

Nc. 02-102350-00009-0000

Fecha 2008-01-04 16:06:48 Dep. 2020 NULCREACIONE
Ltr. 11 PATEN LÍQUO Over 375 FASENACIONALII
Act. 444 REINVENTAR QUE Folios 25

jirco@nec.com

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 "COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA LÍQUIDA QUE COMPRENDE PROTEÍNA ERITROPOYETINA Y DISPOSITIVO PARA LA LIBERACIÓN PERSISTENTE DE LA MISMA".-Clase A 61 K 38/18.-Expediente número 02-102.350.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista de 12 de Octubre de 2007.

2. MODIFICACIONES REALIZADAS AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO:

De la manera más atenta, me permito manifestar que es deseo del solicitante realizar las siguientes modificaciones al capítulo reivindicatorio de la solicitud en estudio:

- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 1: Se ha definido la proteína eritropoyetina como una proteína eritropoyetina humana pegilada; se ha definido el anión inorgánico de carga múltiple como un ión sulfato, y por último se ha introducido la característica de la estabilidad de la composición a temperatura ambiente.
- REIVINDICACIONES ORIGINALES 2 A 6: Las reivindicaciones originales 2 a 6 han sido **eliminadas** del capítulo reivindicatorio de la solicitud en estudio.
- REIVINDICACIONES ORIGINALES 7 A 25 (nuevas reivindicaciones 2 a 20): Como resultado de la modificación anterior, las reivindicaciones originales 7 a 25 han sido reenumeradas como nuevas reivindicaciones 2 a 20 y sus dependencias han sido modificadas de manera acorde.
- REIVINDICACIONES ORIGINALES 27 A 34: Las reivindicaciones originales 27 a 34 han sido eliminadas del capítulo reivindicatorio de la solicitud en estudio.
- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 35 (nueva reivindicación 21): La reivindicación original 35 ha sido reenumerada como nueva reivindicación 21, se ha modificado su dependencia de manera acorde y se ha modificado eliminando la caracterización de la composición en términos de su actividad *in vivo* así

como el grupo a partir del cual se puede elegir dicha eritropoyetina toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio se ha modificado para desde el inicio hacer referencia únicamente a la proteína eritropoyetina humana pegilada.

- REIVINDICACIONES ORIGINALES 36 Y 37 (nuevas reivindicaciones 22 y 23): Las reivindicaciones originales 36 y 37 han sido reenumeradas como nuevas reivindicaciones 22 y 23 y se ha modificado su dependencia de manera acorde.
- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 38 (nueva reivindicación 24): La reivindicación original 38 ha sido reenumerada como nueva reivindicación 24, se ha modificado su dependencia de manera acorde y se ha modificado eliminando la caracterización de la composición en términos de su actividad *in vivo* así como el grupo a partir del cual se puede elegir dicha eritropoyetina toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio se ha modificado para desde el inicio hacer referencia únicamente a la proteína eritropoyetina humana pegilada.
- REIVINDICACIONES ORIGINALES 39 Y 40 (nuevas reivindicaciones 25 y 26): Las reivindicaciones originales 39 y 40 han sido reenumeradas como nuevas reivindicaciones 25 y 26, y se han modificado para hacer referencia a una composición en donde la proteína eritropoyetina es un conjugado.
- REIVINDICACIONES ORIGINALES 41 Y 42 (nuevas reivindicaciones 27 y 28): Las reivindicaciones originales 41 y 42 han sido reenumeradas como nuevas reivindicaciones 27 y 28, y sus dependencias han sido modificadas de manera acorde.
- NUEVA REIVINDICACIÓN 29: Se ha introducido una nueva reivindicación 29 dirigida a una composición de acuerdo con las reivindicaciones precedentes, en la que se han definido las concentraciones de los componentes.
- REIVINDICACIONES ORIGINALES 43 A 51 (nuevas reivindicaciones 30 a 38): Las reivindicaciones originales 43 a 51 han sido reenumeradas como nuevas reivindicaciones 30 a 38 y sus dependencias han sido modificadas de manera acorde.
- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 52 (nueva reivindicación 39): La reivindicación original 52 ha sido reenumerada como nueva reivindicación 39, se ha modificado su dependencia de manera acorde y se ha introducido una concentración preferida adicional de proteína eritropoyetina de 800 o 2500 ug/mL.

- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 53 (nueva reivindicación 40): La reivindicación original 53 ha sido renumerada como nueva reivindicación 40 y se ha modificado su dependencia de manera acorde.
- NUEVA REIVINDICACIÓN 41: Se ha introducido una nueva reivindicación 41 dirigida a una composición de acuerdo con la reivindicación 39, en la que se han definido las concentraciones de los componentes.
- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 54 (nueva reivindicación 42): La reivindicación original 54 ha sido renumerada como nueva reivindicación 42 y se ha modificado su dependencia de manera acorde.
- NUEVA REIVINDICACIÓN 43: Se ha introducido una nueva reivindicación 43 dirigida a una composición de acuerdo con las reivindicaciones precedentes, en donde la proteína eritropoyetina tiene una secuencia de aminoácido correspondiente a la SEQ ID No. 1 ó SEQ ID No.2.
- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 55: La reivindicación original 55 ha sido **eliminada** del capítulo reivindicatorio de la solicitud en estudio.
- REIVINDICACIÓN ORIGINAL 56 (nueva reivindicación 44): La reivindicación original 56 ha sido renumerada como nueva reivindicación 44, se ha modificado su dependencia de manera acorde, se ha introducido la característica de que la proteína eritropoyetina es una proteína eritropoyetina humana pegilada y se ha incluido el paso de ajustar el pH a un valor entre 5.5 y 7.0 usando una solución tampón farmacéuticamente aceptable.
- REIVINDICACIONES ORIGINALES 57 A 60: Las reivindicaciones originales 57 a 60 han sido **eliminadas** del capítulo reivindicatorio de la solicitud en estudio.

De esta manera, el nuevo capítulo reivindicatorio de la presente solicitud se encuentra conformado en adelante por 44 reivindicaciones.

En conexión con lo anterior, me permito señalar que las modificaciones anteriores **no amplían de manera alguna el alcance de la invención**, toda vez que corresponden a limitaciones considerables a la materia objeto reclamada y se encuentran plenamente sustentadas por la descripción de la presente solicitud.

3. **EL PROBLEMA TÉCNICO RESUELTO POR LA PRESENTE SOLICITUD:**

Antes de dar respuesta a las objeciones realizadas por el señor Examinador a la presente solicitud en su Concepto Técnico número **1761**, me permito señalar a ese Despacho cuál es el problema técnico a resolver y cuál es la solución aportada por la presente invención, con el fin de demostrar que una adecuada interpretación de las enseñanzas de la solicitud en estudio llevarían a reconocer que la misma es clara y sí cumple con los requisitos de patentabilidad señalados en la Decisión 486, por lo cual es merecedora del privilegio de patente.

En primer lugar, me permito señalar que tal como se estableció en la descripción de la solicitud en estudio, la eritropoyetina es una proteína que estimula la producción de células rojas, necesaria para la adecuada oxigenación de los tejidos, que es útil en el tratamiento de desórdenes sanguíneos caracterizados por una producción de células rojas baja o defectuosa. Sin embargo, las composiciones farmacéuticas conocidas al momento del desarrollo de la presente invención presentan las siguientes desventajas:

- Son liofilizados, y por lo tanto deben reconstituirse de manera previa a la administración, lo cual no solo es poco práctico, sino que además puede acarrear el riesgo de la incorrecta manipulación;
- Contienen albúmina de suero humano como aditivo, y al ser éste un producto derivado de un fluido humano, no solo existe un riesgo de infecciones virales por la presencia de contaminantes en la preparación de albúmina, sino también la posibilidad de reacciones alérgicas;
- Las composiciones disponibles comercialmente son inestables¹ a temperaturas elevadas, por ejemplo a temperaturas mayores a las de un refrigerador (entre 2 y 8°C), por lo que **no pueden ser almacenadas a temperatura ambiente**, sino que deben ser almacenadas en un refrigerador lo que involucra un incremento en los costos asociados al almacenamiento y transporte a baja temperatura.

