, no consideramos que exista necesidad alguna relacionada con hacer dichas reivindicaciones dependientes de la reivindicación 1, toda vez que las mismas contemplan la totalidad de características esenciales que definen el método de purificación revelado. En este mismo sentido, es claro que dichas

reivindicaciones no repiten la materia contenida en la reivindicación 1, ya que las mismas corresponden a métodos específicos para dos anticuerpos diferentes.

Las reivindicaciones 19 y 20 fueron eliminadas del pliego reivindicatorio y por tanto damos por superadas las objeciones al respecto.

Así las cosas, la materia divulgada por el pliego reivindicatorio es completamente clara, se encuentra debidamente sustentada en la descripción, y abarca un mismo concepto inventivo relacionado con la purificación de un anticuerpo a partir de una composición que lo contiene.

En consecuencia, solicitamos respetuosamente al señor Examinador aceptar el nuevo pliego reivindicatorio como claro y conciso.

Nivel inventivo

La presente invención se encuentra relacionada con un método mejorado de cromatografía de intercambio catiónico que es de utilidad para la purificación de anticuerpos, en donde se lleva a cabo una etapa de lavado a un alto valor de pH con el fin de permitir una alta remoción de contaminantes previa a la elución del anticuerpo de interés.

En este sentido, el método reivindicado incluye las siguientes etapas:

- a) cargar la composición en un material de intercambio catiónico, en donde la composición se encuentra a un pH de 4.0 a 6.0;*
- b) lavar el material de intercambio catiónico con una primera solución amortiguadora que presenta un pH mayor que el de la composición en (a), en donde el pH de la primera solución amortiguadora de lavado es de 6,8 a 9,0;*
- c) lavar el material de intercambio catiónico con una segunda solución amortiguadora de lavado a un pH que es menor que el de la primera solución amortiguadora de lavado, en donde la segunda solución amortiguadora de*

lavado presenta una conductividad de 0.5 a 3.0 mS/cm y un pH de 5.0 a 6.0; y

- d) eluir el anticuerpo del material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora de elución a una conductividad que es al menos 2 mS/cm mayor que la de la segunda solución amortiguadora de lavado, en donde el pH de la segunda solución amortiguadora de lavado y el pH de la solución amortiguadora de elución es el mismo, y en donde el pH de la solución amortiguadora de elución es de 5.0 a 6.0.*

Así las cosas, la primera etapa corresponde a un lavado en el cual se emplea una solución amortiguadora que presenta un pH de 6.8 a 9.0, que se diferencia del lavado aplicado en los métodos convencionales (en donde el pH usado varía entre 5.0 y 5.5), y deriva en una remoción más eficiente de los contaminantes relacionados con las proteínas celulares del huésped. Al respecto, la descripción establece lo siguiente:

“Se puede mejorar de forma significativa la eficacia de la purificación al incluir al menos dos pasos de lavado en el esquema de purificación de intercambio catiónico, por lo menos el primero del cual es realizado a pH elevado (alrededor de pH 6,8 o superior). En este caso particular, efectuar el primer paso de lavado utilizando una solución tampón de lavado con un pH en el rango de alrededor de 6,8 a 9,0 (por ejemplo, de alrededor de 7,0 a 8,0), como por ejemplo, alrededor de pH 7,8 o alrededor de pH 7,0, los contaminantes, como se describe anteriormente, se eliminan más eficientemente que utilizando un rango convencional menor de pH, de alrededor de 5,0 a 5,5. Como resultado, el contenido de la proteína celular del huésped de la composición, que comprende el anticuerpo eluído del material de intercambio catiónico, es típicamente menor de alrededor de 200 ppm, que se encuentra por debajo del nivel de aproximadamente 500 ppm alcanzado utilizando un paso de lavado a un pH de alrededor de 5 a 5,5.”

Ahora bien, la nueva reivindicación 1 es clara al establecer que el pH de la segunda solución amortiguadora de lavado y el pH de la solución amortiguadora de elución es el mismo, y se encuentra en el rango de 5.0 a 6.0.

