

Señores
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y C
Bogotá, D.C.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-066425- -00011-0000

Fecha: 2012-12-28 18:54:00

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 523 RESPUESTA

Folios: 40

Re.: Código 011-070-444
Expediente No. 10-66.425
Fase nacional de Solicitud
de Patente PCT
EMISHPERE TECHNOLOGIES, INC.

En relación con el expediente de la referencia y dando cumplimiento a la última providencia recaída sobre este asunto por medio del presente escrito me permito manifestarles lo siguiente:

1. De conformidad con instrucciones de mi representada modifíco el título de esta solicitud como sigue:

COMPOSICIONES FARMACEUTICAS PARA TRATAR LA DEFICIENCIA DE
VITAMINA B₁₂

2. Adjunto nuevos ejemplares de la descripción y las reivindicaciones debidamente revisados y corregidos.
3. La sociedad solicitante de manera respetuosa no se encuentra de acuerdo con el argumento del Examinador sobre que el término SNAC es impreciso. Cada uno de los compuestos químicos relacionados en la página 2 de la descripción son meramente sinónimos para el mismo compuesto (p.e. nombres diferentes para la estructura de la página 2). Sin embargo, para facilitar el estudio de la solicitud mi representada ha accedido a aclarar en la descripción que el término SNAC se refiere a N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] caprilato monosódico.
4. El Examinador sostiene que las reivindicaciones 14-20 carecen de nivel inventivo a la luz de las referencias D1 (US 2006/0116334) y D2 (US 2005/0186267). La sociedad solicitante manifiesta su desacuerdo respetuoso.

La invención que aquí se reivindica es una composición farmacéutica para administración oral que contiene vitamina B12 y ácido N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprílico o una sal del mismo (en su conjunto "NAC"), y su uso para el tratamiento de la deficiencia de la vitamina B12. Los inventores han descubierto que esta composición farmacéutica oral ofrece una mayor y más rápida biodisponibilidad de la vitamina B12 y una normalización más pronta de los niveles de la vitamina en los pacientes que las formulaciones previas de vitamina B12.

Las referencias D1 y D2 no revelan ni sugieren la combinación de B12 y NAC.

5. El Examinador reconoce que la referencia D1 guarda silencio en lo que respecta a NAC, y para nada menciona el hecho de que el NAC intensifica el aporte oral de vitamina B12. En efecto, la referencia D1 va dirigida al uso de fitosteroles, flavonas y folato para el tratamiento de varios trastornos. D1 no sugiere el uso de un compuesto de agente de administración, como el NAC, para intensificar el aporte oral. En verdad, en el párrafo 50, D1 describe al ácido caprílico como un "vehículo inerte". La persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente, tras la lectura de D1 no tendría motivación alguna para combinar la vitamina B12 con un compuesto adicional, como NAC, con el fin de intensificar el aporte oral de la vitamina B12.

La referencia D2 no subsana las deficiencias de la Referencia D1. D2 no revela ni sugiere una composición farmacéutica que contiene vitamina B12 y NAC. La lista de posibles ingredientes activos abarca 44 párrafos de la referencia D2 y literalmente incluye cientos de ingredientes activos pertenecientes prácticamente a todas las clases terapéuticas (ver D2, párrafos 200-243). En efecto, D2 además sostiene:

Las listas arriba mencionadas no deberían considerarse exhaustivas y son un mero ejemplo de las muchas modalidades consideradas dentro del alcance de la invención. Se pueden administrar muchos otros agentes activos con la cápsula de la presente invención.

6. La referencia D2 no ejemplifica ninguna composición que contenga B12. La

persona medianamente versada sencillamente no tendría la motivación para seleccionar el ingrediente activo vitamina B12 con base en la revelación extraordinariamente amplia de la referencia D2.

Además, la referencia D2 revela docenas de "intensificadores de la penetración" de varias clases de compuestos, uno de los cuales es SNAC (ver el párrafo 198). D2 no ejemplifica una composición que contenga SNAC, mucho menos una composición que contenga SNAC y vitamina B12. La persona medianamente versada en la técnica no se habría visto motivada a seleccionar SNAC de la larga lista de los intensificadores de la penetración enumerados en la referencia D2, o combinarlo con vitamina B12 como se cita en las reivindicaciones dependientes.

Por tales razones, las referencias citadas, tomadas solas o en conjunto, no revelan ni sugieren la invención que aquí se reivindica.

7. Además, las referencias citadas no revelan ni sugieren los resultados superiores obtenidos con las composiciones aquí reivindicadas, como se examina a continuación.

Las formulaciones NAC / Vitamina B12 ofrecen una mayor y más rápida biodisponibilidad de la vitamina B12.

Las formulaciones orales de la presente invención proporcionan mayor y más rápida biodisponibilidad de la vitamina B12 que las formulaciones que no contienen NAC. En el ejemplo 7 de la presente solicitud, a sujetos de sexo masculino se les administró una dosis única de (1) 5 mg de cianocobalamina (comercializada por VitaLabs) (denominado tratamiento C) o (2) 5 mg de cianocobalamina y 100 mg de SNAC (denominado tratamiento B). La media de las concentraciones pico máximas de vitamina B12 ($C_{máx}$), las áreas bajo la curva ($ABC_{última(0-24)}$), y los tiempos transcurridos hasta la concentración máxima ($T_{máx}$) se consignan en la siguiente tabla para estos dos tratamientos.

Algunos de los valores han sido corregidos como se examino en la Declaración de Cristina Castelli, PhD, presentada el 14 de diciembre de 2010 en la solicitud estadounidense correspondiente (Anexo A). Si es adecuado, les rogamos remitir copia de esta Declaración a la Oficina de Patentes de Rusia.

H

Parámetro	5 mg de cianocobalamina (Tratamiento C)	5 mg de cianocobalamina / 100 mg de SNAC (Tratamiento B)
Media de la $C_{\text{máx}}$	1239 $\pm$ 450 $\mu\text{g/mL}$	12847 $\pm$ 6613 $\mu\text{g/mL}$
Media del $ABC_{\text{última}(0-24)}$	23165 $\pm$ 8382 $\mu\text{g/mL}$	54609 $\pm$ 16405 h+pg/mL
Media del $T_{\text{máx}}$	6,83 $\pm$ 2,19 horas	0,50 $\pm$ 0,21 horas

Como se puede ver en la tabla, la formulación aquí reivindicada alcanza su máxima concentración 6 horas antes que el producto de cianocobalamina de VitaLabs ($T_{\text{máx}}$: 0,5 frente a 6,8 horas). Las referencias D1 y D2 no sugieren que una formulación NAC/B12 pueda ofrecer una biodisponibilidad tan rápida de la vitamina B12.

Además, el promedio de la concentración máxima con la formulación aquí reivindicada es más de diez veces la que se obtiene con el producto de VitaLabs ($C_{\text{máx}}$: 12847 $\mu\text{g/mL}$ frente a 1239 $\mu\text{g/mL}$). Por último, la formulación aquí reivindicada ofrece más del doble de la biodisponibilidad de la vitamina B12 que el producto de VitaLab ($ABC_{\text{última}(0-24)}$: 54618 $\mu\text{g/mL}$ frente a 25131 $\mu\text{g/mL}$).

8. La formulación NAC/Vitamina B12 ofrece de forma sorprendente una normalización más pronta de los niveles de la vitamina B12.

Se ha descubierto que las composiciones orales aquí reivindicadas normalizan rápidamente los niveles de vitamina B12 y bajan los biomarcadores ácido metilmalónico (MMA) y homocisteína. Se llevó a cabo un estudio clínico que comparó la eficacia y seguridad de la composición oral aquí reivindicada con cianocobalamina intramuscular (una forma de vitamina B12) en 50 adultos que sufrían de deficiencia leve de vitamina B12. Se da una descripción completa del estudio clínico en la declaración acompañante de Cristina Castelli, PhD, la cual fue presentada en la solicitud estadounidense correspondiente del 12 de abril de 2011 (Anexo B). Si es adecuado, les rogamos remitir copia de esta Declaración a la Oficina de Patentes de Rusia.

En el estudio, cada uno de los adultos recibió bien sea 1 mg de cianocobalamina oral durante 90 días o 1 mg de cianocobalamina IM en los días 1, 3, 7, 10, 14, 21, 30, 60 y 90. La formulación oral contenía 100 mg de la sal sódica de NAC (es decir, SNAC) y 1 mg de cianocobalamina.

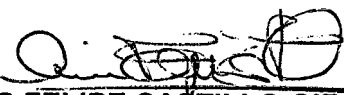
9. Aunque el punto final primario del estudio fue la normalización con el tratamiento oral de los niveles de B12 en el día 61, se observó que la normalización tuvo lugar después de apenas 15 días de tratamiento oral. Esto se muestra en las tablas 2 y 5 y en la Figura 1 del Anexo B. Ver las páginas 9, 13 y 15 del Anexo B. Además, todos los pacientes respondieron al tratamiento oral con B12. Así mismo, los niveles de ácido metilmalónico (MMA) y homocisteína (HC) en estos pacientes estaban más bajos hacia el día 15. Ver el anexo B ¶ 27-31, Tabla 5 y Figuras 2 y 3. Como explica la Dra. Castelli, "[l]a rápida normalización de los niveles de cobalamina y la reducción de los de MMA y HC junto con la elevada tasa de respuesta al tratamiento oral con B12 son sorprendentes e inesperados (Anexo B, ¶37).

Las referencias D1 y D2 no revelan ni sugieren que la formulación aquí reivindicada pueda normalizar los niveles de vitamina B12, MMA y HC en pacientes al cabo de 15 días.

10. En consecuencia, la materia aquí reclamada cumple con los requisitos de novedad y nivel inventivo requeridos en la norma comunitaria.
11. Adjunto el comprobante de pago por concepto de una reivindicación adicional por valor de \$ 30.000.00, recibo No. 144142.

Renuncio al término faltante de traslado, y les solicito ordenar otorgar el privilegio de patente de invención tramitado dentro de este expediente..

De Ustedes Atentamente,


LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONE
T.P. No. 68.995 del C.S.J.