De esta manera, el solicitante planteó la necesidad de proporcionar una composición que contenga la proteína eritropoyetina y que permita minimizar o suprimir las desventajas anteriormente mencionadas, tras lo cual provee una **composición farmacéutica que contiene una proteína eritropoyetina humana pegilada, un anión inorgánico de carga múltiple que es un ión sulfato en una solución tampón de pH entre 5,5 y 7,0**; la cual constituye una mejora a las

¹ Llevando a la degradación de la proteína al almacenar a temperaturas elevadas tales como la temperatura ambiente durante periodos prolongados.

179

composiciones del arte previo con respecto a la estabilidad a temperaturas mayores a la de refrigeración, especialmente a temperatura ambiente (i.e, por debajo de 25°C) e incluso a temperaturas mayores (e.g. 40°C), permitiendo almacenar la composición durante un tiempo prolongado sin necesidad de refrigerarla y sin perder la actividad de manera significativa o presentar una degradación significativa.

De acuerdo con lo anterior, es posible establecer que la composición de la presente solicitud soluciona un problema técnico existente en el estado de la técnica, al proveer una composición con características únicas, que no había sido revelada previamente y que constituye una ventaja frente a aquello existente en el estado de la técnica al presentar una **mayor estabilidad** con la temperatura y solucionar los problemas existentes con las composiciones disponibles en el arte previo al momento del desarrollo de la presente invención.

4. OBJECIONES DE CLARIDAD

4.1. OBJECIONES DE CLARIDAD A LA DESCRIPCIÓN:

En su Concepto Técnico número **1767**, el señor Examinador establece que la descripción no cumple con el requisito de claridad y los datos experimentales carecen de fuerza probatoria y no evidencian un efecto técnico sorprendente.

Sobre este particular, me permito manifestar que a partir de los experimentos enseñados por la descripción de la presente solicitud, resulta claro que las formulaciones que comprenden el anión sulfato tienen una estabilidad mejorada. En efecto, la figura 6 muestra que al reemplazar la solución tampón de fosfato con la solución tampón de sulfato manteniendo el pH, se incrementa de manera considerable la temperatura de transición (también conocida como temperatura de fusión), y al ser ampliamente reconocido que la incubación de una proteína a una temperatura cercana a la temperatura de fusión lleva al desdoblamiento de la proteína ocasionando una pérdida de la estructura nativa y la actividad biológica de la proteína, es claro que un aumento en dicha temperatura de transición lleva a una estabilidad mejorada.

q.
No

Por consiguiente, contrario a lo establecido por el señor Examinador, la presente descripción **SÍ proporciona pruebas de las ventajas técnicas de la presente composición** frente a lo conocido en el estado de la técnica.

Adicionalmente, me permito señalar que la sección experimental de la descripción de la presente solicitud **sí revela composiciones que comprenden EPO pegilada**, y de acuerdo con las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio de la presente solicitud, las composiciones de la presente invención

comprenden una proteína eritropoyetina pegilada, por lo cual es posible establecer que la presente invención sí está sustentada por la descripción de la solicitud en estudio.

De acuerdo con lo anterior, es evidente que la descripción de la presente solicitud sí proporciona el sustento suficiente para la invención reclamada y en consecuencia la misma sí cumple con el requisito de claridad.

4.2. OBJECIONES DE CLARIDAD A LAS REIVINDICACIONES:

En cuanto al capítulo reivindicatorio de la presente solicitud, el señor Examinador señala que el mismo se refiere a formulaciones que no son equivalentes por contener diferentes tipos de eritropoyetina (EPO) y que se reclaman características que no corresponden con las inicialmente reclamadas por cuanto una composición no es equivalente a un conjugado. Adicionalmente, el señor Examinador establece que las composiciones no pueden definirse a partir del resultado buscado o de la actividad natural de las moléculas constituyentes y que los procedimientos no deben definirse como la mezcla de constituyentes.

Finalmente, el señor Examinador objeta la reivindicación 59, dirigida a un dispositivo pues "debe definirse según sus partes y no por su contenido" y la reivindicación 58 afirmando que ésta "no caracteriza la composición ni aporta información relevante sobre la invención y su alcance", tras lo cual establece que solo podrán reclamarse las composiciones con sustento experimental y descriptivo suficiente.

En conexión con todo lo anterior, me permito señalar que teniendo en cuenta las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio de la solicitud en estudio, que comprenden (i) la restricción a la naturaleza de la proteína eritropoyetina en la composición reclamada a únicamente la proteína eritropoyetina humana pegilada, (ii) la modificación para referirse únicamente a una composición farmacéutica y (iii) la eliminación de las reivindicaciones 58 y 59, las objeciones realizadas a este respecto por el señor Examinador han quedado superadas.

Adicionalmente, en cuanto al proceso reivindicado en la presente solicitud, me permito señalar que el proceso para la preparación de la composición reivindicada enseña de manera clara que la misma puede obtenerse al mezclar los ingredientes y ajustar el pH al valor estipulado, esto es, un valor de pH en el intervalo entre 5,5 y 7,0; por lo cual, contraria a lo que señala éste despacho, la presente invención **SI describe de manera clara el procedimiento para que una persona versada en la materia pueda preparar las composiciones reivindicadas.**

Por último, me permito señalar que tal como fue mencionado en el aparte correspondiente a las objeciones de claridad a la descripción, la presente solicitud sí provee el sustento necesario para las composiciones farmacéuticas reclamadas.

De esta manera, es posible establecer que las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio de la presente solicitud, permiten superar las objeciones realizadas por el señor Examinador.

5. **OBJECCIÓN DE UNIDAD DE INVENCION:**

Adicionalmente, el señor Examinador objeta la unidad de invención del capítulo reivindicatorio estableciendo que un objeto aislado lo constituye el dispositivo de la reivindicación 59 y que además, no es posible identificar un concepto inventivo que sea común a toda la materia reclamada.

Sobre este particular, me permito manifestar que de acuerdo con las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio de la presente solicitud, se ha **eliminado la reivindicación original 59** y se ha establecido que el objeto reclamado por la presente invención lo constituye una **composición farmacéutica** que contiene un proteína eritropoyetina humana pegilada y un anión inorgánico de carga múltiple junto con otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

Por consiguiente, el objeto anteriormente mencionado representa el concepto inventivo que es común a todas las reivindicaciones, el cual cumple por sí mismo con los requisitos de novedad y nivel inventivo pues dicha composición no había sido revelada en el estado de la técnica, ni había podido derivarse de las enseñanzas del mismo. Adicionalmente, me permito señalar que la materia reclamada (i.e., la composición farmacéutica) en todas las reivindicaciones tiene en común tanto la estructura de sus componentes, como la actividad demostrada en la descripción de la solicitud en estudio.

En consecuencia, dado que la presente invención sí tiene un único concepto común inventivo, el cual se encuentra bien definido y sustentado por la descripción de la presente solicitud, se supera la objeción realizada por el señor Examinador a este respecto.

6. **OBJECCIÓN DE NOVEDAD:**

Por último, el señor Examinador objeta la Novedad de la presente invención, estableciendo que el documento **WO 9640073 (D1)** enseña una solución estabilizadora para la liberación de EPO no agregada que incluye un buffer inorgánico para mantenimiento del pH entre 5.0 y 7.0 así como otros excipientes farmacéuticamente aceptables por lo cual "la materia reclamada es equivalente, es decir que la composición reclamada por la solicitud en estudio ya había sido divulgada por la anterioridad **D1**".

