

10
129727

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 02102350 00000001 Folios: 21
Fecha (AMD): 2003-06-11 16:11:17
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 329 COMPLETEN
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: P1.-F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.-Solicitud de Patente
de Invención en Fase Nacional PCT para
"COMPOSICION FARMACEUTICA LIQUIDA".-Clase
A61K 38/18.-Expediente número 02-102.350.-

1. Me refiero a mi Solicitud de Patente de 12 de Noviembre de 2002.

2. Por medio del presente me permito manifestar a usted que en ejercicio del derecho conferido por el Artículo 28 numeral 1 del Tratado de Cooperación en materia de Patentes PCT, el capítulo reivindicatorio tal como fue presentado originalmente en Fase Internacional fue modificado al momento de su presentación en Fase Nacional, quedando con 58 reivindicaciones.

Las modificaciones realizadas se encuentran plenamente sustentadas en la descripción de la presente Invención y en este sentido, no configuran una ampliación del invento o de la divulgación contenida en la solicitud presentada.

3. Por consiguiente anexo me permito presentar copia del capítulo reivindicatorio correspondiente a la solicitud de la referencia, que consta de 60 reivindicaciones, tal como fue presentado originalmente en Fase Internacional, junto con su traducción.

130

128

4. Ruego a usted tomar atenta nota de lo anterior y proceder de conformidad.

Señor Superintendente,

JOSE ANTONIO LLOREDA

T.P. 10.784

Código 231

CLAIMS

1. A liquid pharmaceutical composition comprising an erythropoietin protein, a multiple charged inorganic anion in a pharmaceutically acceptable buffer
5 suitable to keep the solution pH in the range from about 5.5 to about 7.0, and optionally one or more pharmaceutically acceptable excipients.
2. The composition according to claim 1 which is an aqueous solution.
3. The composition according to claims 1 to 2 which is an isotonic solution.
4. The composition according to claims 1 to 3 wherein the anion is an anion of a
10 multiple charged strong inorganic acid.
5. The composition according claims 1 to 4 wherein the anion is selected from the group consisting of sulfate, citrate or phosphate.
6. The composition according to claims 1 to 5 wherein the anion is a sulfate anion.
7. The composition according to claim 6 comprising 10 to 200 mmol/l sulfate.
- 15 8. The composition according to claims 1 to 7 wherein the pH is 5.8 to 6.7
9. The composition according to claim 8 wherein the pH is 6.0 to 6.5
10. The composition according to claim 9 the pH is about 6.2.
11. The composition according to claims 1 to 10 wherein the buffer is selected from the group consisting of a phosphate or an arginine/H₂SO₄/Na₂SO₄ buffer.
- 20 12. The composition according to claim 11 wherein the buffer is a 10 to 50 mmol phosphate buffer.
13. The composition according claims 1 to 12 wherein the composition comprises one or more pharmaceutically acceptable excipients.
- 25 14. The composition according to claim 13 wherein one or more pharmaceutically acceptable excipients are selected from the group consisting of pharmaceutically acceptable salts, diluents, solvents and preservatives.

15. The composition according to claims 13 and 14 wherein the pharmaceutically acceptable excipients are selected from the group consisting of tonicity agents, polyols, anti-oxidants and non-ionic detergents.
- 5 16. The composition according to claims 13 to 15 wherein the pharmaceutically acceptable excipient a polyol.
17. The composition according to claim 16 wherein the polyol is selected from the group consisting of mannitol, sorbitol, glycerol, trehalose and saccharose.
18. The composition according to claim 17 wherein the polyol is mannitol.
19. The composition according to claims 13 to 18 comprising an anti-oxidant.
- 10 20. The composition according to claim 19 wherein the anti-oxidant is methionine.
21. The composition according to claims 13 to 20 comprising up to 1 mmol/l CaCl_2 .
22. The composition according to claims 15 to 22 wherein the non-ionic detergent is polysorbate 80, polysorbate 20 or pluronic F68.
- 15 23. The composition according to claim 22 wherein the non-ionic detergent is pluronic F68.
24. The composition according to claims 22 or 23, wherein the composition comprises up to 1% (w/v) of the non-ionic detergent.
25. The composition according to any of claims 22 to 24, wherein the composition comprises up to 0.1% (w/v) of the non-ionic detergent.
- 20 26. The composition according to claims 1 to 25 wherein the erythropoietin protein is a human erythropoietin.
27. The composition according to claim 26 wherein the erythropoietin protein is expressed by endogenous gene activation.
- 25 28. The composition according to claims 26 to 27 wherein the erythropoietin protein has the amino acid sequence of SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:2.
29. The composition according to claims 26 to 28 wherein the protein has the sequence of human erythropoietin modified by the addition of from 1 to 6 glycosylation sites.