De esta manera, el método de la presente invención requiere que se den obligatoriamente las condiciones previamente expuestas con el fin de permitirse la purificación eficiente del anticuerpo de interés.

En este sentido, notamos que el señor Examinador afectó el nivel inventivo de la presente invención mediante las referencias D1 y D2, asegurando que,

“la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría diferentes concentraciones de pH y de conductividad, de acuerdo al documento D2, en el procedimiento de purificación de proteínas del documento D1, o de acuerdo a su trabajo rutinario realizaría las modificaciones necesarias en la concentración de la solución de conductividad y el pH para lograr mayor pureza en los anticuerpos obtenidos, de los procesos de purificación, para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia”

Al respecto, notamos que la referencia **D1 (US 6339142)** se encuentra relacionada con métodos de purificación de proteínas mediante la aplicación de cromatografía de intercambio iónico. En este sentido, notamos que D1 establece claramente que la etapa correspondiente a la primera etapa de lavado de la presente invención debe realizarse con una solución que se encuentra a un pH de **5.4** para fines de separación de contaminantes, es decir, D1 revela una etapa que emplea una solución de lavado que presenta un sustancialmente pH inferior a 6,8 (Párrafo [0102] de D1).

Ahora bien, en relación con el pH de las soluciones empleadas en el lavado, es posible identificar que D1 es claro al establecer que la solución amortiguadora de elución allí empleada presenta un pH que es **mayor** con respecto al pH de la solución amortiguadora de lavado que se emplea en la etapa anterior, es decir, el pH de la solución de lavado es **inferior** al pH de la solución de elución.

En este sentido, D1 revela un método que comprende las siguientes etapas:

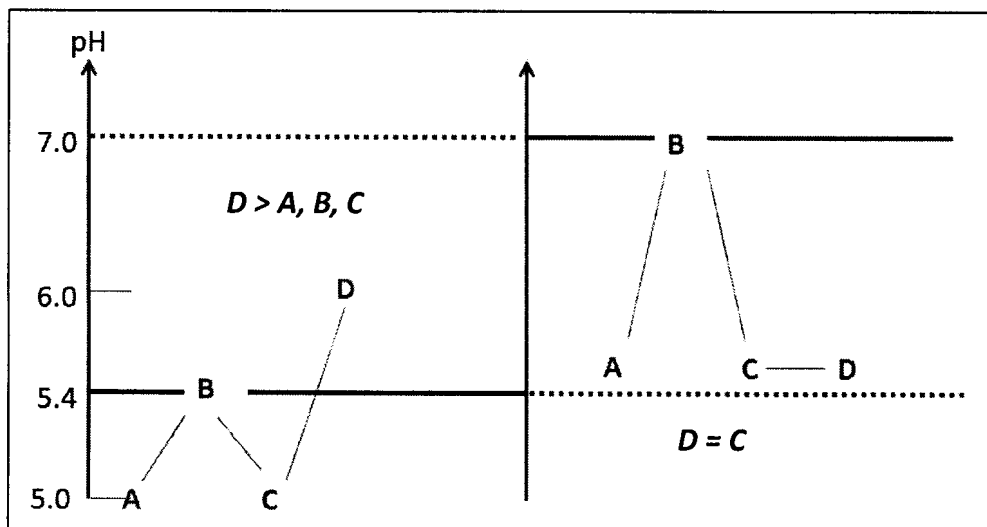
- (a) unión del polipéptido a un material de intercambio catiónico usando una solución amortiguadora de carga, en donde la solución presenta un primer valor de conductividad y pH;

- (b) lavar el material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora intermedia (primer lavado) a una segunda conductividad y/o pH, el cual es mayor que el de la solución amortiguadora de carga para eluir los contaminantes del material de intercambio catiónico;
- (c) lavar el material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora de lavado (segundo lavado) que presenta una tercera conductividad y/o pH es cual es menor que el de la solución amortiguadora intermedia (primer lavado);
y
- (d) lavar el material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora de elución con una cuarta conductividad y/o pH que es mayor que el de la solución amortiguadora intermedia para eluir el polipéptido del material de intercambio iónico.