Sobre este particular, me permito señalar que contrario a lo que establece el señor Examinador, el documento citado no había revelado la materia objeto de la presente solicitud de **manera idéntica y explícita**, toda vez que tal como fue previamente señalado en el presente escrito, la solicitud en estudio se refiere a una composición farmacéutica que contiene una **proteína eritropoyetina humana pegilada, un anión inorgánico de carga múltiple que es un ión sulfato** en una solución tampón de pH entre 5,5 y 7,0. Por su parte, la referencia citada se refiere a una composición que comprende una **matriz polimérica de un polímero biocompatible** y partículas de EPO biológicamente activa de agregación estabilizada.

A partir de lo anterior, puede apreciarse que la referencia citada no se refiere de manera explícita a todas las características técnicas de la presente invención. Por ejemplo, **no incluye ninguna indicación del uso de un anión inorgánico con carga múltiple tal como el ión sulfato y mucho menos que dicho ión permitiría obtener una ventaja considerable con respecto al resultado obtenido al usar iones fosfato, así como tampoco de que la proteína eritropoyetina únicamente puede ser una proteína eritropoyetina humana pegilada.**

Por consiguiente, es claro que la referencia citada no se relaciona con una materia objeto que sea idéntica a la composición reclamada por la presente invención y en consecuencia, la misma sí es novedosa frente a las enseñanzas del arte previo.

En conexión con lo anterior, me permito dirigir la atención del señor Examinador a las enseñanzas del **Manual Andino**, el cual en su acápite 9.4 "Análisis de la Novedad", establece lo siguiente: **"Para determinar la novedad de la invención, se debe comprobar si existen anticipaciones del estado de la técnica que contengan explícitamente todas las características técnicas esenciales de la invención. El examen de novedad se efectúa comparando elemento por elemento**

de la invención tal como está definido por las reivindicaciones con los del estado de la técnica"² (resaltado fuera de texto).

Adicionalmente, el mismo **Manual** establece que "*Si todas las características técnicas de la reivindicación independiente se encuentran descritas en un mismo antecedente y además se encuentran íntimamente relacionadas, el objeto de dicha reivindicación carece de novedad. Si una característica, aunque sea banal, no se encuentra contenida en el antecedente, la reivindicación es nueva*"³ (resaltado fuera de texto).

Lo anterior lleva a que solo cuando **todas** las características de la invención estén contenidas en una anterioridad y no exista ninguna diferencia (aunque fuese banal) entre la invención lo enseñado por el estado de la técnica, es posible hablar de una falta de novedad para la invención.

Por lo tanto, en vista de que en el presente caso, la referencia citada **no contiene explícitamente todas las características de la presente invención**, es claro que no es posible hablar de una falta de novedad de la presente solicitud frente a las enseñanzas de dicho documento, por lo cual debe reconocerse que la misma **SÍ cumple con dicho requisito**.

7. **INDICIOS DE LA PATENTABILIDAD DE LA PRESENTE INVENCION:**

Finalmente, para demostrar que la presente invención sí cumple con los requisitos de patentabilidad, me permito dirigir la atención del señor Examinador al hecho de que el capítulo reivindicatorio de la presente invención ha sido modificado de manera tal que en adelante es idéntico al de la correspondiente patente Europea (**EP 1 311 285 B1**), de la cual anexo copia de la portada y de las reivindicaciones.

Por consiguiente, aunque el solicitante reconoce la independencia de la Oficina Colombiana para la evaluación de una solicitud de patente, el hecho de que una Oficina tan reconocida como la Europea haya otorgado el privilegio de patente a la materia objeto de la presente invención, constituye un claro indicio de que la misma sí cumple con los requisitos necesarios para tal fin.

8. **CONCLUSIÓN:**

En conclusión, se demostró que la descripción de la presente solicitud sí provee evidencia del efecto técnico sorprendente de la invención reivindicada por lo cual dicha descripción sí cumple con el requisito de claridad.

² COMUNIDAD ANDINA, Secretaría General, "Manual Andino de Patentes", Junio de 2004, Lima, Perú, página 64.

³ Ibid, página 66.

Adicionalmente, al modificar el capítulo reivindicatorio de la solicitud en estudio, se restringió la materia reivindicada a aquella que encuentra pleno sustento en la descripción, y se definió según sus partes y de manera tal que una persona versada en la materia se encuentra en la capacidad de determinar el alcance de la invención así como de llevar a cabo la presente invención con lo cual se superan las objeciones de claridad realizadas por el señor Examinador.

Por otra parte, se estableció que con las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio de la presente solicitud puede apreciarse de manera clara el concepto común inventivo a la materia reclamada con lo cual se superó la objeción realizada por el señor Examinador a este respecto.

Por último, se demostró que la presente invención presenta diferencias técnicas importantes con respecto a las enseñanzas del documento del arte previo citado y que por consiguiente, resulta incorrecto afirmar que la misma no cumple con el requisito de novedad dado que incluso las enseñanzas del **Manual Andino de Patentes** y la concesión del privilegio de patente a la materia objeto de la presente solicitud por parte de la Oficina Europea de Patentes respaldan la existencia de Novedad para la solicitud en estudio.

9. Anexo me permito presentar:

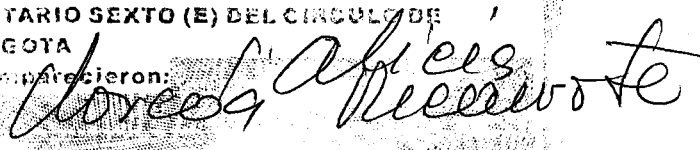
- (1) Recibo número 08 - 1,396 expedido por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acredita el pago de las modificaciones mencionadas;
- (2) Copia del nuevo capítulo reivindicatorio, **que reemplaza el originalmente presentado** en el cual se han realizado las modificaciones expuestas anteriormente; y
- (3) Copia resalta de la portada y las reivindicaciones de la patente Europea **EP 1 311 285**, la cual reclama la misma materia objeto que la presente solicitud.

10. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las argumentaciones presentadas y de las modificaciones realizadas y conceder el privilegio de patente solicitado.

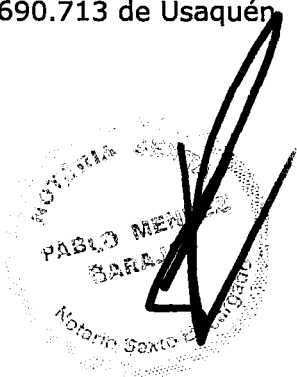
Señor Superintendente,


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. 53.215

NOTARIA SEXTA DE BOGOTÁ
RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
Bogotá, D.C. **04 ENE 2008**
Ante mí **PABLO MENDEZ BARAJAS**
NOTARIO SEXTO (E) DEL CÍRCULO DE
BOGOTÁ
Comparecieron:

quien (es) exhibió:
39690713
Y.D. de = 53215
y declaró (aron) que la (s) (s) que aparece (n),
en el presente documento, es (son) la (s) suya (s) y
que el contenido del mismo es cierto. En constan-
cia se firma esta diligencia.