Composiciones Farmacéuticas para Tratar la Deficiencia de Vitamina B₁₂

CAMPO DE APLICACIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere en general a métodos para tratar la deficiencia de vitamina B₁₂ y a composiciones farmacéuticas para dicho tratamiento.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La vitamina B₁₂ es importante para el funcionamiento normal del cerebro y del sistema nervioso y para la formación de la sangre. Participa en el metabolismo de cada célula del cuerpo, influyendo especialmente sobre la síntesis y regulación del ADN y también sobre la síntesis de los ácidos grasos y la producción de energía. Sus efectos aún no son totalmente conocidos.

La forma de vitamina B₁₂ más estable y de más amplio uso es la cianocobalamina. Está ligada a las proteínas sanguíneas y es almacenada en el hígado. La vitamina B₁₂ es excretada en la bilis y experimenta cierto reciclaje enterohepático. La vitamina B₁₂ absorbida es transportada por medio de proteínas ligadoras de B₁₂ específicas, las transcobalaminas I y II, hacia los diferentes tejidos. El hígado es el principal órgano de almacenamiento de la vitamina B₁₂.

La deficiencia de vitamina B₁₂ puede causar daños severos e irreversibles, especialmente al cerebro y al sistema nervioso. Para tratar la deficiencia de vitamina B₁₂ se han desarrollado tabletas orales que contienen vitamina B₁₂. Sin embargo, muchos pacientes que presentan deficiencia de vitamina B₁₂ no responden al tratamiento oral con vitamina B₁₂. Por lo tanto es necesario desarrollar un tratamiento para estos pacientes.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

Uno de los aspectos de la invención se refiere a un método para tratar la deficiencia de vitamina B₁₂ en una persona, y comprende los pasos de (a) preparar una composición farmacéutica para administración oral que contiene (1) vitamina B₁₂ y (2) al menos una sustancia seleccionada desde el grupo compuesto por ácido caprílico *N*-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] y sus sales farmacéuticamente aceptables; y (b) administrar la composición farmacéutica a dicha persona para tratar efectivamente dicha deficiencia de vitamina B₁₂.

Otro de los aspectos de la invención se refiere a una composición farmacéutica para tratar la deficiencia de vitamina B₁₂ en una persona, que comprende (1) vitamina B₁₂ y (2) al menos una sustancia seleccionada desde el grupo compuesto por ácido caprílico *N*-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] y sus sales farmacéuticamente aceptables; en que dicha persona no ha respondido al tratamiento oral con vitamina B₁₂ existente.

1

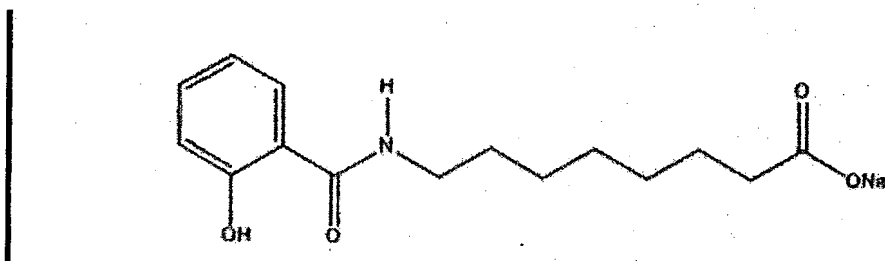
El contenido de las patentes y publicaciones aquí citadas y el contenido de los documentos citados en dichas patentes y publicaciones se incorporan a la presente a modo de referencia dentro del alcance permitido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Fig. 1 es una representación gráfica de una concentración de vitamina B₁₂ en suero en función del tiempo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En la forma aquí empleada, el término "SNAC" significa monosodio N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprilato. Tiene la siguiente estructura



El "ácido caprílico N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]" tiene la fórmula empírica C₁₅H₂₁NO₄.

El término "Vitamina B₁₂" significa cualquier miembro de un grupo de compuestos que contienen cobalto conocidos como cobalaminas que incluyen, sin limitar, cianocobalamina, hidroxocobalamina, metilcobalamina y 5-deoxiadenosilcobalamina.

El término "tratamiento" o "tratar" significa cualquier tratamiento de una enfermedad o desorden en un mamífero, incluyendo: prevenir o proteger contra la enfermedad o desorden, es decir, impedir que se desarrollen los síntomas clínicos; inhibir la enfermedad o desorden, es decir, detener o suprimir el desarrollo de los síntomas clínicos; y/o mejorar la enfermedad o desorden, es decir, lograr la regresión de los síntomas clínicos. El término "mamíferos" incluye a los seres humanos.

Los términos "portador, excipiente, emulsionador, estabilizador, dulcificante, agente saborizante, diluyente, agente colorante, agente solubilizador" tienen el significado definido en el Manual de Excipientes Farmacéuticos (cuarta edición) de Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey y Paul J. Weller, cuyo contenido se incorpora a la presente a modo de referencia.

El término "proteína factor intrínseco" significa una glicoproteína producida por las células parietales del estómago. Es necesaria para la absorción de la vitamina B₁₂ en el ileón terminal.

En una aplicación preferida, el tratamiento es aplicado a personas que no responden a los tratamientos orales convencionales con vitamina B₁₂. En el tratamiento se utilizan preferiblemente tabletas. Cada una de dichas tabletas contiene entre 0.01 mg y 25 mg de vitamina B₁₂ y entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 600 mg de SNAC,

preferiblemente entre aprox. 0.02 mg y aprox. 25 mg de vitamina B₁₂, más preferiblemente entre aprox. 0.1 mg y 20 mg de vitamina B₁₂ y mejor aún entre aprox. 0.5 mg y 10 mg de vitamina B₁₂ y entre aprox. 10 mg y aprox. 200 mg de SNAC en cada tableta.

La relación de peso preferida de la vitamina B₁₂ y el SNAC en la tableta es entre aprox. 2:1 y aprox. 1:700, preferiblemente entre aprox. 1:2 hasta aprox. 1:600 o entre aprox. 1:3 y aprox. 1:20 y mejor aún entre aprox. 1:40 y aprox. 1:10.

En una aplicación preferida, la composición farmacéutica tiene forma de tabletas. Cada tableta contiene de preferencia entre aprox. 0.01 mg y aprox. 25 mg de vitamina B₁₂ y entre aprox. 50 mg y aprox. 600 mg de SNAC. Es preferible que cada tableta contenga entre aprox. 0.02 mg y aprox. 20 mg de vitamina B₁₂. Mejor aún es que cada tableta contenga entre aprox. 0.1 mg y aprox. 10 mg de vitamina B₁₂. Mejor aún es que cada tableta contenga aprox. 15 a 20 mg de vitamina B₁₂ y aprox. 50 a 100 mg de SNAC, o entre aprox. 0.1 a 1.5 mg de vitamina B₁₂ y entre 25 y 150 mg de SNAC.

En otra aplicación preferida, la tableta contiene además al menos uno de los siguientes agentes: portador, excipiente, emulsionador, estabilizador, dulcificante, saborizante, diluyente, colorante, solubilizador o combinaciones de estos.

En otra aplicación preferida, la tableta contiene opcionalmente entre aprox. 1 y 25 mg de Capmul PG-8 y opcionalmente entre aprox. 0.5 y 10 mg de Providona. El Capmul PG-8 se encuentra preferiblemente en una cantidad entre aprox 2 y 20 mg y la Providona en una cantidad entre aprox. 1 y 8 mg. Preferiblemente Capmul PG-8 se agrega en una cantidad entre aprox. 5 y 15 mg y Providona en una cantidad entre aprox. 1.5 y 5 mg. De preferencia se agrega entre 5 y 10 mg de Capmul PG-8 y entre aprox. 1.5 y 5 mg de Providona.

Sin pretender amarrarnos a una teoría de operación en particular, creemos que la absorción gastrointestinal de la vitamina B₁₂ depende de la presencia de suficiente factor intrínseco en la proteína secretada por las células gástricas parietales. Una dieta normal provee aprox. 10 mcg diarios de vitamina B₁₂ ligada a las proteínas y disponible para ser absorbida después de una digestión normal. La vitamina B₁₂ está ligada al factor intrínseco durante el tránsito a través del estómago; la separación tiene lugar en el ileón terminal, y la vitamina B₁₂ entra a la célula mucosa para ser absorbida a través de un proceso en el que interviene un receptor. A continuación es transportada por proteínas que se ligan con transcobalamina. Una pequeña cantidad (aproximadamente 1% de la cantidad total ingerida) es absorbida por simple difusión, pero este mecanismo es adecuado solamente en dosis muy grandes. También creemos que el SNAC permite a la vitamina B₁₂ obviar su proceso habitual con la mediación del receptor.

Los siguientes ejemplos tienen por objeto la ilustración específica de la invención. No obstante queda entendido que la invención no está limitada a los detalles específicos indicados en los ejemplos. Todas las partes y porcentajes de los ejemplos, así como del resto de la especificación son indicaciones por peso, salvo que se indique lo contrario.

Por otra parte cualquier margen numérico señalado en la especificación o en los siguientes párrafos que describe o reivindica diferentes aspectos de la invención, como por ejemplo aquel que representa un determinado conjunto de propiedades, unidades de medición, condiciones, estados físicos o porcentajes incluye literalmente en forma expresa a modo de referencia o de otra forma, cualquier cifra comprendida dentro de dicho margen, incluyendo cualquier subconjunto de números o márgenes incluidos dentro de cualquier margen indicado. El término "aproximadamente" empleado como modificador de o conjuntamente con una variable, tiene por objeto dar a entender que los números y márgenes aquí indicados son flexibles y que la aplicación de la presente invención por los técnicos en la materia empleando concentraciones, cantidades, contenidos, números de carbono y propiedades que están fuera del margen o son diferentes de un valor unitario, lograrán el resultado deseado, es decir, un tratamiento efectivo de una persona con deficiencia de vitamina B₁₂ que no ha respondido a las tabletas orales de vitamina B₁₂ existentes o a composiciones farmacéuticas para dicho tratamiento.

Ejemplo 1. Preparación de ácido caprílico *N*-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] y SNAC

El método de preparación del ácido caprílico *N*-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] y del SNAC comprende los siguientes pasos. El material de partida es salicilamida, que es convertida para formar Carsalam. El segundo paso comprende la alquilación de Carsalam. El penúltimo paso es una hidrólisis para adherir el grupo etilo de protección al final de la cadena alquilo y abrir el anillo heterocíclico que forma el ácido libre del SNAC. En el último paso se forma la sal sódica del ácido libre del SNAC por reacción con una cantidad estequiométrica superior a 1% de una base de hidróxido de sodio. Después de ser enfriado, el producto precipitado es aislado por centrifugación y secado al vacío antes de su empaque. Los controles del proceso de preparación del sistema de síntesis se indican en la Tabla I.