30. The composition according to claims 26 to 28 wherein the erythropoietin protein has the sequence of human erythropoietin modified by a modification selected from the group consisting of:

5 Asn³³Thr³²;
 Asn⁵¹Thr⁵³;
 Asn⁵⁷Thr⁵⁹;
 Asn⁶³;
 Asn⁶³Thr⁷¹;
 Ser⁶⁸Asn⁶⁸Thr⁷¹;
10 Val⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Gly⁸⁹Thr⁹⁰;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰Thr⁹²;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰Ala¹⁶²;
15 Asn⁶³Thr⁷¹Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Asn³³Thr³²Val⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Asn⁸³Ile⁹⁰Thr⁹¹;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁹Ile⁹⁰Thr⁹¹;
 Asn¹¹⁶Thr¹³⁸;
20 Asn¹¹⁸Thr¹⁴⁰;
 Thr¹²⁵; and
 Pro¹²⁴Thr¹²⁵.

- 25 31. The composition of according to claims 26 to 30, wherein the sequence of human erythropoietin is modified by a rearrangement of at least one glycosylation site.
32. The composition of claim 31, wherein the rearrangement comprises deletion of any of the N-linked glycosylation sites in human erythropoietin and addition of an N-linked glycosylation site at position 88 of the sequence of human erythropoietin.
- 30 33. The composition of claim 31, wherein the glycoprotein has the sequence of human erythropoietin modified by a modification selected from the group consisting of

Gln²⁴Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;

133
132

Gln³³ Ser⁸⁷ Asn⁸⁸ Thr⁹⁰; and
Gln⁸³ Ser⁸⁷ Asn⁸⁸ Thr⁹⁰.

34. The composition according to claims 26 to 33, wherein the erythropoietin protein as defined in any of claims is pegylated.

5 35. The composition according to claim 34, wherein the erythropoietin protein is a conjugate, said conjugate comprising an erythropoietin glycoprotein having at least one free amino group and having the *in vivo* biological activity of causing bone marrow cells to increase production of reticulocytes and red blood cells and selected from the group consisting of human erythropoietin and analogs thereof which have sequence of human erythropoietin modified by the addition
10 of from 1 to 6 glycosylation sites or a rearrangement of at least one glycosylation site; said glycoprotein being covalently linked to "n" poly(ethylene glycol) groups of the formula $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_x-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_m-\text{OR}$ with the $-\text{CO}$ of each poly(ethylene glycol) group forming an amide bond with one of said amino
15 groups; wherein R is lower alkyl; x is 2 or 3; m is from about 450 to about 900; n is from 1 to 3; and n and m are chosen so that the molecular weight of the conjugate minus the erythropoietin glycoprotein is from 20 kilodaltons to 100 kilodaltons.

20 36. The composition according to claim 35 with an erythropoietin protein of the formula:

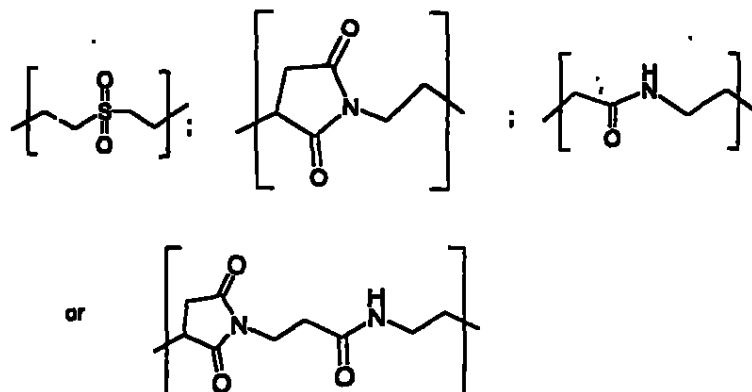


wherein m, n, x and R are as above, and P is the residue of the glycoprotein without the n amino group(s) which form amide linkage(s) with the poly(ethylene glycol) group(s).