De esta manera, D1 enseña al normalmente versado en la materia que el pH de la segunda etapa de lavado es menor que el pH de la primera etapa de lavado, y que el pH de la etapa de elución es mayor que el pH de la primera etapa de lavado, lo cual, en definitiva difiere de las enseñanzas de la presente invención.

Así las cosas, D1 revela un proceso que se caracteriza por una variación de pH que difiere sustancialmente del que caracteriza a la presente invención, tal como resumimos a continuación:

D1	Invención
Solución de carga (A): pH 5.0	Solución de carga (A): pH 5.5
Solución intermedia (B): pH 5.4	Primer lavado (B): pH 6.8 a 9.0
Segundo lavado (C): pH 5.0	Segundo lavado (C): pH 5.0 a 6.0
Elución (D): pH 6.0	Elución (D): pH 5.0 a 6.0



Lo anterior, difiere de las divulgaciones de la presente invención, pues tal como se expuso previamente, el método acá reivindicado establece puntualmente que los valores de pH de la solución amortiguadora de segundo lavado y de la solución amortiguadora de elución **son los mismos**.

En consecuencia, D1 aleja al normalmente versado en la materia de la presente invención debido a que:

- (i) **No** considera la ejecución de una etapa de lavado de sea llevada a cabo a un pH superior a 6,8. En su lugar, D1 establece que dicha etapa es llevada a cabo mediante el empleo de una solución amortiguadora a pH 5,4. Por tanto, el normalmente versado en la materia no encuentra una motivación que lo lleve a ejecutar una primera etapa de lavado a un pH que se encuentre en el rango de 6,8 a 9,0.
- (ii) Establece que las soluciones amortiguadoras de elución presentan valores de conductividad y/o pH que difieren que los valores de conductividad y pH de las soluciones amortiguadoras empleadas en las etapas anteriores. Por tanto, el perfil de valores de pH al cual se lleva a cabo del proceso difiere significativamente entre D1 y la presente invención, lo cual en definitiva, aleja al versado en la materia de llegar al método acá reivindicado.

Ahora bien, la referencia **D2 (US 7169901)** centra sus enseñanzas en anticuerpos anti-VEGF, y sus formas humanizadas. De esta manera, dicha referencia describe las propiedades terapéuticas de dichos anticuerpos, incluyendo:

- (i) La afinidad de los mismos por VEGF,
- (ii) La habilidad de los mismos para inhibir la proliferación celular endotelial inducida por VEGF, y
- (iii) La habilidad de los mismos la inhibir la angiogénesis inducida por VEGF.

A pesar de lo anterior, y teniendo en cuenta que D2 no revela métodos para la purificación de anticuerpos, el señor Examinador aseguró que:

“Sin embargo, procedimientos para la purificación de anticuerpos con una menor cantidad de contaminantes, ya están divulgados en el documento D2, que enseña la purificación de un anticuerpo antiVEGF tal como muMab, RhuMab, en donde, el pH máximo de lavado es de 7,5 y de elución pH 8,9”

citando para dicho fin la columna 35, líneas 29-35 de D2.

Al respecto, notamos que dicho fragmento hace parte de un ejemplo de D2, en el cual se describe la producción de anticuerpos anti-VEGF humanizados. Así, el fragmento citado por el señor Examinador corresponde particularmente a la obtención de la región Fab quimérica, y no a la purificación del anticuerpo anti-VEGF tal como lo argumenta su Despacho.

No obstante lo anterior, es evidente que las condiciones enseñadas por D2 para dicho proceso son completamente diferentes a las que caracterizan al presente método ya que el fragmento citado de D2 enseña que la muestra es sometida a centrifugación, y posteriormente el sobrenadante es aplicado sobre una columna, la cual es lavada con una solución a pH 7,5 y posteriormente eluida a pH 8,0.