Tabla I. Controles durante el proceso de elaboración del SNAC

Paso	Reacción	Producto deseado	Especificación	Control del proceso
1	Carsalam	Carsalam	<10% salicilamida	PLC
2	Alquilación	Carsalam alquilado	<8% Carsalam	PLC
3	Hidrólisis	Ácido libre de SNAC	<0.5%	LOD
4	Sal sódica	Sal sódica de SNAC	95-105%	HPLC

Ejemplo 2. Preparación de tabletas de vitamina B₁₂.

Se revisan los moldes y punzones de las tabletas para asegurar que estén limpios y sus superficies se espolvorean con estearato de magnesio en polvo. Se tamiza la vitamina B₁₂, el SNAC, portador, excipiente, emulsionador, estabilizador, dulcificante, agente saborizante, diluyente, agente colorante, agente solubilizador a través de un tamiz # 35 y se guardan en un recipiente sellado. Se pesan 50 mg de vitamina B₁₂ y se mezcla

cuidadosamente con 11 gramos de un portador, excipiente, emulsionador, estabilizador, dulcificante, agente saborizante, diluyente, agente colorante y/o agente solubilizador. Se elaboran 100 tabletas de vitamina B₁₂, cada una de las cuales contiene 0.5 mg de vitamina B₁₂ y 110 mg de un portador, excipiente, emulsionador, estabilizador, dulcificante, saborizante, diluyente, colorante y/o solubilizador. Estas tabletas se utilizan como control.

Ejemplo 3. Preparación de tabletas de vitamina B₁₂ y SNAC

Se pesan 50 mg de vitamina B₁₂ y 1 gramo de SNAC y se mezclan cuidadosamente con 10 gramos de un portador, excipiente, emulsionador, estabilizador, dulcificante, agente saborizante, diluyente, agente colorante y/o agente solubilizador. Se elaboran 100 tabletas de vitamina B₁₂, cada de las cuales contiene 0.5 mg de vitamina B₁₂ y 10 mg de SNAC y 100 mg de un portador, excipiente, emulsionador, estabilizador, dulcificante, saborizante, diluyente, colorante y/o solubilizador. Se repite el proceso para elaborar varios lotes de tabletas que contienen 1.0 mg, 0.8 mg, 0.6 mg, 0.4 mg y 0.2 mg de vitamina B₁₂, respectivamente.

Estas tabletas tienen las siguientes especificaciones para liberar los componentes del SNAC:

Ensayos	Especificaciones	Método analítico
Aspecto	Polvo blanco a ligeramente tostado con matiz rosado	AM001
Identificación Test de sodio FTIR	Confirma presencia de sodio Coincide con patrón de referencia	USP <191> USP <197>
Margen de fusión/temperatura	192-203°C con un margen no superior a 5°C	USP <741>
Contenido de agua	NMT 3.9%	USP <921> Método I
Metales pesados	< 20 ppm	USP <231> Método II
Contenido de sodio	6.9 a 8.4%	AM017
Solventes residuales Etanol Heptano	Menos de 4000 ppm Menos de 500 ppm	AM008 AM008
Ensayo como sal sódica de SNAC (en el estado en que se encuentra)	90.0 – 110.0% por peso	AM016

Ejemplo 4. Preparación de tabletas para pruebas en ratas

Se elaboraron tabletas con cuatro tipos de ingredientes diferentes como sigue:

(1) Se pesaron 8.8 mg de vitamina B₁₂ y 35 mg de SNAC, se revolvieron cuidadosamente y se elaboró una tableta para ser dosificada a ratas; (2) se pesaron 8.8 mg de vitamina B₁₂, 35 mg de SNAC y 5 mg de Capmul PG-8, se revolió cuidadosamente y se elaboró una tableta; (3) se pesaron 8.8 mg de vitamina B₁₂, 35 mg de SNAC y 0.9 mg de Providona, se revolió cuidadosamente y se elaboró una tableta. Se repitió cada uno de los cuatro procesos para producir más tabletas.

Ejemplo 5. Dosificación de ratas Sprague-Dawley

Se administró dosis intravenosas (0.5 mg/kg) de vitamina B₁₂ sola a ratas Sprague-Dawley machos (325-350g), u orales con las tabletas elaboradas de acuerdo con el Ejemplo 4 en una dosis de 50 mg/kg de vitamina B₁₂ sola o en combinación con SNAC a mg/kg. Se tomaron muestras de sangre a los 0, 3, 10, 20, 30, 60, 120, 240 y 360 minutos después de la administración. Se analizaron muestras de plasma con RIA para detectar la presencia de vitamina B₁₂. Las cifras PK independientes obtenidas del ejemplo después de la combinación vitamina B₁₂-SNAC se compararon con las obtenidas después de la vitamina B₁₂ sola. Los resultados del ensayo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados comparativos de ensayos de absorción de Vitamina B₁₂

C _{máx} (ug/ml) Grupo (N=5)			T _{máx} (min)		AUC (ug*min/ml)		Biodisp o- nibilidad media
Media		S.D.	Media	S.D.	Media	S.D.	%
0.5mg/kg vitamina B ₁₂ (IV)	2.15	0.64	4.4	3.13	65.84	11	0.42
50mg/kg vitamina B ₁₂ sola PO	0.14	0.07	52	17.9	28.72	13	
50 mg/kg vitamina B ₁₂ + 200 mg/kg SNAC (PO)	7.99	2.41	24	5.48	522.37	179	

Ejemplo 6. Preparación de tabletas para ensayos en seres humanos

Se elaboraron tabletas con cianocobalamina, SNAC, Kollidon 90F, Emcompress USP/EP anhidra y estearato de magnesio, NF/BP/EP/JP. Cada tableta contenía lo siguiente:

Ingredientes	mg/tableta
Cianocobalamina, USP (intragranular)	5.00
SNAC (intragranular)	100.00
Kollidon 90F, NF/EP/JP (Providona K90; intragraular)	2.00
Emcompress USP&EP anhidra (fosfato de calcio diabásico, anhidro; intragranular)	70.00
Emcompress USP&EP anhidra (fosfato de calcio diabásico anhidro; extragranular)	21.00
Estearato de magnésio, NF/BP/EP/JP (extragranular)	2.00
Peso total	200.0

Ejemplo 7. Dosificación en personas

Dieciséis personas sanas de sexo masculino fueron elegidas al azar para administrarles uno de los siguientes tratamientos:

- 12
- (1) Tratamiento B: Se administró una sola dosis oral de cianocobalamina/SNAC (5 mg de cianocobalamina/100 mg SNAC) en ayunas en forma de tableta (6 personas).
 - (2) Tratamiento C: Se administró una sola dosis oral de cianocobalamina sola (5 mg de cianocobalamina, VitaLabs, comercial) en ayunas en forma de tableta (6 personas).
 - (3) Tratamiento D: Se administró una sola dosis intravenosa de cianocobalamina (1 mg de cianocobalamina) en ayunas (4 personas). Cada persona recibió una inyección intravenosa de 1 mL con una solución de 1 mg/mL (1000 µg/mL) en una dosis total de 1 mg de cianocobalamina.

Las personas ayunaron la noche anterior a la administración y no recibieron líquidos (tampoco agua) al menos una hora antes y después de la administración. Las formas orales en tabletas de cianocobalamina/SNAC fueron administradas en una sola dosis en forma de tabletas con 50 mL de agua pura. Se tomaron veinticinco muestras de sangre en diferentes momentos para realizar análisis de cianocobalamina: 30 minutos antes de administrar la dosis y 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 minutos después de su administración y 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 20 y 24 horas después de la dosis.

Siguiendo un análisis farmacocinético independiente de modelo se obtuvieron medidas farmacocinéticas de concentraciones individuales de cianocobalamina. Para resumir los resultados se emplearon estadísticas descriptivas.

Después de administrar 1 tableta de 5 mg B₁₂/100 mg SNAC la media de concentración máxima de B₁₂ es 12847 ± 6613 pg/mL y ocurre dentro de 1 hora después de administrar la dosis (t_{máx} media de 0.50 ± 0.21 horas). El valor medio de AUC_{last} (0-24) es 54618 ± 16392 hr*pg/mL. El coeficiente de variación porcentual (%CV) es 51.5% para C_{máx} y 30.0% para AUC.

Después de administrar una sola dosis oral de cianocobalamina sola (5 mg de cianocobalamina, VitaLabs, comercial) la media de concentración máxima de B₁₂ es 1239 ± 450 pg/mL y ocurre entre 3 y 10 horas después de administrar la dosis (t_{máx} media de 6.8 ± 3.2 horas). El valor medio de AUC_{last} (0-24) es 23131 ± 8343 hr*pg/mL. El coeficiente de variación porcentual (%CV) es 36.3% para C_{máx} y 356.1% para AUC.

Después de una sola dosis intravenosa de cianocobalamina (1 mg de cianocobalamina) administrada en ayunas (4 personas), la media de concentración máxima de B₁₂ es 221287 ± 80248 pg/mL y el valor medio de AUC_{last} (0-24) es 215391 ± 44602 hr*pg/mL. El coeficiente de variación porcentual (%CV) es 36.3% para C_{máx} y 20.7% para AUC.

13

La biodisponibilidad media de 1 tableta de 5 mg de vitamina B12 sola, 1 tableta de 5 mg de vitamina B12/100 mg SNAC, y 2 tabletas de 5 mg de vitamina B12/100 mg SNAC son $2.15 \pm 0.77\%$, 5.07 ± 1.52 , y $5.92 \pm 3.05 \%$, respectivamente. (Nota: 2 tabletas de 5 mg de vitamina B12/100 mg SNAC fueron dosificadas previamente en un brazo piloto denominado Tratamiento A).

La $t_{\max}$ media de 1 tableta de 5 mg de vitamina B12 sola, 1 tableta de 5 mg de vitamina B12/100 mg SNAC, y 2 tabletas de 5 mg de vitamina B12/100 mg SNAC son 6.8 ± 3.2 horas, 0.50 ± 0.21 horas, y 0.54 ± 0.32 horas, respectivamente.