25 37. The composition according to claim 36, wherein in formula (I) x is 2, m is 650 to 750, n is 1, and R is methyl.

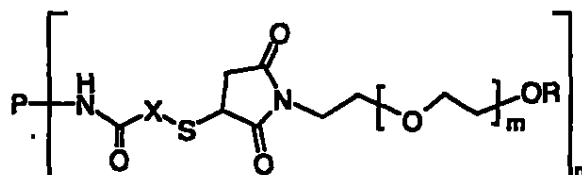
30 38. The composition according to claim 34, wherein the erythropoietin protein is a conjugate, said conjugate comprising an erythropoietin glycoprotein having at least one free amino group and having the *in vivo* biological activity of causing bone marrow cells to increase production of reticulocytes and red blood cells and selected from the group consisting of human erythropoietin and analogs thereof which have the primary structure of human erythropoietin modified by the addition of from 1 to 6 glycosylation sites; said glycoprotein being covalently

linked to from one to three lower-alkoxy poly(ethylene glycol) groups, each poly(ethylene glycol) group being covalently linked to the glycoprotein *via* a linker of the formula $-C(O)-X-S-Y-$ with the $C(O)$ of the linker forming an amide bond with one of said amino groups, X is $-(CH_2)_k-$ or $-CH_2(O-CH_2-CH_2)_k-$, k is from 1 to 10, Y is



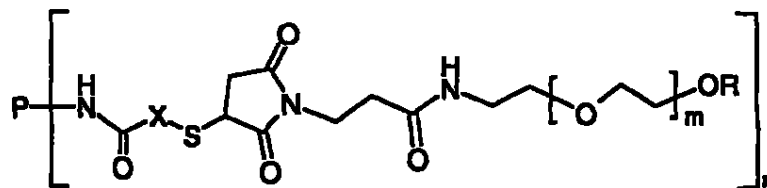
the average molecular weight of each poly(ethylene glycol) moiety is from about 20 kilodaltons to about 40 kilodaltons, and the molecular weight of the conjugate is from about 51 kilodaltons to about 175 kilodaltons.

10 39. The conjugate of claim 38, of the formula:



wherein n is an integer from 1 to 3; m is an integer from 450 to 900; R is lower alkyl; X is $-(CH_2)_k-$ or $-CH_2(O-CH_2-CH_2)_k-$, and P is the residue of the erythropoietin glycoprotein without the amino group or groups which form an amide linkage with X.

15 40. The conjugate of claim 39, of the formula:



135
134

wherein n is an integer from 1 to 3; m is an integer from 450 to 900; R is lower alkyl; X is $-(CH_2)_k-$ or $-CH_2(O-CH_2-CH_2)_k-$, and P is the residue of the erythropoietin glycoprotein without the amino group or groups which form an amide linkage with X.