ALICIA LLOREDA RICAURTE
C.C. No. 39.690.713 de Usaquén



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 02-102350-00009-0000

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 1,396
FECHA : ENERO 4 DE 2008

Fecha 2008-01-04 16:00:48 Dep. 2020 NUECREACIONE
No. 11 PATENTELIYI Live 379 FASENACIONALI
Act. 444 R. SPULSTAREQUE Folios: 25

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2808788	04/01/2008	5,918,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
		12 MARCAS Y LENAS COMERCIALES	103,000.00
		TOTAL :	\$ 103,000.00

SON: CIENTO TRES MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

185

Reivindicaciones

- 5 ① Una composición farmacéutica líquida que contiene una proteína eritropoyetina pegilada humana, un anión inorgánico de carga múltiple que es un ión sulfato en un tampón farmacéuticamente aceptable, idóneo para mantener el pH de la solución en un intervalo comprendido entre 5,5 y 7,0 y
- 10 opcionalmente uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables, siendo dicha composición líquida estable a temperatura ambiente.
2. La composición según la reivindicación 1 que contiene de 10 a 200 mmoles/l de sulfato.
- 15 3. La composición según las reivindicaciones de 1 a 2, en la que el pH se sitúa entre 5,8 y 6,7.
4. La composición según la reivindicación 3 en la que el pH se sitúa entre 6,0 y 6,5.
5. La composición según la reivindicación 4 en la que
- 20 el pH se sitúa en torno a 6,2.
6. La composición según las reivindicaciones de 1 a 5 en la que el tampón se elige entre el grupo formado por un tampón fosfato y un tampón arginina/H₂SO₄/Na₂SO₄.
7. La composición según la reivindicación 6 en la que
- 25 el tampón es un tampón fosfato de 10 a 50 mmol/l.
8. La composición según las reivindicaciones de 1 a 7, caracterizada porque consta de uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables.

9. La composición según la reivindicación 8
caracterizada porque uno o varios excipientes
farmacéuticamente aceptables se eligen entre el grupo formado
5 por sales, diluyentes, disolventes y conservantes
farmacéuticamente aceptables.

10. La composición según las reivindicaciones 8 y 9 en
la que los excipientes farmacéuticamente aceptables se eligen
del grupo formado por agentes tonificadores, polioles,
10 antioxidantes y detergentes no iónicos.

11. La composición según las reivindicaciones 8 a 10 en
la que el excipiente farmacéuticamente aceptable es un poliol.

12. La composición según la reivindicación 11, en la que
el poliol se elige del grupo formado por la manita, la
15 sorbita, la glicerina, la trehalosa y la sacarosa.

13. La composición según la reivindicación 12, en la que
el poliol es la manita.

14. La composición según las reivindicaciones 8 a 13 que
comprende un antioxidante.

20 15. La composición según la reivindicación 14 en la que
el antioxidante es la metionina.

16. La composición según las reivindicaciones 8 a 15 que
contiene hasta 1 mmol/l de CaCl_2 .

25 17. La composición según las reivindicaciones 10 a 16 en
la que el detergente no iónico es el polisorbato 80,
polisorbato 20 o Pluronic F68.

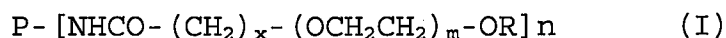
18. La composición según la reivindicación 17, en la que
el detergente no iónico es el Pluronic F68.

19. La composición según las reivindicaciones 17 ó 18, caracterizada porque contiene hasta 1% (p/v) de detergente no iónico.

5 20. La composición según una de las reivindicaciones de 17 a 19, caracterizada porque contiene hasta un 0,1% (p/v) del detergente no iónico.

10 21. La composición según las reivindicaciones 1 a 20, caracterizada porque la proteína eritropoyetina es un conjugado, dicho conjugado comprende una glicoproteína eritropoyetina humana; dicha glicoproteína está unida con enlace covalente 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 $-\text{CO}$ (es decir, carbonilo) de cada grupo polietilenglicol un enlace amídico
15 con uno de dichos grupos de 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
20 kilodaltones.

22. La composición según la reivindicación 21 con una proteína eritropoyetina de la fórmula:



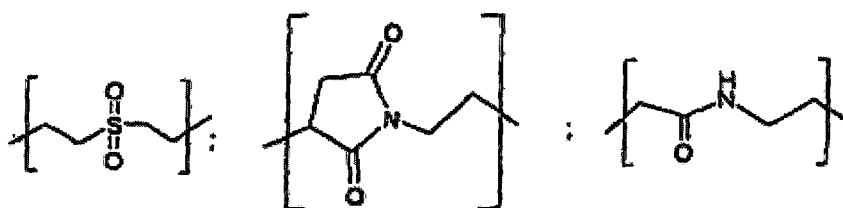
25

En la que m, n, x y R tienen los significados definidos antes y P es el resto de la glicoproteína sin los n grupos amino que forman el(los) enlace(s) amídico(s) con el(los) grupo(s) polietilenglicol.

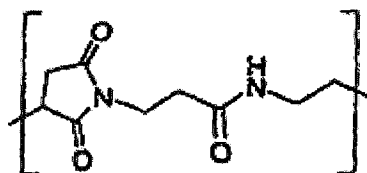
23. La composición según la reivindicación 22, en la que en la fórmula (I), x es 2, m es un número de 650 a 750 y n es el número 1 y R es metilo.

5 24. La composición según las reivindicaciones 1 a 20, en la que la proteína eritropoyetina es un conjugado, dicho conjugado comprende una glicoproteína eritropoyetina humana; dicha glicoproteína está unida por enlace covalente con uno a
10 tres grupos (alcoxi de bajo peso molecular)-polietilenglicol, cada grupo polietilenglicol está unido mediante enlace covalente a la glicoproteína mediante un engarce de la fórmula $-C(O)-X-S-Y-$, formando el C(O) del engarce o eslabón un enlace amida con uno de dichos grupos de amino, X es $-(CH_2)_k-$ o $-CH_2(O-CH_2-CH_2)_k-$, k es un número de 1 a 10, Y es

15



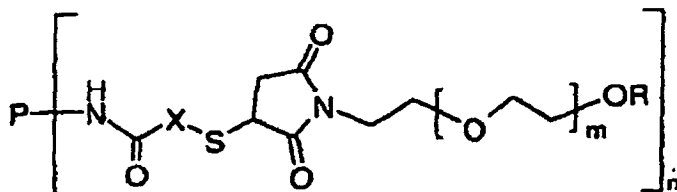
O



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
20 kilodaltones.

189

25. La composición de la reivindicación 24 en donde la proteína eritropoyetina es un conjugado de la fórmula:

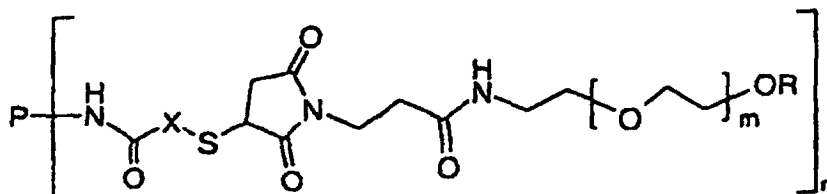


5

en la que n es un número entero de 1 a 3; m es 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 la glicoproteína eritropoyetina sin el grupo amino o los grupos amino que forman un enlace amida con X.

10

26. La composición de la reivindicación 25, en donde la proteína eritropoyetina es un conjugado de la fórmula:



15

en la que n es un número entero de 1 a 3; m es 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 la glicoproteína eritropoyetina sin el grupo amino o los grupos aminos que forman un enlace amida con X.

20

27. La composición según las reivindicaciones 1 a 26 que comprende de 10 a 10.000 μg de proteína eritropoyetina por ml.

28. La composición según las reivindicaciones 1 a 27 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.

29. La composición de las reivindicaciones 1 a 28 que comprende fosfato de sodio 10 mM, sulfato de sodio 40 mM, manita 3% (p/v) y metionina 1mM, pH 6,2.

30. La composición de las reivindicaciones 28 ó 29 que contiene metionina hasta 20 mM, del 1 al 5% de un poliol (p/v), hasta 0.1% de Pluronic F68 (p/v) y opcionalmente CaCl_2 hasta 1 mM.

31. La composición según las reivindicaciones 28 a 30 que contiene de 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.

32. La composición de las reivindicaciones 1 a 27 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.

33. La composición según la reivindicación 32 que contiene metionina hasta 20 mM, hasta 0,1% de Pluronic F68 y opcionalmente 7,5 $\mu\text{moles/l}$ de CaCl_2 .