Por tanto, D2 tampoco establece un método de purificación en el cual se llevan a cabo las etapas reivindicadas:

D2	Invencción
¿?	Solución de carga: pH 5.5
Lavado: pH 7,5	Primer lavado: pH 6.8 a 9.0
¿?	Segundo lavado: pH 5.0 a 6.0
Elución: pH 8,0	Elución: pH 5.0 a 6.0

Y por tanto, dicha referencia no suple las deficiencias identificadas en la referencia D1.

Así pues, al tener en cuenta los lineamientos dados por el Instructivo de Patentabilidad, es claro que **no** existe un segundo documento en el arte previo que comprenda una enseñanza que indique al versado en la materia cómo modificar las enseñanzas de la referencias D1 con el fin de llegar a la materia acá reivindicada, sin la aplicación de actividad inventiva.

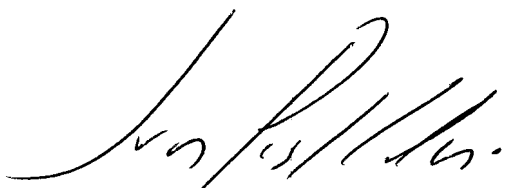
Por tanto, la presente invención no es obvia a la luz de las referencias D1 y D2, ya que dichas referencias **no enseñan ni sugieren** un método de purificación que comprenda la combinación específica de:

- (i) Una etapa de carga que sea llevada a cabo a un pH de 4,0 a 6,0,
- (ii) Una primera etapa de lavado que sea llevada a cabo a altos valores de pH (6,8 a 9,0),
- (iii) Una segunda etapa de lavado que sea llevada a cabo a un pH de 5,0 a 6,0, y
- (iv) Una etapa de elución que sea llevada a cabo a un pH igual al de la segunda etapa de lavado (5,0 a 6,0).

Y por tanto, la presente invención cumple con el requisito de nivel inventivo.

En vista de lo anteriormente expuesto, respetuosamente solicitamos el retiro de las objeciones de la presente solicitud y la concesión del privilegio solicitado, ya que en opinión del solicitante cumple con todos los requisitos establecidos en la decisión 486.

Del Señor Director



JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

T.P. No. 57.492 del C.S.J.

C.C. 80.410.337 de Usaquén

Calle 70 A No. 4 - 41

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 0046938
		Bogotá D.C., Mayo 15 de 2013 - 16:51:49

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A. NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	426513242	15/05/2013	57.807.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO Vr.CONCEPTO
7 50005-01-01	SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00 210.000.00
			<u>\$210.000.00</u>
			=====

SON: **DOSCIENTOS DIEZ MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-061141- -00009-0000

Fecha: 2013-06-19 16:42:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 15

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

REIVINDICACIONES

1. Un método para la purificación de un anticuerpo a partir de una composición que comprende el anticuerpo y al menos un contaminante, en donde el método comprende las etapas secuenciales de:
 - a) cargar la composición en un material de intercambio catiónico, en donde la composición se encuentra a un pH de 4.0 a 6.0;
 - b) lavar el material de intercambio catiónico con una primera solución amortiguadora que presenta un pH mayor que el de la composición en (a), en donde el pH de la primera solución amortiguadora de lavado es de 6,8 a 9,0;
 - c) lavar el material de intercambio catiónico con una segunda solución amortiguadora de lavado a un pH que es menor que el de la primera solución amortiguadora de lavado, en donde la segunda solución amortiguadora de lavado presenta una conductividad de 0.5 a 3.0 mS/cm y un pH de 5.0 a 6.0; y
 - d) eluir el anticuerpo del material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora de elución a una conductividad que es al menos 2 mS/cm mayor que la de la segunda solución amortiguadora de lavado, en donde el pH de la segunda solución amortiguadora de lavado y el pH de la solución amortiguadora de elución es el mismo, y en donde el pH de la solución amortiguadora de elución es de 5.0 a 6.0.
2. El método de la reivindicación 1 en donde el anticuerpo se une a CD20 humano.
3. El método de la reivindicación 1 en donde el anticuerpo se une al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) humano.
4. El método de la reivindicación 1 en donde el pH de la primera solución amortiguadora de lavado es de 6,8 a 8,0.
5. El método de la reivindicación 1 en donde la conductividad de la solución amortiguadora de elución es de 10mS/cm a 100mS/cm.
6. El método de la reivindicación 1 en donde la solución amortiguadora de elución comprende 100 a 300 mM de NaCl.