5

41. The composition of claims 1 to 40 comprising 10 μ g to 10000 μ g erythropoietin protein per ml.
42. The composition of claims 1 to 41 comprising 10 μ g to 10000 μ g erythropoietin protein per ml, 10 – 200 mmol/l sulfate, and 10 to 50 mmol/l phosphate pH 6.0 to 6.5.
- 10 43. The composition of claim 42 comprising up to 20 mM methionine, 1 – 5 % of a polyol (w/v), up to 0.1% pluronic F68 (w/v) and optionally up to 1 mM $CaCl_2$.
44. The composition according to claim 42 or 43 comprising 10 μ g to 10000 μ g erythropoietin protein per ml, 40 mmol/l sulfate, 10 mmol/l phosphate, 3% mannitol (w/v), 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68 (w/v), pH 6.2.
- 15 45. The composition claims 1 to 41 comprising 10 μ g to 10000 μ g erythropoietin protein per ml, 10 to 100 mmol/l NaCl, 10 to 50 mmol/l phosphate pH 6.0 to 7.0, optionally 1-5% of a polyol.
46. The composition of claim 45 up to 20 mM methionine, up to 0.1% pluronic F68 and optionally 7.5 μ mol/l $CaCl_2$.
- 20 47. The composition of claim 45 or 46 comprising 10 μ g to 10000 μ g erythropoietin protein per ml, 100 mmol/l NaCl, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68, and 10 mmol/l phosphate, pH 7.0.
48. The composition of claims 1 to 41 comprising 10 μ g to 10000 μ g erythropoietin protein per ml, 10 to 50 mmol/l arginine, pH 6 to pH 6.5, 10 to 100 mmol/l sodium sulfate.
- 25 49. The composition of claim 48 comprising up to 20 mM methionine, up to 0.1% pluronic F68, optionally up to 1 mmol/l $CaCl_2$ and optionally 1 – 5 % of a polyol.

50. The composition of claims 48 or 49, comprising 10 µg to 10000 µg erythropoietin protein per ml, 40 mmol/l arginine, pH 6.2, 30 mmol/l sodium sulfate, 3 % mannitol, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68 and optionally 1 mmol/l CaCl₂.
- 5 51. The composition according to claims 1 to 41 comprising 25 to 2500 µg/ml erythropoietin and
- 10 a) 10 mM sodium/potassium phosphate, 100 mM NaCl, pH 7.0 or
b) 10 mM sodium phosphate, 120 mM sodium sulfate, pH 6.2 or
c) 10 mM sodium phosphate, 40 mM sodium sulfate, 3% mannitol, pH 6.2
or
d) 10 mM sodium phosphate, 40 mM sodium sulfate, 3% mannitol, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68, pH 6.2 or
e) 40 mM arginine, 30 mM sodium sulfate, 3% mannitol, pH 6.2 or
f) 40 mM arginine, 30 mM sodium sulfate, 3% mannitol, 10 mM
15 methionine, 0.01% pluronic F68, pH 6.2.
52. The composition of claims 1 to 51 wherein the amount of erythropoietin is 50, 100, 400, 800 or 2500 µg/ml.
53. The composition of claim 52 comprising 10 mM sodium phosphate, 40 mM sodium sulfate, 3% mannitol, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68, pH 6.2.
- 20 54. The composition of claim 52 comprising 40 mM arginine, 30 mM sodium sulfate, 3% mannitol, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68, pH 6.2.
55. The composition of claims 1 to 54 which is a lyophilisate or a spray-dried powder.
- 25 56. A process for preparing a composition according to any of claims 1 - 54, comprising mixing a erythropoietin protein with a solution comprising a multiple, negatively charged anion and optionally one or more pharmaceutically acceptable excipients.
- 30 57. Use of a composition according to any of claims 1 - 54 for the preparation of medicaments useful for the treatment and prevention of diseases correlated with anemia in chronic renal failure patients (CRF), AIDS and/or for the treatment of cancer patients undergoing chemotherapy.

58. Method for the treatment and prevention of diseases involving anemia in chronic renal failure patients (CRF), AIDS and cancer patients undergoing chemotherapy, comprising the step of administering to a patient a composition as claimed in any one of claims 1 to 54.
- 5 59. Device for local and systemic sustained release comprising a composition according to any of claims 1 - 54.
60. The invention as hereinbefore described.

Reivindicaciones

1. Una composición farmacéutica líquida que contiene una proteína eritropoyetina, un anión inorgánico de carga múltiple en un tampón farmacéuticamente aceptable,
5 idóneo para mantener el pH de la solución en un intervalo comprendido entre 5,5 y 7,0 y opcionalmente uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables.
2. La composición según la reivindicación 1 en forma de solución acuosa.
- 10 3. La composición según las reivindicaciones 1 y 2 en forma de solución isotónica.
4. La composición según las reivindicaciones de 1 a 3 en la que el anión es un anión de un ácido inorgánico fuerte y provisto de carga múltiple.
- 15 5. La composición según las reivindicaciones de 1 a 4, en la que el anión se elige entre el grupo formado por sulfato, citrato y fosfato.
6. La composición según las reivindicaciones de 1 a 5, en la que el anión es el anión sulfato.
- 20 7. La composición según la reivindicación 6 que contiene de 10 a 200 mmoles/l de sulfato.
8. La composición según las reivindicaciones de 1 a 7, en la que el pH se sitúa entre 5,8 y 6,7.
9. La composición según la reivindicación 8 en la
25 que el pH se sitúa entre 6,0 y 6,5.
10. La composición según la reivindicación 9 en la que el pH se sitúa en torno a 6,2.
11. La composición según las reivindicaciones de 1