Durante los tratamientos antes mencionados no se observaron acontecimientos adversos. Todas las formulaciones parecen ser seguras y tienen buena tolerancia.

Sorprendentemente se pudo constatar que el alcance de la absorción de vitamina B₁₂, medida como C_{máx} y AUC, fue incrementada significativamente por la administración de la combinación cianocobalamina/SNAC. La biodisponibilidad de la vitamina B₁₂ fue ~240 % superior en el caso de 1 tableta de 5 mg de B₁₂/100 mg SNAC comparada con la formulación comercial de 5 mg de B₁₂. La media de concentraciones máximas de B₁₂ después de la formulación oral comercial tuvo lugar bastante más tarde comparada con la que se produjo después de las combinaciones B₁₂/SNAC, posiblemente debido a un lugar de absorción diferente entre dos formulaciones orales. Esto es consistente con los datos de la literatura que señalan que la absorción intestinal de la vitamina B₁₂ ocurre en la sección distal del tracto gastrointestinal en ausencia de un portador.

En la anterior especificación se describen los principios, aplicaciones preferidas y modos de operación de la presente invención. Sin embargo, la invención que se desea proteger no está limitada a las formas particulares descritas, puesto que estas se deben considerar de índole ilustrativa y no restrictiva. Los técnicos en la materia podrán introducir variaciones y cambios sin apartarse del espíritu de la invención.

Reivindicaciones

1. Una composición farmacéutica oral que comprende (1) vitamina B12 y (2) una sustancia seleccionada de entre el grupo compuesto por ácido N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprílico y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que se caracteriza porque la mencionada composición farmacéutica se encuentra en forma de tableta.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, que se caracteriza porque la mencionada tableta comprende de 0,01 mg a 25 mg de vitamina B12 y de 50 mg a 600 mg de N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] caprilato monosódico.
4. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, que se caracteriza porque la mencionada tableta comprende de 0,02 mg a 20 mg de vitamina B12.
5. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, que se caracteriza porque la mencionada tableta comprende de 0,1 mg a 10 mg de vitamina B12
6. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, que se caracteriza porque la mencionada tableta comprende de 1 mg a 15 mg de vitamina B12 y de 50 a 200 mg de N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] caprilato monosódico.
7. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que además comprende un vehículo, excipiente, emulsionante, estabilizador, endulzante, agente saborizante, diluyente, agente colorante, agente solubilizador o una combinación de los mismos.
8. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, que se caracteriza porque la mencionada tableta comprende de 0,5 mg a 10 mg de vitamina B12 y de 10 a 200 mg de N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] caprilato monosódico.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, que se caracteriza porque la mencionada tableta comprende de 0,1 mg a 1,5 mg de vitamina B12 y de 25 a 100 mg de N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino] caprilato monosódico.
10. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que se caracteriza porque la composición farmacéutica comprende una cantidad efectiva de la sustancia de manera tal que, luego de la administración oral de la composición farmacéutica, el $T_{\text{máx}}$ de la vitamina B12 se acorta.

15

11. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que se caracteriza porque la composición farmacéutica exhibe una media del $T_{\text{máx}}$ para la vitamina B12 de 0,50 horas.

16

Docket No.: 134387-12215

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:
Cristina Castelli *et al.*

Application No.: 12/262,677

Confirmation No.: 6672

Filed: October 31, 2008

Art Unit: 1623

For: METHOD OF TREATING VITAMIN B12
DEFICIENCY

Examiner: Not yet assigned

DECLARATION OF CRISTINA CASTELLI, PH.D.

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

I, Cristina Castelli, Ph.D., do hereby declare and state the following:

1. I am a named co-inventor of the above-identified application ("the '677 Application").

2. Some of the results in paragraphs 36-40 of the published version of this application (US 2010/0016255) appear to have been inadvertently incorrectly reported. The correct results are shown below.

Measurement [Citation in US 2010/001655]	Result reported in US 2010/0016255	Actual Result
Mean AUC _{last (0-24)} for 5 mg vitamin B ₁₂ / 100 mg SNAC tablet [¶36]	54618 ± 16392 hr*pg/mL	54609 ± 16405 hr*pg/mL
Mean AUC _{last (0-24)} for 5 mg oral cyanocobalamin (VitaLabs, commercial sample) [¶37]	23131 ± 8343 hr*pg/mL	23165 ± 8382 hr*pg/mL
Coefficient of variation (%CV) for C _{max} for 5 mg oral cyanocobalamin (VitaLabs, commercial sample) [¶37]	36.3%	36%
Coefficient of variation for AUC for 5 mg oral cyanocobalamin (VitaLabs, commercial sample) [¶37]	36.1%	36%
Mean AUC _{last (0-24)} for intravenous 1 mg cyanocobalamin [¶38]	221287 ± 80248 hr*pg/mL	214738 ± 44614 hr*pg/mL
Coefficient of variation (%CV) for C _{max} for intravenous 1 mg cyanocobalamin [¶38]	36.3%	36%
Coefficient of variation for AUC for intravenous 1 mg cyanocobalamin [¶38]	20.7%	21%
Mean bioavailability of 5 mg vitamin B12 (without SNAC) [¶39]	2.15 ± 0.77%	2.16 ± 0.78%
Mean bioavailability of one tablet of 5 mg vitamin B ₁₂ / 100 mg SNAC [¶39]	5.07 ± 1.52%	5.09 ± 1.53%
Mean bioavailability of two tablets of 5 mg vitamin B ₁₂ / 100 mg SNAC [¶39]	5.92 ± 3.05%	5.94 ± 3.06%
Mean T _{max} of 1 tablet of 5 mg vitamin B ₁₂ alone [¶40]	6.8 ± 3.2 hours	6.83 ± 3.19 hours

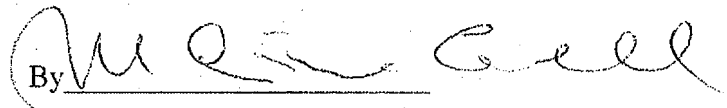
18

3. Additionally, Figure 1 of the '677 Application is a graphical representation of the data presented in Table 1 (Example 5) of the specification.

4. I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.

Dated: December 2, 2010

Respectfully submitted,

By 

Cristina Castelli, Ph.D.

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:
Cristina Castelli *et al.*

Application No.: 12/262,677

Confirmation No.: 6672

Filed: October 31, 2008

Art Unit: 1623

For: METHOD OF TREATING VITAMIN B12
DEFICIENCY

Examiner: Elli Peselev

DECLARATION OF CRISTINA CASTELLI, PH.D. UNDER 37 C.F.R. § 1.132

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

I, Cristina Castelli, Ph.D., hereby declare as follows:

1. Since 2005, I have been employed with Emisphere Technologies, Inc., the assignee of the present application, and am currently the Director of Clinical Development. Prior to this, I was a scientist specializing in pharmacokinetics and drug metabolism at Purdue Pharma (2000-2004) and a post-doctoral Research Fellow in neuro-pharmacology and drug metabolism at the University of Minnesota. I received my Ph.D. in biopharmaceutics (pharmacokinetics) from the University of Parma, Italy in 1996. A copy of my curriculum vitae is attached as Exhibit A.

2. I have reviewed the specification and currently pending claims of the above-identified application. I have also reviewed the February 9, 2011 Office Action, and the references cited therein, i.e., Sarill (U.S. Patent No. 6,274,564) and Leone-Bay (U.S. Patent No. 5,650,386).

3. A study was conducted to evaluate the efficacy and safety of an oral vitamin B₁₂ formulation of the present invention and an intramuscular (IM) cyanocobalamin formulation in

20

subjects with low vitamin B₁₂ levels (cobalamin <350 pg/mL). Each formulation contained 1 mg of cyanocobalamin.

Study Design

4. The study was an open-label, parallel-group, randomized 60-day study, with a 30-day extension, conducted in subjects with low vitamin B₁₂ levels but otherwise in good health. Subjects were assigned to a treatment according to a randomization schedule prepared by a statistician at the start of the study. The randomization scheme was stratified such that a balanced number of males and females were assigned to each treatment group. Subjects were randomized to receive either a 1000 µg cyanocobalamin oral tablet administered once daily for 90 days or 1000 µg cyanocobalamin, administered intramuscularly on Days 1, 3, 7, 10, 14, 21, 30, 60 and 90.

5. A single tablet was self-administered daily in the fasted state and at least one hour prior to the morning meal with 50 mL water. IM study drug administration was performed by study personnel, in the research clinic, in the morning, in the fasted state and at least 1 hour prior to the morning meal on study Days 1, 3, 7, 10, 14, 21, 30, 60 and 90. For subjects assigned to receive tablets, treatment compliance was based on subject diary entries. Blood samples for pharmacodynamic assessments (efficacy variables) were collected from all subjects at baseline prior to dosing (Day 1), and on Days 15, 31, 61 and 91. Sample collection was carried out approximately 24 hours after the last dose administration, prior to that day's dose administration, and in the fasting state.

21

Materials

6. Sterile cyanocobalamin for injection, USP 1000 µg/mL was used as individual 1mL vials. The composition of the oral tablets administered to the subjects is shown in Table 1.

Table 1

Ingredient	mg/tablet
Cyanocobalamin, USP	1.00
Sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl)amino]caprylate	100.00
Povidone	2.00
Dibasic calcium phosphate	95.00
Magnesium stearate	2.00
Total weight (mg)	200.00

Subjects

7. A total of 50 adult male and female subjects were randomized to receive study drug. Twenty-two of the 24 subjects (91.7%) randomized to receive tablets completed the study as planned. Twenty-six subjects were randomized to receive IM B₁₂ and 26 (100%) of the subjects completed the study as planned. These subjects were age 60 or older or age 18 or older with gastrointestinal abnormalities or on a restricted diet. All of the subjects included in this study suffered from mild vitamin B₁₂ deficiency (i.e., all enrolled patients screened by the clinical laboratory had cobalamin values <350 pg/mL). Confounding factors in the diagnosis and treatment of vitamin B₁₂ deficiency include folate deficiency, renal insufficiency and vitamin B₆ deficiency. Subjects with the above deficiencies were excluded from the study. Subjects recorded concomitant medications (including vitamins, herbal supplements and antacids) and adverse events in diaries distributed on study Day 1. Subjects randomized to receive oral treatment also recorded dosing information (date and time) and time of meals consumed before and after each dose.