34. La composición de la reivindicación 32 ó 33 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.

35. La composición de las reivindicaciones 1 a 27 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 6,5, de 10 a 100 mmoles/l de sulfato sódico.

37. Proteína EPO no pegada?

38. Proteína EPO no pegada?

39. Proteína EPO no pegada?

36. La composición de la reivindicación 35 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.

37. La composición de las reivindicaciones 35 ó 36 que contiene de 10 a 10.000 μg 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 .

38. La composición de las reivindicaciones 1 a 27 que contiene de 25 a 2500 $\mu\text{g/ml}$ de proteína eritropoyetina y

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

39. La composición según las reivindicaciones 1 a 38 en la que la cantidad de proteína eritropoyetina es 50, 100, 400, 25 800 o 2500 $\mu\text{g/ml}$.

40. La composición de las reivindicaciones 1 a 39 que 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.

41. La composición de la reivindicación 39 que comprende 30 fosfato sódico 10 mM, sulfato sódico 40 mM, un 3% (p/v) de manita, metionina 1 mM, pH 6,2.

42. La composición según la reivindicación 39 que contiene arginina 40 mM, sulfato sódico 30 mM, un 3% de manita, metionina 10 mM, un 0,01% de Pluronic F68, pH 6,2.

5 43. La composición según las reivindicación 1 a 42 donde la proteína eritropoyetina tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID No: 1 o SEQ ID No: 2.

10 44. Un procedimiento para la preparación de la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43, que consiste en mezcla de proteína eritropoyetina humana pegilada con una solución que contiene un anión de carga negativa múltiple y opcionalmente uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables y ajustar el pH a un valor de 5.5 a 7.0 usando un tampón farmacéuticamente aceptable.

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11) EP 1 311 285 B1

(12) EUROPEAN PATENT SPECIFICATION

(45) Date of publication and mention
of the grant of the patent:
23.03.2005 Bulletin 2005/12

(51) Int Cl.7: A61K 38/18, A61K 9/08,
A61K 47/02, A61K 47/18

(21) Application number: 01943331.7

(86) International application number:
PCT/EP2001/005187

(22) Date of filing: 08.05.2001

(87) International publication number:
WO 2001/087329 (22.11.2001 Gazette 2001/47)

(54) LIQUID PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING AN ERYTHROPOIETIN DERIVATIVE

FLÜSSIGE ARZNEIZUBEREITUNG ENTHALTEND EIN ERYTHROPOIETIN DERIVAT

COMPOSITION PHARMACEUTICALE LIQUIDE CONTENANT UN ERYTHROPOIETIN
DERIVATIVE

(84) Designated Contracting States:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE TR
Designated Extension States:
LT LV RO SI

(73) Proprietor: F. Hoffmann-La Roche AG
4070 Basel (CH)

(72) Inventor: PAPADIMITRIOU, Apollon
83673 Bichl (DE)

(30) Priority: 15.05.2000 EP 00110355

(74) Representative: Witte, Hubert, Dr. et al
124 Grenzacherstrasse
4070 Basel (CH)

(43) Date of publication of application:
21.05.2003 Bulletin 2003/21

(60) Divisional application:
05000984.4

(56) References cited:
EP-A- 0 178 665 EP-A- 0 909 564
WO-A-96/40073 GB-A- 2 171 304
US-A- 4 992 419 US-A- 5 661 125

EP 1 311 285 B1

Note: Within nine months from the publication of the mention of the grant of the European patent, any person may give notice to the European Patent Office of opposition to the European patent granted. Notice of opposition shall be filed in a written reasoned statement. It shall not be deemed to have been filed until the opposition fee has been paid. (Art. 99(1) European Patent Convention).

799

EP 1 311 285 B1

Ala Pro Pro Arg Leu Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu Glu Arg Tyr Leu
 1 5 10 15
 5 Leu Glu Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly Cys Ala Glu His
 20 25 30
 Cys Ser Leu Asn Glu Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr Lys Val Asn Phe
 35 40 45
 10 Tyr Ala Trp Lys Arg Met Glu Val Gly Gln Gln Ala Val Glu Val Trp
 50 55 60
 Gln Gly Leu Ala Leu Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu
 65 70 75 80
 15 Leu Val Asn Ser Ser Gln Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp
 85 90 95
 Lys Ala Val Ser Gly Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu
 100 105 110
 20 Gly Ala Gln Lys Glu Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser Ala Ala
 115 120 125
 Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe Arg Val
 130 135 140
 25 Tyr Ser Asn Phe Leu Arg Gly Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly Glu Ala
 145 150 155 160
 Cys Arg Thr Gly Asp Arg
 165
 30

Claims

- 35 1. A liquid pharmaceutical composition comprising a pegylated human erythropoietin protein, a multiple charged inorganic anion in a pharmaceutically acceptable buffer suitable to keep the solution pH in the range from 5.5 to 7.0, and optionally one or more pharmaceutically acceptable excipients, said liquid composition being stable at room temperature.
- 40 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.
- 45 4. The composition according to claims 1 to 3 wherein the anion is an anion of a 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.
- 50 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.
8. The composition according to claims 1 to 7 wherein the pH is 5.8 to 6.7.
- 55 9. The composition according to claim 8 wherein the pH is 6.0 to 6.5.
10. The composition according to claim 9 wherein the pH is about 6.2.

22

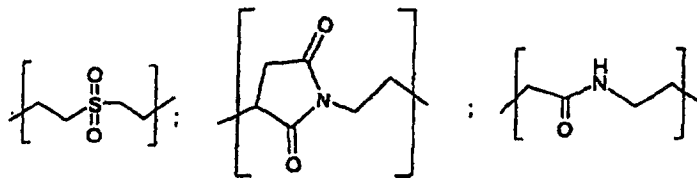
11. The composition according to claims 1 to 10 wherein the buffer is selected from the group consisting of a phosphate or an arginine/H₂SO₄/Na₂SO₄ buffer.
12. The composition according to claim 11 wherein the buffer is a 10 to 50 mmol/l phosphate buffer.
13. The composition according to claims 1 to 12 wherein the composition comprises one or more pharmaceutically acceptable excipients.
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.
16. The composition according to claims 13 to 15 wherein the pharmaceutically acceptable excipient is 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.
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 CaCl₂.
22. The composition according to claims 15 to 21 wherein the non-ionic detergent is polysorbate 80, polysorbate 20 or pluronic F68.
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.
26. The composition according to any of claims 1 to 25, wherein the erythropoietin protein is a conjugate, said conjugate comprising a human erythropoietin glycoprotein, said glycoprotein being covalently linked to "n" poly(ethylene glycol) groups of the formula -CO-(CH₂)_x-(OCH₂CH₂)_m-OR with the -CO of each poly(ethylene glycol) group forming an amide bond with one of said amino 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.
27. The composition according to claim 26 with an erythropoietin protein of the formula:



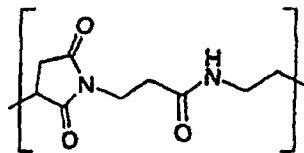
wherein m, n, x and R are as above, and P is the residue of the glycoprotein without the n amino group(s) which form amide linkage(s) with the poly(ethylene glycol) group(s).