a 10 en la que el tampón se elige entre el grupo formado por un tampón fosfato y un tampón arginina/H₂SO₄/Na₂SO₄.

12. La composición según la reivindicación 11 en la que el tamón es un tampón fosfato de 10 a 50 mmolar.

5 13. La composición según las reivindicaciones de 1 a 12, caracterizada porque consta de uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables.

10 14. La composición según la reivindicación 13 caracterizada porque uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables se eligen entre el grupo formado por sales, diluyentes, disolventes y conservantes farmacéuticamente aceptables.

15 15. La composición según las reivindicaciones 13 y 14 en la que los excipientes farmacéuticamente aceptables se eligen del grupo formado por agentes tonificadores, polioles, antioxidantes y detergentes no iónicos.

16. La composición según las reivindicaciones de 13 a 15 en la que el excipiente farmacéuticamente aceptable es un poliol.

20 17. La composición según la reivindicación 16, en la que el poliol se elige del grupo formado por la manita, la sorbita, la glicerina, la trehalosa y la sacarosa.

25 18. La composición según la reivindicación 17, en la que el poliol es la manita.

19. La composición según las reivindicaciones de 13 a 18 que comprende un antioxidante.

20. La composición según la reivindicación 19 en la

que el antioxidante es la metionina.

21. La composición según las reivindicaciones de 13 a 20 que contiene hasta 1 mmol/l de CaCl_2 .

22. La composición según las reivindicaciones de 15 a 22, en la que el detergente no iónico es el polisorbato 80, polisorbato 20 o el Pluronic F68.

23. La composición según la reivindicación 22, en la que el detergente no iónico es el Pluronic F68.

24. La composición según las reivindicaciones 22 ó 23, caracterizada porque contiene hasta un 1 % (p/v) de detergente no iónico.

25. La composición según una de las reivindicaciones de 22 a 24, caracterizada porque contiene hasta un 0,1 % (p/v) de detergente no iónico.

26. La composición según una de las reivindicaciones de 1 a 25 caracterizada porque la proteína eritropoyetina es la eritropoyetina humana.

27. La composición según la reivindicación 26, en la que la proteína eritropoyetina se expresa por activación genética endógena.

28. La composición según las reivindicaciones 26 y 27 caracterizada porque la proteína eritropoyetina tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:1 o la SEQ ID NO:2.

29. La composición según las reivindicaciones de 26 a 28, en la que la proteína tiene la secuencia de la eritropoyetina humana modificada por adición de 1 a 6 sitios de glicosilación.

141
140

30. La composición según las reivindicaciones de 26 a 28 en la que la proteína eritropoyetina tiene la secuencia de la eritropoyetina humana modificada con una de las variantes elegida del grupo siguiente:

- 5 Asn³⁰Thr³²;
 Asn⁵¹Thr⁵³;
 Asn⁵⁷Thr⁵⁹;
 Asn⁶⁹;
 Asn⁶⁹Thr⁷¹;
10 Ser⁶⁸Asn⁶⁹Thr⁷¹;
 Val⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Gly⁸⁹Thr⁹⁰;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰Thr⁹²;
15 Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰Ala¹⁶²;
 Asn⁶⁹Thr⁷¹Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Asn³⁰Thr³²Val⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
 Asn⁸⁹Ile⁹⁰Thr⁹¹;
 Ser⁸⁷Asn⁸⁹Ile⁹⁰Thr⁹¹;
20 Asn¹³⁶Thr¹³⁸;
 Asn¹³⁸Thr¹⁴⁰;
 Thr¹²⁵; y
 Pro¹²⁴Thr¹²⁵.