- 14
7. El método de la reivindicación 1 en donde el material de intercambio catiónico comprende un flujo cruzado a través de partículas de poli(estireno-divinilbenceno) revestidas con un polímero polihidroxilado funcionalizado con grupos sulfopropilo.
 8. El método de reivindicación 1 en donde el contaminante se selecciona del grupo que consiste de proteínas de ovario de hámster chino (CHOP), proteína A lixiviada, ADN, anticuerpo agregado, componentes de medios de cultivo celular, gamicina y contaminantes virales.
 9. El método de la reivindicación 1 que además comprende el sometimiento de la composición que comprende al anticuerpo a una o más etapas de purificación antes, durante o después de las etapas (a) a (d) para obtener una preparación homogénea del anticuerpo.
 10. El método de reivindicación 9 que además comprende la conjugación del anticuerpo purificado con una molécula heteróloga.
 11. Un método para la preparación de una composición farmacéutica que comprende la combinación de la preparación homogénea del anticuerpo o del anticuerpo conjugado de las reivindicaciones 9 o 10, con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
 12. Un método para la purificación de un anticuerpo que se une a CD20 humano a partir de una composición que comprende el anticuerpo y uno o más contaminantes seleccionados del grupo que consiste de: proteínas ováricas de hámster chino (CHOP), proteína A lixiviada, ADN y anticuerpo CD20 agregado, en donde el método comprende las siguientes etapas secuenciales:
 - a) cargar la composición en un material de intercambio catiónico en donde la composición está a un pH de 4,0 a 6,0;
 - b) lavar el material de intercambio catiónico con una primera solución amortiguadora de lavado a un pH de 6,8 a 9,0;
 - c) lavar el material de intercambio catiónico con una segunda solución amortiguadora de lavado a un pH de 5,0 a 6,0; y

d) eluir el anticuerpo del material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora de elución con un pH de 5,0 a 6,0 y una conductividad de 10mS/cm a 100mS/cm, en donde el pH de la segunda solución amortiguadora de lavado y el pH de la solución amortiguadora de elución es el mismo.

13. El método de la reivindicación 12 en donde el anticuerpo es rituximab.

14. El método de la reivindicación 12 donde la solución amortiguadora de elución comprende 100 a 300 mM de NaCl.

15. Un método para la purificación de un anticuerpo que se une al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a partir de una composición que comprende el anticuerpo y uno o más contaminantes seleccionados del grupo consistente de: componentes de los medios de cultivo celular, garamicina, proteínas ováricas de hámster chino (CHOP), ADN, contaminante viral y anticuerpo VEGF agregado, en donde el método comprende las siguientes etapas secuenciales:

- a) cargar la composición en un material de intercambio catiónico en donde la composición está a un pH de 4,0 a 6,0;
- b) lavar el material de intercambio catiónico con una primera solución amortiguadora de lavado a un pH de 6,8 a 8,0;
- c) lavar el material de intercambio catiónico con una segunda solución amortiguadora de lavado a un pH de 5,0 a 6,0; y
- d) eluir el anticuerpo del material de intercambio catiónico con una solución amortiguadora de elución con un pH de 5,0 a 6,0 y una conductividad de 10mS/cm a 100mS/cm, en donde el pH de la segunda solución amortiguadora de lavado y el pH de la solución amortiguadora de elución es el mismo.

16. El método de la reivindicación 15 en donde el anticuerpo es bevacizumab.

17. El método de la reivindicación 15 en donde la solución amortiguadora de elución comprende 100 a 300 mM NaCl.