28. The composition according to claim 27, wherein in formula (I) x is 2, m is 650 to 750, n is 1 and R is methyl.
29. The composition according to any of claims 1 to 25, wherein the erythropoietin protein is a conjugate, said conjugate comprising a human erythropoietin glycoprotein, said glycoprotein being covalently linked to from one to three

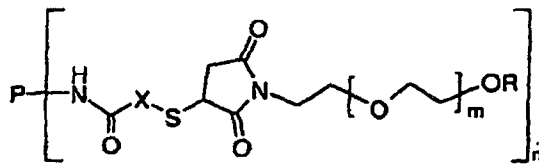
5



15

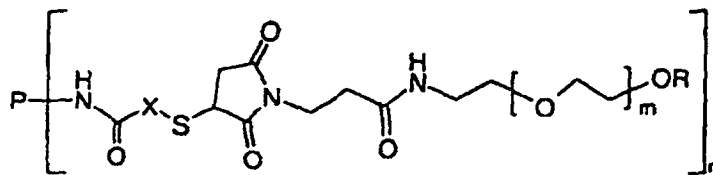


30. The composition of claim 29, wherein the erythropoietin protein is a conjugate of the formula:



40

45



55

33. The composition of claims 1 to 32 comprising 10 µg to 10000 µg erythropoietin protein per ml, 10 - 200 mmol/l

EP 1 311 285 B1

sulfate, and 10 to 50 mmol/l phosphate pH 6.0 to 6.5.

34. The composition of claims 1 to 33 comprising 10 mM sodium phosphate, 40 mM sodium sulfate, 3% (w/v) mannitol and 1mM methionine, pH 6.2.
35. The composition of claim 33 or 34 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 CaCl₂.
36. The composition according to claim 33 to 35 comprising 10 µg to 10000 µg 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.
37. The composition according to claims 1 to 32 comprising 10 µg to 10000 µg 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.
38. The composition of claim 37 comprising up to 20 mM methionine, up to 0.1% pluronic F68 and optionally 7.5 µmol/l CaCl₂.
39. The composition of claim 37 or 38 comprising 10 µg to 10000 µg erythropoietin protein per ml, 100 mmol/l NaCl, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68, and 10 mmol/l phosphate, pH 7.0.
40. The composition of claims 1 to 32 comprising 10 µg to 10000 µg erythropoietin protein per ml, 10 to 50 mmol/l arginine, pH 6 to pH 6.5, 10 to 100 mmol/l sodium sulfate.
41. The composition of claim 40 comprising up to 20 mM methionine, up to 0.1 % pluronic F68, optionally up to 1 mmol/l CaCl₂ and optionally 1 - 5 % of a polyol.
42. The composition of claims 40 or 41, 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.
43. The composition according to claims 1 to 32 comprising 25 to 2500 µg/ml erythropoietin protein and
 - 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 methionine, 0.01% pluronic F68, pH 6.2.
44. The composition of claims 1 to 43 wherein the amount of erythropoietin protein is 50, 100, 400, 800 or 2500 µg/ml.
45. The composition of claims 1 to 44 comprising 10 mM sodium phosphate, 40 mM sodium sulfate, 3% mannitol, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68, pH 6.2.
46. The composition of claim 44 comprising 10 mM sodium phosphate, 40 mM sodium sulfate, 3% (w/v) mannitol, 1 mM methionine, pH 6.2.
47. The composition of claim 44 comprising 40 mM arginine, 30 mM sodium sulfate, 3% mannitol, 10 mM methionine, 0.01% pluronic F68, pH 6.2.
48. The composition according to claims 1 to 47 wherein the erythropoietin protein has the amino acid sequence of SEQ ID NO:1 or SEQ ID NO:2.
49. A process for preparing a composition according to any of claims 1 to 48, comprising mixing a pegylated human erythropoietin protein with a solution comprising a multiple charged anion and optionally one or more pharmaceutically acceptable excipients and adjusting the pH to 5.5 to 7.0 using a pharmaceutically acceptable buffer.



(12) **EUROPEAN PATENT APPLICATION**
published in accordance with Art. 158(3) EPC

- | | |
|--|--|
| <p>(43) Date of publication:
21.04.1999 Bulletin 1999/16</p> <p>(21) Application number: 97919693.8</p> <p>(22) Date of filing: 25.04.1997</p> | <p>(51) Int. Cl.⁶: A61K 38/22, A61K 47/16,
A61K 9/08, C07K 14/505</p> <p>(86) International application number:
PCT/JP97/01449</p> <p>(87) International publication number:
WO 97/40850 (06.11.1997 Gazette 1997/47)</p> |
|--|--|

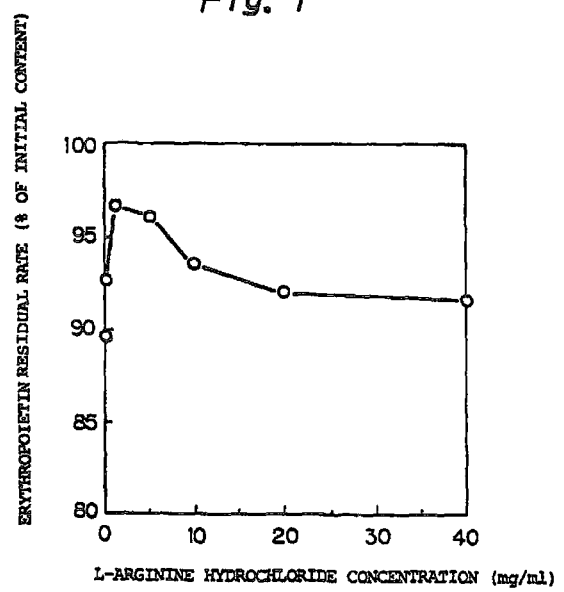
- (84) Designated Contracting States:
**AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC
NL PT SE**
- (30) Priority: **26.04.1996 JP 131226/96**
30.10.1996 JP 303956/96
- (71) Applicant:
CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
Tokyo 115 (JP)
- (72) Inventors:
 - **YAMAZAKI, Tadao,**
Chugai Selyaku Kabushiki Kaisha
Tokyo 171 (JP)

- **MORITA, Toshiari,**
Chugai Selyaku Kabushiki Kaisha
Tokyo 171 (JP)
 - **NAGAI, Hiroshi,**
Chugai Selyaku Kabushiki Kaisha
Tokyo 171 (JP)
- (74) Representative:
VOSSIUS & PARTNER
Siebertstrasse 4
81675 München (DE)

(54) **ERYTHROPOIETIN SOLUTION PREPARATION**

(57) This invention provides an erythropoietin solution preparation containing an amino acid as a stabilizer, and having excellent long-term storage stability.

Fig. 1



Description

TECHNICAL FIELD

5 [0001] This invention relates to an erythropoietin solution preparation.

BACKGROUND ART

10 [0002] Erythropoietin (hereinafter referred to as EPO) is an acidic glycoprotein hormone which promotes the differentiation and proliferation of erythroid progenitor cells. This hormone is secreted chiefly by the kidney. Erythrocytes are present abundantly in the blood for certain periods, and are then destroyed by the spleen, etc. (their mean life in humans is about 120 days). However, red blood cells are constantly supplied from the bone marrow, so that the peripheral total erythrocyte count is kept constant in a normal state. EPO plays a central role in maintaining such homeostasis of erythrocytes in the living organism.

15 [0003] High purity human urinary EPO was obtained by purification from a large volume of urine from patients with aplastic anemia. This enabled cloning of human EPO gene. Nowadays, it has become possible to produce a large amount of recombinant human EPO in animal cells by genetic engineering technology. The applicant of this invention has succeeded in producing a preparation (lyophilized preparation) of the purified EPO, and supplies it to the market in the form of renal anemia alleviating agents and so on.

20 [0004] Drug design for supplying the market with stable EPO preparations requires that chemical changes (hydrolysis, disulfide exchange reaction, etc.) or physical changes (denaturation, agglutination, adsorption, etc.) observed with EPO be suppressed. Products now on the market contain human serum albumin or purified gelatin which is generally used as a stabilizer. These substances have been added in these products to suppress chemical or physical changes. Since human serum albumin is a blood product relying on donated blood for its supply, the necessity for its addition has been questioned. Regarding the addition of a protein other than the albumin or gelatin as a stabilizer, it is difficult to avoid the risk of viral contamination completely.