31. La composición según las reivindicaciones de 26 a 30, en la que la secuencia de la eritropoyetina humana está modificada por un reordenamiento de por lo menos un sitio de glicosilación.

32. La composición según la reivindicación 31, en

la que el reordenamiento consiste en la eliminación de cualquier sitio de glicosilación unido mediante N de la eritropoyetina humana y en la adición de un sitio de glicosilación unido mediante N en la posición 88 de la
5 secuencia de la eritropoyetina humana.

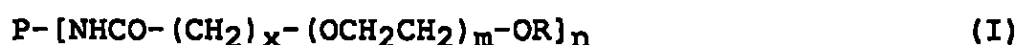
33. La composición según la reivindicación 31, en la que la glicoproteína tiene la secuencia de la eritropoyetina humana modificada con una modificación elegida entre el grupo siguiente:
10 Gln²⁴Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰;
Gln³⁸Ser⁸⁷Asn⁸⁸Thr⁹⁰; y
Gln⁸³Ser⁸⁷Asn⁸⁸ Thr⁹⁰.

34. La composición según las reivindicaciones de 26 a 33, caracterizada porque la proteína eritropoyetina
15 definida en una cualquiera de las reivindicaciones está pegilada.

35. La composición según la reivindicación 34, caracterizada porque la proteína eritropoyetina es un conjugado, dicho conjugado comprende una proteína eritropoyetina provista de por lo menos un grupo amino libre y provista de una actividad biológica "in vivo" que aumenta la producción de reticulocitos y de glóbulos rojos en la médula ósea y se elige entre el grupo formado por la eritropoyetina humana y los análogos de la misma que
20 tengan la secuencia de la eritropoyetina humana modificada por la adición de 1 a 6 sitios de glicosilación o un reordenamiento de por lo menos un sitio de glicosilación; dicha eritropoyetina está unida con enlace cova-

lente a "n" grupos polietilenglicol de la fórmula $\text{-CO-}(\text{CH}_2)_x\text{-(OCH}_2\text{CH}_2)_m\text{-OR}$, formando el grupo -CO (es decir, carbonilo) de cada grupo polietilenglicol un enlace amídico con uno de dichos grupos amino; en ella, R es alquilo de bajo peso molecular; x es el número 2 ó 3; m es un número entre aprox. 450 y aprox. 900; n es un número de 1 a 3; y n y m se eligen de tal manera que el peso molecular del conjugado menos la glicoproteína eritropoyetina se sitúe entre 20 y 100 kilodaltones.

36. La composición según la reivindicación 35 con una proteína eritropoyetina de la fórmula:



en la que m, n, x y R tienen los significados definidos antes y P es el resto de una glicoproteína sin los n grupos amino que forman enlaces amida con los grupos polietilenglicol.

37. La composición según la reivindicación 36, en la que en la fórmula (I), x es 2, m es un número de 650 a 750 y n es el número 1 y R es metilo.

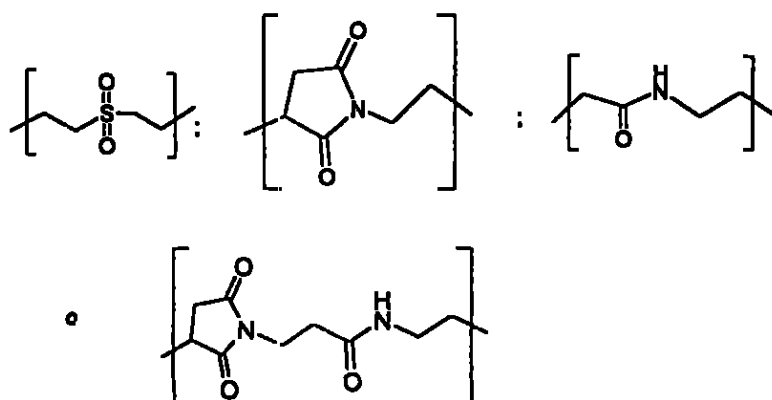
38. La composición según la reivindicación 34, en la que la proteína eritropoyetina es un conjugado, dicho conjugado está provisto por lo menos de un grupo amino libre y provisto de una actividad biológica "in vivo" que aumenta la producción de reticulocitos y de glóbulos rojos en la médula ósea y elegida entre el grupo formado por la eritropoyetina humana y análogos de la misma que tengan la estructura primaria de la eritropoyetina humana modificada por la adición de 1 a 6 sitios de glicosi-