22

Treatment

8. The 1000 µg cyanocobalamin oral tablet was taken in the fasted state as a single tablet with 50 mL water. Each dose was self-administered daily, for 90 days, after an overnight fast and 1 hour before the morning meal. No liquid was consumed for at least 1 hour before and 1 hour after dosing.

9. 1000 µg cyanocobalamin was administered intramuscularly as 1 mL from a vial containing 1000 µg/mL drug. Study drug administration was performed by study personnel, in the research clinic, in the morning, in the fasted state and at least 1 hour prior to the morning meal on study Days 1, 3, 7, 10, 14, 21, 30, 60 and 90.

Blood Sample Processing

10. Serum cobalamin (B₁₂) levels were determined by a validated microparticle enzyme immunoassay (MEIA) detection method with a calibration range of 100-2000 pg/mL. Sample dilution procedures were validated up to 4-fold dilution. Serum methylmalonic acid (MMA) levels were determined by a validated LC/MS/MS method with a calibration range of 5-200 ng/mL. Plasma homocysteine (HC) levels were determined by a validated fluorescence polarization immunoassay (FIPA) detection method with a calibration range of 2.5-50 µmol/L; and plasma holotranscobalamin (active B₁₂) levels were determined using a validated MEIA method, with a calibration range of 8-128 pmol/L. Sample dilution procedures were validated up to 32-fold dilution.

23

Safety Assessments

11. Safety assessments consisted of monitoring adverse events (AEs), hematology, chemistry and urinalysis laboratory test results, concomitant medications, vital sign assessments, ECG and physical examination findings. No statistical analysis was planned or performed for safety endpoints which were reported only descriptively.

Efficacy Assessments

12. The primary efficacy variable was serum cobalamin levels on Day 61. The primary efficacy outcome compared the proportion of subjects in each treatment group whose cobalamin levels were normalized (≥ 350 pg/mL) on Day 61.

13. The secondary efficacy variables were serum cobalamin levels on Day 91, serum MMA levels on Day 61 and Day 91 and, plasma total HC levels on Day 61 and Day 91. The secondary efficacy outcomes were: (1) comparison of the proportion of subjects in each treatment group whose cobalamin levels were normalized (≥ 350 pg/mL) on Day 91; (2) comparison of the mean percent change from baseline in serum cobalamin levels among subjects in each treatment group on Day 61 and Day 91; (3) comparison of the mean percent change from baseline in serum MMA levels among subjects in each treatment group on Day 61 and Day 91; (4) comparison of the mean percent change from baseline in total plasma HC among subjects in each treatment group on Day 61 and Day 91; and (5) comparison of the mean first time to normalization of serum cobalamin (≥ 350 pg/mL) among subjects in each treatment group on Day 61 and Day 91. Exploratory efficacy variables and outcomes were: (1) plasma holotranscobalamin levels on Day 61 and Day 91, measured by comparison of the proportion of subjects in each treatment group whose holotranscobalamin levels were normalized (≥ 40 pmol/L) on Day 61 and Day 91; and (2) the relationship between cobalamin and holotranscobalamin levels on Day 61 and Day 91.

14. In the initial study design, no efficacy outcome at Day 15 was contemplated.

Statistical Analysis

15. Programming and statistical analyses were conducted using SAS (Version 9.1, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA). Three analysis populations were used. The Intent-to-treat (ITT) population included all subjects randomized into the trial, regardless of whether they received study product. Analyses using the ITT population assigned subjects to the group to which they were randomized. The per-protocol population included all randomized subjects who received at least 90% of their assigned study treatment, who had non-missing baseline and Day 61 serum cobalamin assessments, and who met all inclusion criteria and no exclusion criterion. The principal analyses were conducted on the ITT population. The safety population included all randomized subjects who received at least one administration of study product and who had at least one subsequent safety assessment. Subjects are included in this group based on the actual treatment received. All safety analyses were performed on the safety population.

16. The analysis of the primary efficacy outcome compared the proportion of subjects in each treatment group whose cobalamin levels were normalized (i.e., cobalamin $\geq$ 350 pg/mL) on Day 61 Visit. The number and frequency of normalized subjects was calculated. The 90% confidence interval of the difference in the proportions (tablet - IM B12) was calculated and presented using exact procedures.

17. The analyses for all secondary outcomes used only available data (i.e., no imputation for missing data occurring after first dose of study medication). For all tests of secondary hypotheses, a p-value < 0.05 indicated a statistically significant result. No adjustments were made for multiplicity. For subjects with missing baseline data, the latest screening value was used as baseline for the calculation of change from baseline and percent change from baseline.

18. Change from baseline (CFB) is defined as $(X-B)$. Percent change from baseline (PCFB) is defined as $PCFB = 100 (X-B) / B$, where B is the baseline (pre-dose Day 1) measurement and X is the measurement at Day 61 or Day 91, as required.

19. The proportion of subjects who achieved normalization of cobalamin levels (i.e., cobalamin ≥ 350 pg/mL) at Day 91 was to be analyzed using the same methodology as given above for the primary analysis (i.e., Day 61). The PCFB for cobalamin levels at Days 61 and 91 was analyzed using ANCOVA with treatment group and baseline cobalamin measurement as fixed effects. For each outcome and each time point the mean difference between the groups was tested. The PCFB for MMA and HC levels at Days 61 and 91 was analyzed using ANCOVA with treatment group and baseline MMA or HC measurement as fixed effects. For each outcome and each time point the mean difference between the groups was tested.

20. Time to first normalization of cobalamin (≥ 350 pg/mL) from Day 1 to Day 61 and from Day 1 to Day 91 was analyzed using a log-rank test. The Kaplan-Meier curves, hazard ratio and its 95% confidence interval were calculated. Time zero was taken as Study Day 1.

21. The proportion of subjects who achieved normalization of holotranscobalamin levels (≥ 40 pmol/L) at Day 61 and Day 91 were analyzed using the same methodology as given for the primary analysis. The relationship between cobalamin and holotranscobalamin levels at Day 61 and Day 91, and the PCFB to Day 61 and Day 91 were explored. The relationship was analyzed graphically.

78

Results

Patient Demographic and Baseline

22. A total of 50 healthy subjects [11 (22.0%) male, 39 (78.0% female)] were randomized to receive study drug. Mean (SD) age was 53.2 (15.33) years and race was 40 (80.0%) Caucasian and 10 (20.0%) Black. Mean (SD) serum cobalamin levels at screening were similar among subjects randomized to receive oral vitamin B₁₂ [285.5 (54.27) pg/mL] compared to subjects randomized to receive IM B₁₂ [262.0 (54.61) pg/mL].

Efficacy

23. The proportion of subjects in each treatment group whose cobalamin levels were normalized (≥ 350 pg/mL) on Day 61 (primary efficacy outcome) and Day 91 (secondary efficacy outcome) are presented in Table 2 (ITT population). Results were comparable for both populations.

Table 2 – Cobalamin Responders

Study day	Statistics	Treatment group	
		Oral B ₁₂ (N=24)	IM B ₁₂ (N=26)
Day 15	N	23	26
	Responder (%) ¹	23 (100.0)	26 (100.0)
	Non-responder (%)	0 (0.0)	0 (0.0)
Day 61	N	23	26
	Responder (%) ¹	23 (100.0)	26 (100.0)
	Non-responder (%)	0 (0.0)	0 (0.0)
Day 91	N	22	26
	Responder (%) ¹	22 (100.0)	26 (100.0)
	Non-responder (%)	0 (0.0)	0 (0.0)

¹ - A responder is defined as a subject having a cobalamin level ≥ 350 pg/mL. There are 13 subjects in the oral B₁₂ group and 14 subjects in the IM B₁₂ group with ≥ 350 pg/mL cobalamin level at baseline.

24. All subjects in each treatment group achieved normalization of serum cobalamin levels (i.e., cobalamin levels ≥ 350 pg/mL) by Day 15.

25. Figure 1 shows the mean PCFB in cobalamin levels by study day for the ITT population. As can be seen from Figure 1, the oral B₁₂ group showed normalized cobalamin serum levels at the first time point (Day 15). These subjects maintained normalized average serum vitamin B₁₂ levels throughout the duration of the study, up to and including Day 91.

26. There was no statistical difference between treatment groups for mean PCFB in serum cobalamin levels on Day 61 ($p=0.1326$) and Day 91 ($p=0.4273$). On Day 61, the mean (SD) percent change in cobalamin levels was 452.5 (353.19) and 714.6 (732.11) for subjects in the oral B₁₂ and IM B₁₂ treatment groups, respectively. On Day 91, the mean (SD) percent change in cobalamin levels was 526.9 (350.62) and 608.9 (446.68) for subjects in the oral B₁₂ and IM B₁₂

treatment groups, respectively. The results were identical for the ITT population and for the per protocol population.

27. There was no statistical difference between treatment groups for mean PCFB in serum MMA levels on Day 61 ($p=0.6179$). On Day 61, the mean (SD) percent change in MMA levels was -30.55 (26.655) and -28.17 (24.754) for subjects in the oral B₁₂ and IM B₁₂ treatment groups, respectively.

28. On Day 91, the oral treatment group exhibited a mean PCFB in serum MMA levels that was superior to the IM B₁₂ group ($p=0.0334$). On Day 91, the mean (SD) percent change in MMA levels was -39.29 (24.939) and -26.58 (25.643) for subjects in the oral B₁₂ and IM B₁₂ treatment groups, respectively.

29. Figure 2 shows the mean PCFB in MMA levels by study day for the ITT population. Subjects in the oral B₁₂ treatment group showed normalized methyl malonic acid levels at the first time point (Day 15). These subjects maintained normalized MMA levels throughout the duration of the study, up to and including Day 91.

30. There was no statistical difference between treatment groups for mean PCFB in plasma HC levels on Day 61 ($p=0.6368$) and Day 91 ($p=0.5140$). On Day 61, the mean (SD) percent change in HC levels was -21.94 (19.034) and -17.49 (24.099) for subjects in the oral B₁₂ and IM B₁₂ treatment groups, respectively. On Day 91, the mean (SD) percent change in HC levels was -14.36 (28.375) and -8.805 (28.5406) for subjects in the oral B₁₂ and IM B₁₂ treatment groups, respectively.