[0005] Peptide drugs are often lyophilized for stabilization. However, lyophilization increases manufacturing costs, and involves an increased risk due to mechanical troubles.

25 [0006] For the foregoing reasons, demand is growing for an EPO preparation as an alternative to a lyophilized preparation, the EPO preparation being free from inclusion of a protein as a stabilizer, and stable during long-term storage.

DISCLOSURE OF THE INVENTION

30 [0007] To satisfy the above demand, we, the inventors, have conducted extensive studies. As a result, we have found that EPO can be converted into a stable EPO solution preparation free from human serum albumin and purified gelatin by adding a certain amino acid as a stabilizer. This finding has led us to complete the present invention.

[0008] That is, the present invention provides an erythropoietin solution preparation containing an amino acid as a stabilizing agent or stabilizer.

35 [0009] "To stabilize; stabilizing" in this specification refers to storing, or the erythropoietin solution preparation, for example, for more than 2 years at 10°C, or for more than 6 months at 25°C, or for more than 2 weeks at 40°C while keeping the residual rate of erythropoietin at 90% or higher, preferably 95% or higher, more preferably 98% or higher.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

40 [0010]

Fig. 1 is a graph showing the relation between the concentration of L-arginine hydrochloride and the residual rate of erythropoietin;

Fig. 2 is a graph showing the relation between the concentration of L-lysine hydrochloride and the residual rate of erythropoietin;

Fig. 3 is a graph showing the relation between the concentration of L-histidine hydrochloride and the residual rate of erythropoietin; and

Fig. 4 shows an SDS-polyacrylamide gel electrophoresis pattern illustrating the degradation product suppressing effect of preparations to which various amino acids have been added (an electrophoretogram), in which lane 1: molecular weight marker, lane 2: amino acid-free preparation, lane 3: L-leucine-containing preparation, lane 4: L-phenylalanine-containing preparation, lane 5: L-tryptophan-containing preparation, lane 6: L-serine-containing preparation, lane 7: L-cysteine-containing preparation, lane 8: monosodium L-glutamate monohydrate-containing preparation, lane 9: L-arginine hydrochloride-containing preparation, and lane 10: L-histidine hydrochloride-con-

taining preparation.

BEST MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION

5 [0011] EPO for use in the solution preparation of the present invention has substantially the same biological activity as that of mammalian, especially, human EPO, and includes naturally occurring EPO and EPO obtained by genetic recombination. EPO from genetic recombination includes EPO having the same amino acid sequence as that of naturally occurring EPO, or EPO with this amino acid sequence from which one or more of the amino acids have been deleted, or in which one or more of the amino acids have been substituted, or to which one or more amino acids have been added, and which, however, retains the above-mentioned biological activity. The EPO in the present invention may be produced by any methods, for example, a method comprising extraction from human urine, followed by separation and purification, in various manners; and a method involving production in *E. coli*, yeast, or Chinese hamster ovary cells, followed by extraction, separation and purification in various manners.

15 [0012] The amino acid added as a stabilizer in the present invention includes free amino acids, and their salts such as sodium salts, potassium salts and hydrochlorides. The solution preparation of the present invention may have one or more of these amino acids added in combination. The preferred amino acids are D-, L- and DL-forms of leucine, tryptophan, serine, glutamic acid, arginine, histidine and lysine, and their salts. More preferable are L-leucine, L-tryptophan, L-glutamic acid, L-arginine, L-histidine and L-lysine, and their salts. Particularly preferable are L-arginine, L-histidine and L-lysine, and their salts. Most preferable are L-histidine and its salts.

20 [0013] The solution preparation of the present invention, preferably, is substantially free from protein as a stabilizer.

[0014] For the amount of the amino acid added to the solution preparation of the present invention, a preferred range can be set by a testing method (to be described later on) depending on the type of the amino acid used. Generally, the amount of the amino acid added is 0.001 to 50 mg/ml, but preferably 0.1 to 40 mg/ml, more preferably 1 to 10 mg/ml for arginine, preferably 0.5 to 10 mg/ml, more preferably 1 to 10 mg/ml for lysine, preferably 0.5 to 10 mg/ml, more preferably 1.0 to 4.0 mg/ml, and most preferably 1.0 to 2.0 mg/ml for histidine. As will be described later on, the highest residual rate of EPO was obtained when L-arginine hydrochloride and L-lysine hydrochloride were each added in an amount of about 1 to 5 mg/ml as free amino acid, or when L-histidine hydrochloride was added in an amount, as free amino acid, of 1 to 10 mg/ml in an accelerated testing performed for 2 weeks at 40°C, or 0.5 to 5 mg/ml in a 25°C-6 month accelerated testing.

30 [0015] The amount of EPO contained in the solution preparation of the present invention can be determined according to the type of disease to be treated, the severity of the disease, the age of the patient, and so forth. Generally, its amount is 100 to 500,000 IU/ml, preferably 200 to 100,000 IU/ml, more preferably 750 to 72,000 IU/ml. The solution preparation of the present invention is administered usually by a parenteral route, for example, by injection (subcutaneous or intravenous), or percutaneously, transmucosally or transnasally, but oral administration is also possible.

35 [0016] The solution preparation of the present invention may contain, in addition to EPO and the amino acid, ingredients usually added to a preparation in the form of a solution, such as polyethylene glycol; sugars, e.g., dextran, mannitol, sorbitol, inositol, glucose, fructose, lactose, xylose, mannose, maltose, sucrose, and raffinose; inorganic salts, e.g., sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, sodium phosphate, potassium phosphate, and sodium hydrogen carbonate; organic salts, e.g., sodium citrate, potassium citrate and sodium acetate; and, if desired, sulfur-containing reducing agents, e.g., glutathione, thiocetic acid, sodium thioglycolate, thioglycerol, α -monothioglycerol, and sodium thiosulfate. The preferred salt is sodium chloride. It is also preferred to add an adsorption preventing agent, such as a polyoxyethylene sorbitan alkyl ester, to the solution preparation of the present invention. Particularly preferable polyoxyethylene sorbitan alkyl esters are polysorbate 20, 21, 40, 60, 65, 80, 81 and 85, and most preferably, polysorbate 20 and/or 80. The preferred amount of polysorbate 20 and/or 80 added is 0.01 to 1 mg/ml, more preferably 0.05 to 0.1 mg/ml.

45 [0017] The solution preparation of the present invention can be prepared by dissolving the above-mentioned components in an aqueous buffer publicly known in the field of solution preparations, such as phosphate and/or citrate buffer. The preferred phosphate buffer is a sodium monohydrogen phosphate-sodium dihydrogen phosphate buffer, while the preferred citrate buffer is a sodium citrate buffer. The pH of the solution preparation of the present invention is 5.0 to 8.0, preferably, 6.0 to 7.0.

50 [0018] Japanese Unexamined Patent Publication No. 64-71818 discloses a human protein preparation characterized by containing urea, an amino acid, and a nonionic wetting agent. However, the solution preparation of the present invention preferably does not contain urea, because it is not clear whether urea contributes to the long-term stabilization of a glycoprotein such as erythropoietin. A reaction between urea degradation products and protein is also known to take place (Protein Chemistry 3, Kyoritsu Shuppan, Chapter 12), which may adversely affect the preparation. Furthermore, the fewer ingredients added to the preparation, the better the results that can be expected.