lación; dicha glicoproteína está unida por enlace covalente con grupos (alcoxi de bajo peso molecular)-polietilenglicol en un número de uno a tres, cada grupo polietilenglicol está unido mediante enlace covalente a la glicoproteína mediante un engarce de la fórmula

5 -C(O)-X-S-Y-, formando el C(O) del engarce o eslabón un enlace amida con uno de dichos grupos amino, X es -(CH₂)_k- o -CH₂(O-CH₂-CH₂)_k-, k es un número de 1 a 10, Y es

10

15

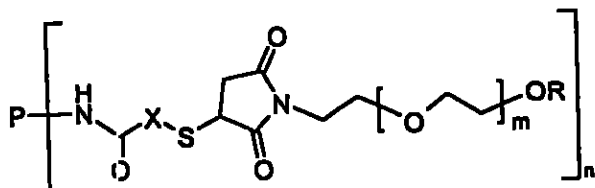


20

el peso molecular medio de cada fracción polietilenglicol se sitúa entre 20 kilodaltones y 40 kilodaltones y el peso molecular del conjugado se sitúa entre 51 kilodaltones y 175 kilodaltones.

39. El conjugado de la reivindicación 38 de la fórmula

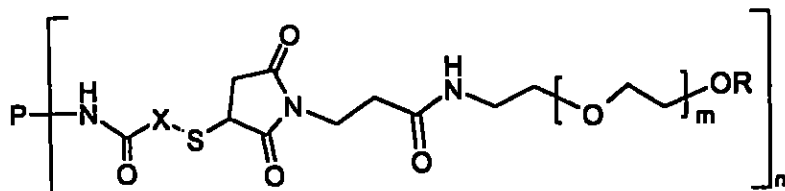
5



en la que n es un número entero de 1 a 3; mes un número entero de 450 a 900; R es alquilo de bajo peso molecular; X es $-(\text{CH}_2)_k-$ o $-\text{CH}_2(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_k-$, y P es el resto de una glicoproteína eritropoyetina sin el grupo amino o los grupos aminos que forman un enlace amida con X.

40. El conjugado de la reivindicación 39, de la fórmula:

15



20

en la que n es un número entero de 1 a 3; mes un número entero de 450 a 900; R es alquilo de bajo peso molecular; X es $-(\text{CH}_2)_k-$ o $-\text{CH}_2(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_k-$, y P es el resto de una glicoproteína eritropoyetina sin el grupo amino o los grupos aminos que forman un enlace amida con X.

25

41. La composición según las reivindicaciones de 1 a 40 que consta de 10 a 10.000 μg de proteína eritropoyetina por ml.

42. La composición según las reivindicaciones de 1 a 41 que consta de 10 a 10.000 µg de proteína eritropoyetina por ml, de 10 a 200 mmoles/l de sulfato y de 10 a 50 mmoles/l de fosfato, pH de 6,0 a 6,5.

5 43. La composición de la reivindicación 42 que contiene metionina hasta 20 mM, del 1 al 5 % de poliol (p/v), hasta un 0,1 % de Pluronic F68 (p/v) y opcionalmente CaCl₂ hasta 1 mM.

10 44. La composición según las reivindicaciones 42 ó 43 que contiene del 10 a 10.000 µg de proteína eritropoyetina por ml, 40 mmoles/l de sulfato, 10 mmoles/l de fosfato, el 3 % de manita (p/v), metionina 10 mM, un 0,01 % de Pluronic F68 (p/v), pH 6,2.

15 45. La composición de las reivindicaciones 1 a 41 que contiene de 10 a 10.000 µg de proteína eritropoyetina por ml, de 10 a 100 mmoles/l de NaCl, de 10 a 50 mmoles/l de fosfato, pH de 6,0 a 7,0, opcionalmente del 1 al 5 % de un poliol.