31. Figure 3 shows the mean PCFB in HC levels by study day for the ITT population. Subjects in the oral B₁₂ treatment group showed normalized homocysteine acid levels at the first time point (Day 15). These subjects maintained normalized homocysteine levels throughout the duration of the study, up to and including Day 91.

32. The proportion of subjects in each treatment group whose plasma holotranscobalamin levels were normalized (≥ 40 pmol/L) on Day 61 and Day 91 (exploratory outcome) are presented in Table 3 (ITT population).

Table 3 – Holotranscobalamin (Active B₁₂) Responders

Study day	Statistics	Treatment group	
		Oral B ₁₂ (N=24)	IM B ₁₂ (N=26)
Day 15	n	23	26
	Responder (%) ¹	23 (100.0)	26 (100.0)
	Non-responder (%)	0 (0.0)	0 (0.0)
Day 61	n	22	26
	Responder (%) ¹	22 (100.0)	26 (100.0)
	Non-responder (%)	0 (0.0)	0 (0.0)
Day 91	N	22	26
	Responder (%) ¹	22 (100.0)	26 (100.0)
	Non-responder (%)	0 (0.0)	0 (0.0)

¹ - A responder is defined as a subject having a holotranscobalamin level ≥ 40 pmol/L. There was no sample for one subject as of Day 61 and therefore that subject was not counted in the responder or non-responder categories.

33. All (100%) subjects in both treatment groups, and in both populations, had plasma holotranscobalamin levels ≥ 40 pmol/L on Day 61 and on Day 91.

34. Scatter plots of holotranscobalamin levels in relation to cobalamin levels on Days 61 and 91 for subjects in each treatment group in the ITT population are provided in Figures 4 and 5.

35. Tables 4 and 5 present cobalamin, holotranscobalamin, MMA and HC individual data following IM and oral treatment, respectively. Figure 6 is a bar graph of mean (SD) serum cobalamin concentrations at baseline (Day 1) and Days 15, 31, 61, and 91 following both treatments. All enrolled patients screened by the clinical laboratory had cobalamin values < 350 pg/mL. When the validated cobalamin method was used 13 subjects in the oral group and 14

subjects in the IM group were $\geq$ or $=$ to 350 pg/mL. Most of these patients were within 10% of 350 pg/mL. All of the subjects showed cobalamin and holotranscobalamin normalization at day 61 and normalization was maintained at day 91. The biomarker MMA decreased in all patients who had elevated levels at screening. A total of 79% and 83% of people who were in the normal range at baseline had their level decreased at day 61 for the IM and oral treatment group, respectively. The biomarker homocysteine decreased in all patients who had elevated levels at screening. A total of 73% and 66% of people who were in the normal range at baseline had their level decreased at day 61 for the IM and oral treatment group, respectively.

Table 4 – IM Treatment Group

Parameter	Day	Mean	Standard Deviation (SD)	Percent Co-variance (%CV)
Total B ₁₂ (pg/mL)	1	369	180	49
	15	2434	1181	49
	61	2258	1082	48
	91	2057	935	45
HTC (pmol/L)	1	34.32	8.11	24
	15	899	353	39
	61	739	295	40
	91	877	405	46
MMA (nmol/L)	1	232	142	61
	15	128	41	32
	61	148	77	52
	91	149	63	42
Homocysteine (μmol/L)	1	13	3	24
	15	10	3	28
	61	11	3	26
	91	12	4	31

Table 5 – Oral Treatment Group

Parameter	Day	Mean	Standard Deviation (SD)	Percent Co-variance (%CV)
Total B ₁₂ (pg/mL)	1	390	186	48
	15	1687	996	59
	61	1828	1134	62
	91	1957	946	48
HTC (pmol/L)	1	40	16	41
	15	545	371	68
	61	519	337	65
	91	646	431	67
MMA (nmol/L)	1	220	123	56
	15	143	61	43
	61	139	87	63
	91	124	47	38
Homocysteine (μmol/L)	1	14	5	34
	15	11	3	27
	61	10	3	26
	91	11	3	29

Safety Profile

36. A total of 50 healthy adult male and female subjects were exposed at least once to study drug during this study. Overall, 28 (56.0%) subjects reported at least one AE during the study. All AEs reported were considered treatment-emergent AEs (TEAEs). Thirteen (54.2%) and 15 (57.7%) subjects reported at least one AE following administration of oral B₁₂ and IM B₁₂, respectively. Three (11.5%) subjects, all receiving IM B₁₂, reported serious adverse events (SAEs). No subjects discontinued study treatment because of an AE.

Conclusion

37. In this selected study population comprising individuals with low B₁₂ levels (cobalamin <350 pg/mL) but otherwise in good health, both oral and IM B₁₂ treatments were effective in restoring normal B₁₂ levels (cobalamin >350 pg/mL) in all subjects studied (100%). Normalization of B₁₂ levels was achieved at the first time point measured (study day 15) and might occur earlier. The rapid normalization of cobalamin levels and lowering of MMA and HC levels together with the high response rate to the oral B₁₂ treatment are surprising and unexpected. In addition this effect was maintained for the 3-month duration of the study. The study population included subjects who might have been expected to have age-related B₁₂ deficiency and some who had underlying gastrointestinal conditions known to interfere with B₁₂ absorption. The study population also included subjects on a restricted diet (i.e., vegan or vegetarian) or on drugs known to interfere with B₁₂ absorption (i.e., proton pump inhibitors). Despite normalization of cobalamin in all subjects, differences were apparent between the two treatment regimens. The standard IM dosing regimen used in this study involved multiple injections in the first month and produced higher values for cobalamin than oral B₁₂. With IM dosing frequency changed to monthly, mean cobalamin values trended lower between months 2 and 3. In contrast daily oral B₁₂ treatment resulted in improvement in cobalamin values throughout the study and by Day 91 the mean values for the two treatment groups were similar (2057 ± 935 pg/mL and 1957 ± 946 pg/mL for IM and oral B₁₂, respectively).

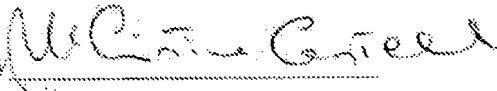
38. I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.

Application No.: 12/262,677

37
Docket No.: 134387.12215

Dated: April 11, 2011

Respectfully submitted,

By 

Cristina Castelli, Ph.D.

34

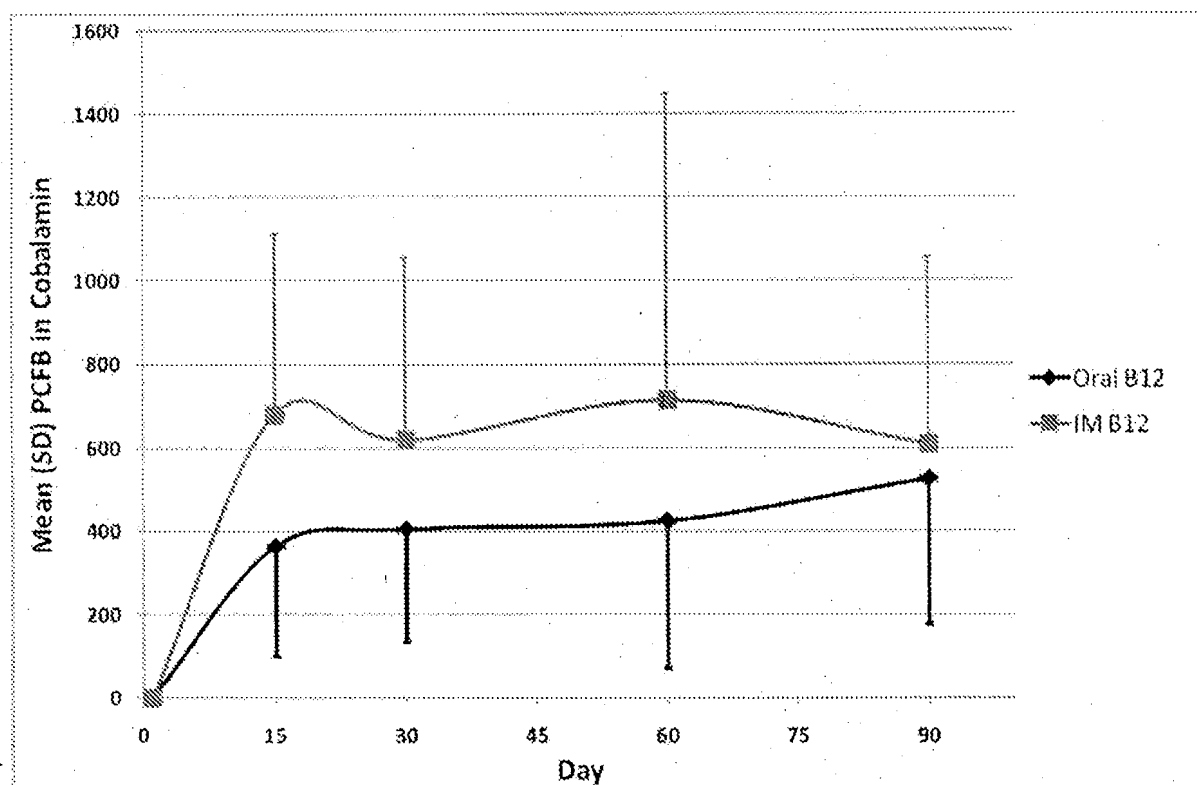


Figure 1

35

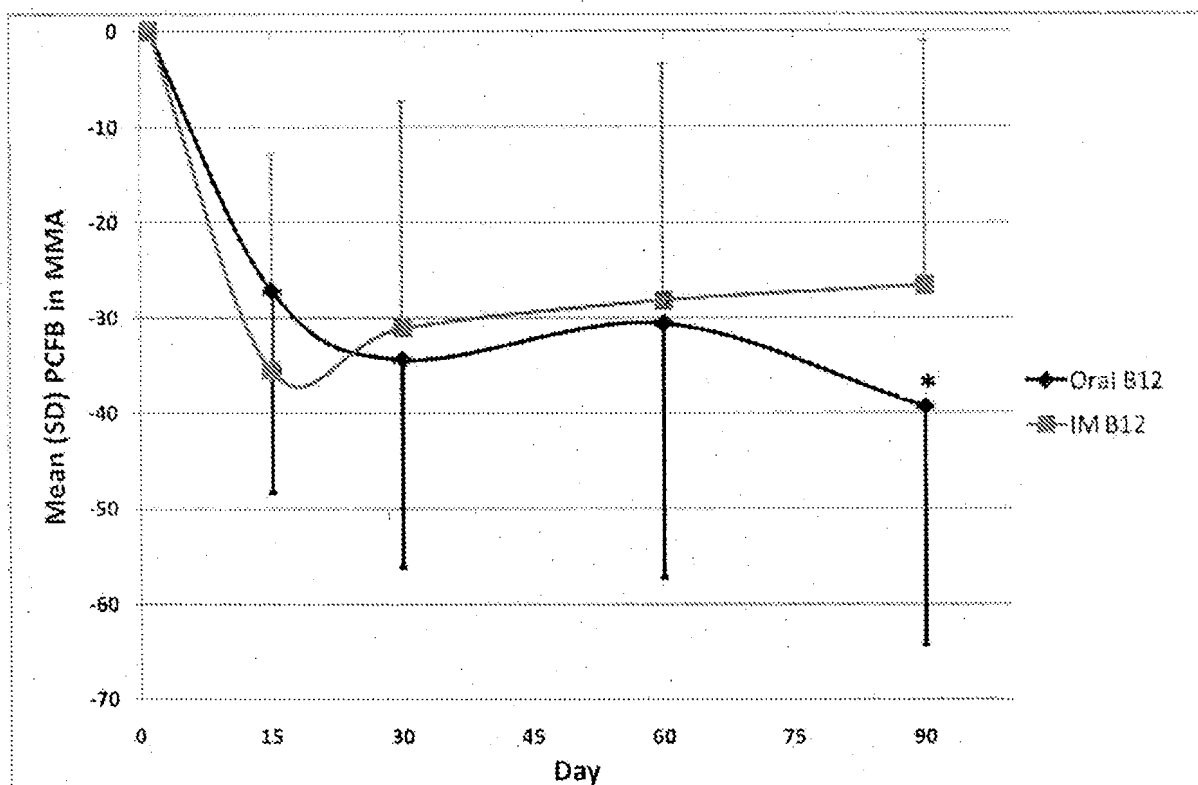


Figure 2

36

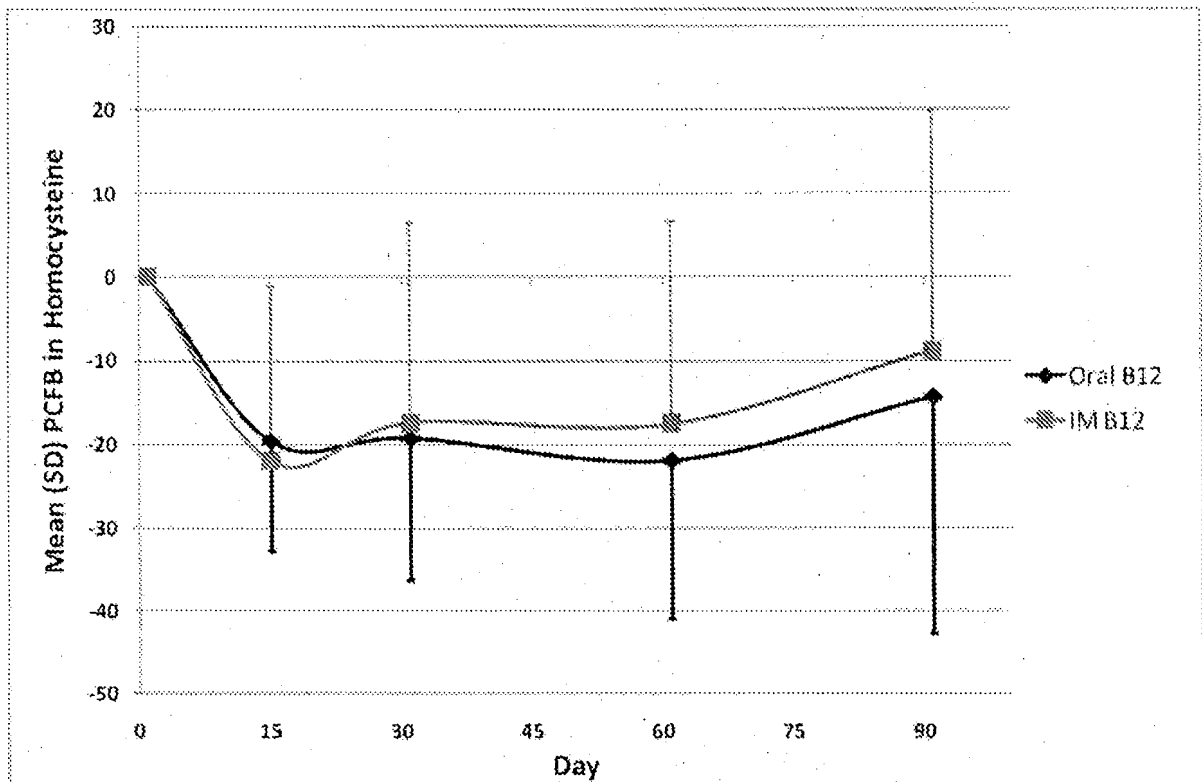


Figure 3

37

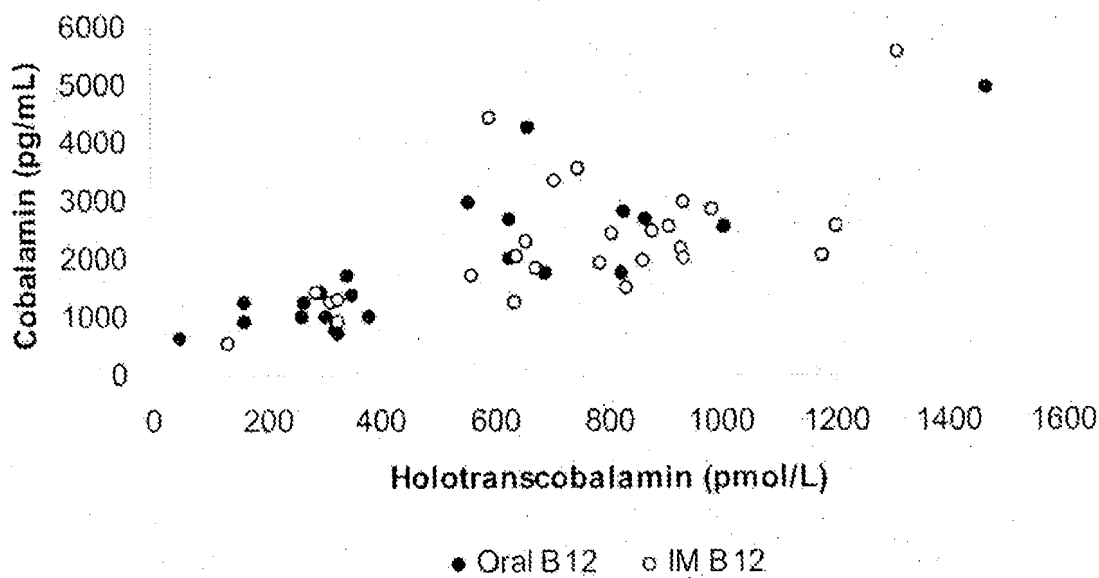


Figure 4

38

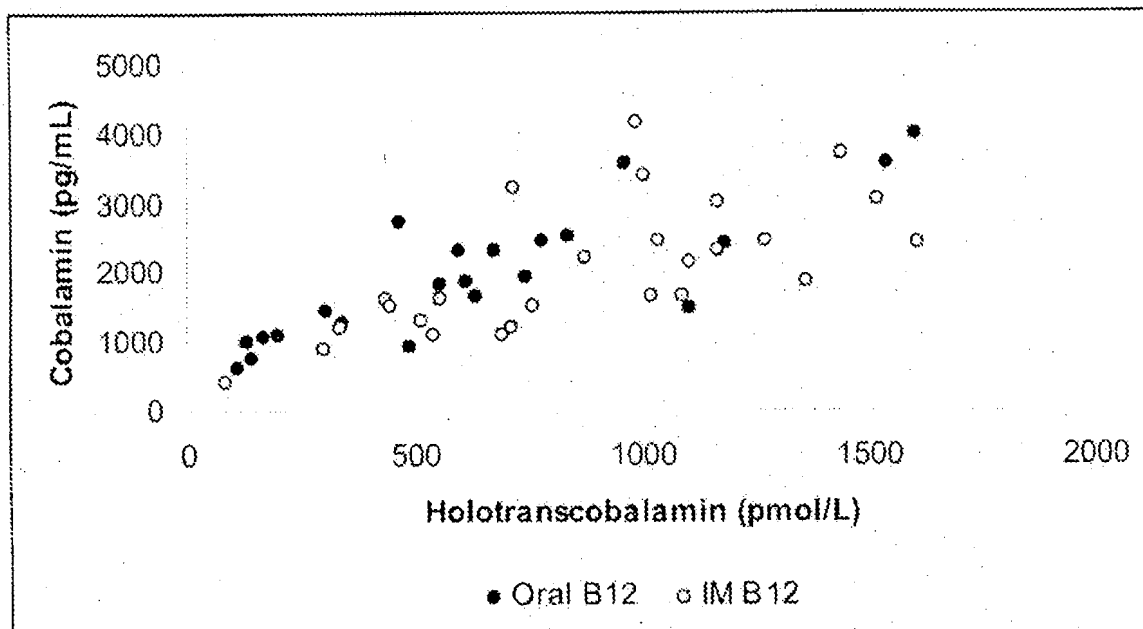


Figure 5

39

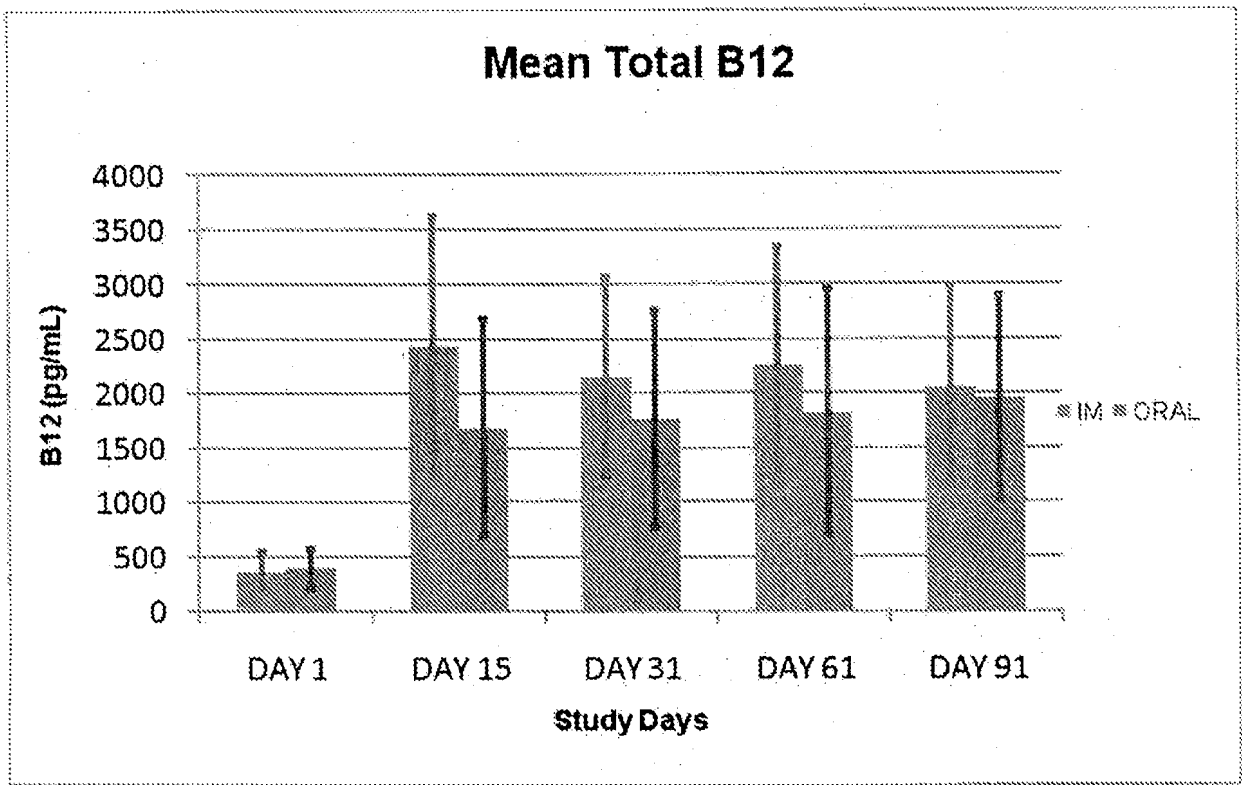


Figure 6

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.029-2

-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 144148

Bogotá D.C., Diciembre 28 de 2012 - 11:33:27

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.

NI 800.098.704

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	453460530	28/12/2012	1.100.000.00
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	455460541	28/12/2012	3.515.000.00
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	544560552	28/12/2012	4.170.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 16 INICIALES	30.000.00	30.000.00
			\$30.000.00

SON: **TREINTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



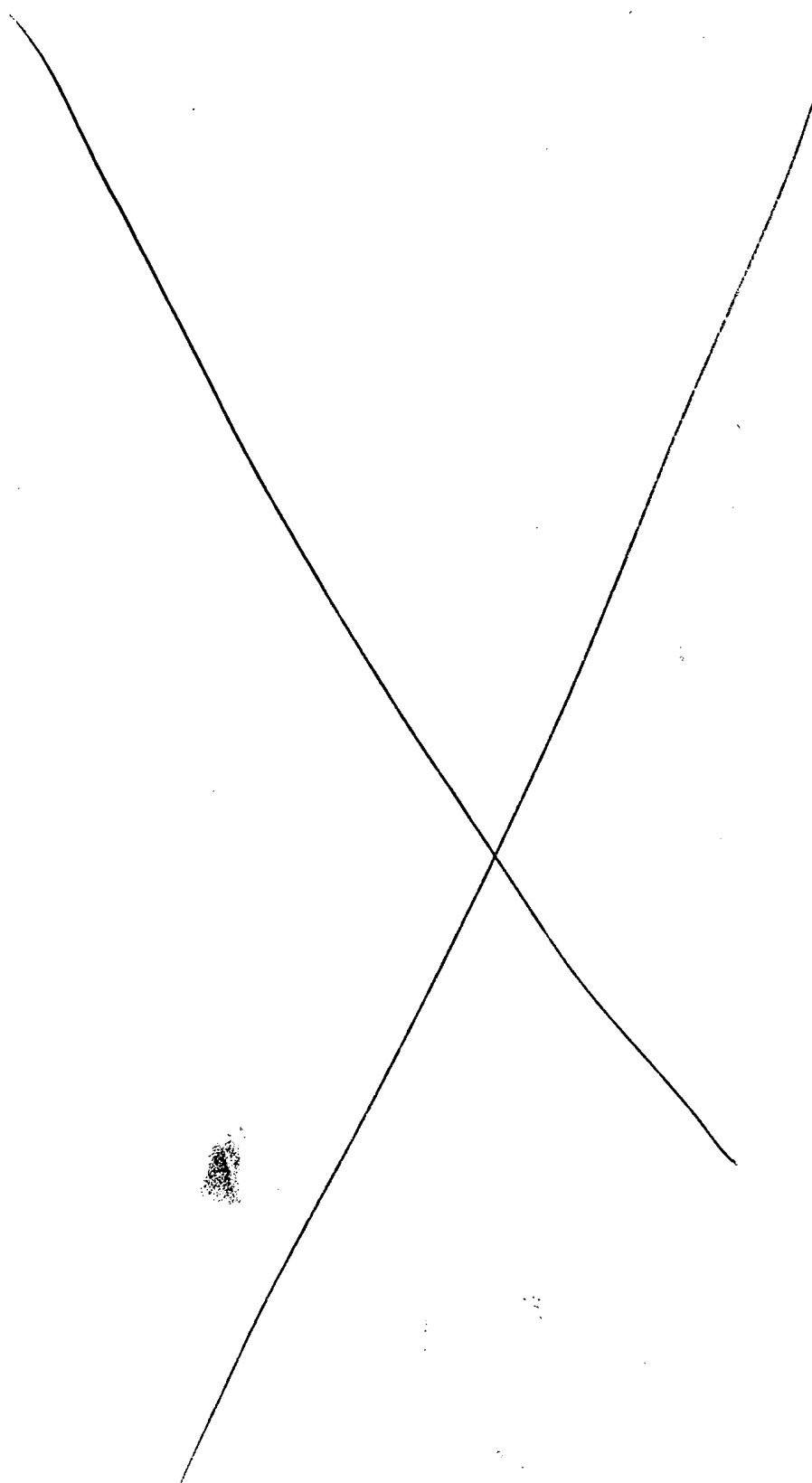
No. 10-066425- -00011-0000

Fecha: 2012-12-28 18:54:00 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 40

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3, 4, 5 y 16 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Comutador: (571) 5670000 Fax: (571) 5670284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513249

Diciembre 28 de 2012 - 11:33:38



Castillo Grau & Asociados

ABOGADOS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-171852-00002-0000

Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8

Señores:

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá, D.C.

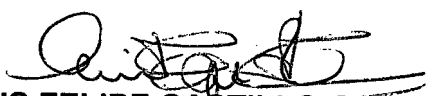
Re.: Código 011 – 378 – 13
Expediente No. 12 – 171.852
Fase Nacional de Solicitud
de Patente PCT
EKO INDIA FINANCIAL SERVICES
PVT. LTD.

En relación con el Expediente de la referencia y dando cumplimiento a la última providencia recaída sobre este asunto por medio del presente escrito me permito solicitarles una prórroga de dos (2) meses adicionales para aportar la información y documentación faltante.

Acompaño el recibo de pago No. _____

141594 1597 600
595 598
176 309

De Usted atentamente,


LUIS FELIPE CASTILLO GIBSON
T.P. No. 68.995 del C.S.J.

2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 141594

Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2012 - 13:09:09

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.

NI 800.098.704

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	491915745	21/12/2012	1.970.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	BENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21	CERTIFICACIONES
			15.000.00	15.000.00
				\$15.000.00

SON: **QUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-171852-00002-0000

Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8

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

, Diciembre 21 de 2012 - 13:09:11

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

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 141595
		Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2012 - 13:09:09

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.	NI 800.098.704
---	----------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	491915745	21/12/2012	1.970.000.00

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. LINDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	15.000.00	15.000.00