20 46. La composición según la reivindicación 45 que contiene metionina hasta 20 mM, hasta un 0,1 % de Pluronic F68 y opcionalmente 7,5 µmoles/l de CaCl₂.

25 47. La composición de la reivindicación 45 ó 46 que contiene de 10 a 10.000 µg de proteína eritropoyetina por ml, 100 mmoles/l de NaCl, metionina 10 mM, un 0,01 % de Pluronic F68 y 10 mmoles/l de fosfato, pH 7,0.

48. La composición de las reivindicaciones 1 a 41 que contiene de 10 a 10.000 µg de proteína eritropoyetina por ml, de 10 a 50 mmoles/l de arginina, pH de 6 a

147
146

6,5, de 10 a 100 mmoles/l de sulfato sódico.

49. La composición de la reivindicación 48 que contiene metionina hasta 20 mM, hasta un 0,1 % de Pluronic F68, opcionalmente hasta 1 mmol/l de CaCl_2 y opcionalmente del 1 al 5 % de un poliol.

50. La composición de las reivindicaciones 48 ó 49, que contiene de 10 a 10.000 μg de proteína eritropoyetina por ml, 40 mmoles/l de arginina, pH 6,2, 30 mmoles/l de sulfato sódico, un 3 % de manita, metionina 10 mM, un 0,01 % de Pluronic F68 y opcionalmente 1 mmol/l de CaCl_2 .

51. La composición de las reivindicaciones 1 a 41 que contiene de 25 a 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de eritropoyetina y

- a) fosfato sódico/potásico 10 mM, NaCl 100 mM, pH 7,0 ó
- 15 b) fosfato sódico 10 mM, sulfato sódico 120 mM, pH 6,2 ó
- c) fosfato sódico 10 mM, sulfato sódico 40 mM, un 3 % de manita, pH 6,2 ó
- d) fosfato sódico 10 mM, sulfato sódico 40 mM, un 3 % de manita, metionina 10 mM, un 0,01 % de Pluronic F68, pH
- 20 6,2 ó
- e) arginina 40 mM, sulfato sódico 30 mM, un 3 % de manita, pH 6,2 ó
- f) arginina 40 mM, sulfato sódico 30 mM, un 3 % de manita, metionina 10 mM, un 0,01 % de Pluronic F68, pH 6,2.

25 52. La composición según las reivindicaciones 1 a 51 en la que la cantidad de eritropoyetina es 50, 100 ó 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

53. La composición según la reivindicación 52 que

148
147

contiene fosfato sódico 10 mM, sulfato sódico 40 mM, un 3 % de manita, metionina 10 mM, un 0,01 % de Pluronic F68, pH 6,2.

54. La composición según la reivindicación 52 que
5 contiene arginina 40 mM, sulfato sódico 30 mM, un 3 % de manita, metionina 10 mM, un 0,01 % de Pluronic F68, pH 6,2.

55. La composición según las reivindicaciones de 1
a 54 en forma de un liofilizado o de un polvo secado por
10 atomización.

56. Un procedimiento para la preparación de la composición según una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 54, que consiste en mezcla una proteína eritropoyetina con una solución que contiene un anión de carga negativa múltiple y opcionalmente uno o varios excipientes
15 farmacéuticamente aceptables.

57. Uso de una composición según una de las reivindicaciones de 1 a 54 para la fabricación de medicamentos destinados al tratamiento y prevención de enfermedades relacionadas con la anemia en pacientes de insuficiencia renal crónica (CRF), sida y/o tratamiento
20 de enfermos de cáncer sometidos a la quimioterapia.

58. Método para el tratamiento y prevención de enfermedades que incluyen la anemia en pacientes de insuficiencia renal crónica (CRF), sida y pacientes de cáncer sometidos a quimioterapia que consta de la etapa
25 de administración al paciente de una composición reivindicada en una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 54.

149

148

59. Dispositivo para la liberación persistente local y sistémica que consta de una composición según una de las reivindicaciones de 1 a 54.

60. La invención tal como se ha descrito en el presente escrito.