				\$15.000.00
=====				

SON: **QUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-171852- -00002-0000
Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR. NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8

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

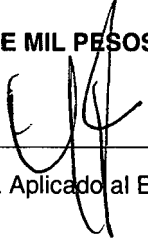
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 141596
		Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2012 - 13:09:09

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.	NI 800.098.704
---	----------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	491915745	21/12/2012	1.970.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	15.000.00 15.000.00
			\$15.000.00

SON: **QUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-171852- -00002-0000
Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8

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



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 141597

Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2012 - 13:09:09

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.

NI 800.098.704

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	491915745	21/12/2012	1.970.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	15.000.00	15.000.00
				\$15.000.00

SON: **QUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-171852- -00002-0000

Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8

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

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

Diciembre 21 de 2012 - 13:09:11

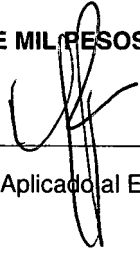
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
-/-

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 141598
		Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2012 - 13:09:09

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.					NI 800.098.704
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	491915745	21/12/2012	1.970.000.00

*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	15.000.00	15.000.00	\$15.000.00
			=====		

SON: **QUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-171852- -00002-0000
Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 141599

Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2012 - 13:09:09

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.

NI 800.098.704

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	491915745	21/12/2012	1.970.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	21 CERTIFICACIONES	15.000.00	15.000.00
				\$15.000.00

SON: **QUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-171852-00002-0000

Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8

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

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

, Diciembre 21 de 2012 - 13:09:11

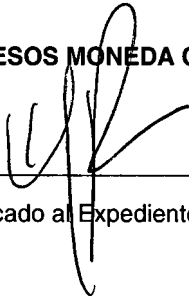
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 141600
		Bogotá D.C., Diciembre 21 de 2012 - 13:09:09

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.					NI 800.098.704
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	491915745	21/12/2012	1.970.000.00

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	10.000.00	10.000.00
				\$10.000.00
=====				

SON: **DIEZ MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-171852- -00002-0000
Fecha: 2012-12-28 18:55:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 467 SOLPRORROGASOL Folios: 8