55 [0019] The solution preparation of the present invention is usually contained in a sealed, sterilized plastic or glass container. The solution preparation can be supplied as a prescribed dose in an ampoule, vial or disposable syringe, or

Claims

1. An erythropoietin solution preparation containing an amino acid as a stabilizer.
- 5 2. The solution preparation of claim 1, which contains the amino acid, but does not contain a protein, as a stabilizer.
3. The solution preparation of claim 1 or 2, wherein the amino acid is one or more members selected from the group consisting of leucine, tryptophan, serine, glutamic acid, arginine, histidine and lysine, and their salts.
- 10 4. The solution preparation of any one of claims 1 to 3, wherein the amino acid is one or more members selected from the group consisting of L-leucine, L-tryptophan, L-glutamic acid, L-arginine, L-histidine and L-lysine, and their salts.
5. The solution preparation of claim 1, which contains as the stabilizer one or more members selected from the group consisting of L-arginine, L-histidine and L-lysine, and their salts.
- 15 6. The solution preparation of claim 5, wherein the concentration of the amino acid is 0.1 to 40 mg/ml.
7. The solution preparation of claim 5, wherein the stabilizer is L-histidine.
- 20 8. The solution preparation of claim 7, wherein the concentration of the histidine is 1.0 to 4.0 mg/ml.
9. The solution preparation of any one of claims 1 to 8, which further contains a surfactant.
10. The solution preparation of claim 9, wherein the surfactant is a polyoxyethylene sorbitan alkyl ester.
- 25 11. The solution preparation of claim 10, wherein the surfactant is polysorbate 20 and/or 80.
12. The solution preparation of any one of claims 1 to 11, which further contains a salt.
- 30 13. The solution preparation of claim 12, wherein the salt is sodium chloride.
14. The solution preparation of any one of claims 1 to 13, which has been dissolved in a buffer.
15. The solution preparation of claim 14, wherein the buffer is a phosphate buffer and/or a citrate buffer.
- 35 16. The solution preparation of any one of claims 1 to 15, which does not contain urea.
17. Use of an amino acid as a stabilizer of an erythropoietin solution preparation.
- 40 18. An erythropoietin solution preparation obtained by dissolving an amino acid, a surfactant, and a salt in a buffer.

45

50

55

202
~~201~~

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

2020

Bogotá, D.C., 8 de febrero de 2008

Abogada
Alicia Lloreda Ricaurte

ASUNTO	Radicación	02-102350
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio	2729
	Folios	008

Patente de Invención ☒ Patente de Modelo de Utilidad ☐

Vía Nacional ☐

Vía PCT (fase nacional) ☒ Cap. I ☐ Cap. II ☒

No. Sol. Internacional PCT/EP01/05187

Fecha de Presentación Internal. 08/05/2001

Como resultado del examen de fondo, realizado con fundamento en el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

1. Documentos estudiados

- 1.1. Descripción: Folios: 23 a 91 como se radicó inicialmente.
- 1.2. Reivindicaciones: Folios: 185 a 192 según modificación de 04/01/2008.
- 1.3. Figuras: Folios: 106 a 116 como se radicó inicialmente.
- 1.4. Prioridad: 15/05/2000, EP00110355.5
- 1.5. Rta. del solicitante: Folios: 175 a 193.

2. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Composición farmacéutica líquida que comprende proteína Eritropoyetina y dispositivo para la liberación persistente de la misma".

El objeto de la presente solicitud de patente de invención consiste en una composición farmacéutica líquida que comprende una proteína eritropoyetina, un anión inorgánico de carga múltiple en un buffer que puede mantener el pH de la solución entre 5.5 y 7.0 y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Reivindicaciones 1- 42: Composición farmacéutica líquida estable a temperatura ambiente que contiene una proteína eritropoyetina pegilada, un anión inorgánico de

carga múltiple que es un ión sulfato en un tampón farmacéuticamente aceptable y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Reivindicación 44: Procedimiento de mezcla para la preparación de la composición de cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

El problema planteado en esta solicitud es la existencia de variadas desventajas en estabilidad, actividad, producción y almacenamiento en las soluciones de eritropoyetina comercialmente disponibles.

Para solucionar este problema técnico la solicitud en estudio proporciona en una composición farmacéutica líquida que comprende una proteína eritropoyetina, un anión inorgánico múltiple cargado que es un ión sulfato en una solución buffer de pH entre 5.5 y 7.0 y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

El objeto de la solicitud definida anteriormente se clasificó en la IPC A61K 38/18.

3. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha que se ha tenido en cuenta para determinar el Estado de la Técnica es:

Fecha de presentación de la solicitud prioritaria 15/05/2000

Teniendo en cuenta la fecha indicada se realizó la búsqueda en el estado de la técnica de documentos relacionados con la solicitud encontrándose los siguientes documentos más relevantes:

Nº	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	WO9640073	"Composition for sustained release of non-aggregated Erythropoeitin"	19/12/1996
D2	EP0909564	"Erithropoietin Solution Preparation"	21/04/1999

4. Análisis de patentabilidad (según requisito) (artículo 14 D486)

4.1. Nivel Inventivo (artículo 18 D486)

La solicitud en estudio reclama una composición farmacéutica líquida estable a temperatura ambiente que contiene una proteína eritropoyetina pegilada humana (EPO-PEG), un anión inorgánico de carga múltiple que es un ión sulfato en un tampón farmacéuticamente aceptable, para mantener el pH entre 5.5 y 7.0 y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Considerando: 1) que el documento EP0909564 (D2) divulga una solución acuosa de EPO que puede ser pegilada, que incluye una sal inorgánica de cloruro, fosfato o citrato en un tampón con un pH entre 5.0 a 8.0 (ver Párrafos 0016-0017), estable a temperatura ambiente y que puede contener otros excipientes farmacéuticamente aceptables (ver Párrafo 0009 y Párrafos 0012-0016); 2) que la única diferencia entre la solicitud en estudio y D2 se refiere a que el ión inorgánico es un sulfato; 3) y que el documento D1 presenta una solución de EPO estabilizada con un ión sulfato en un tampón, es innegable que la composición reclamada se deriva evidentemente del estado de la técnica al combinar las enseñanzas de D1 y D2.

204
203

Inclusive tanto D1 como D2 enseñan la adición de otros estabilizadores y excipientes, así como el método de obtención de la composición a partir de la mezcla de la EPO con una solución estabilizadora que contiene el ión inorgánico o su una sal que lo contiene, tampón y los demás excipientes (ver p.e. D2: Párrafos 0016 - 0017 y reivindicación 18), todos reclamados también por la solicitud en estudio.

Por lo anterior, la composición reclamada se considera carente de actividad inventiva y por lo tanto no cumple con el requisito de nivel inventivo establecido en el artículo 18 de la Decisión 486.

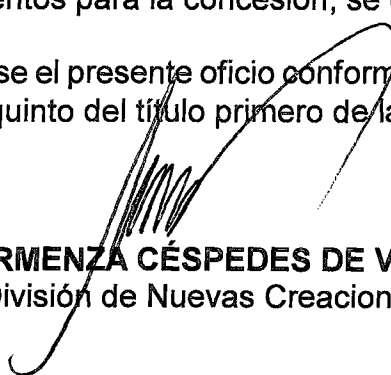
5. Conclusión:

Los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud se encuentran afectados así:

N°	Documento N°	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	WO9640073	1-44	Nivel Inventivo
D2	EP0909564	1-44	Nivel Inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de 60 días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha
22 FEB. 2006

CONCEPTO TÉCNICO No. 398	EXAMINADOR TÉCNICO Código No.202081
------------------------------------	---

HSE

214

Registros encontrados: 8							
RADICADO ANTERIOR	CARPETA	AÑO	NUEVO RADICADO	CONTROL	CONSECUTIVO	FECHA	BLOQUE
02102350-00-00-00	02102350	02	102350	- ✓	00000	2002-11-12 00:00:00	
02102350-00-00-00	02102350	02	102350	- ✓	00001	2002-11-12 15:45:19	
02102350-00-00-01	02102350	02	102350	- ✓	00002	2003-08-11 16:11:17	
02102350-00-01-00	02102350	02	102350	- ✓	00003	2004-08-31 19:32:49	
02102350-00-01-01	02102350	02	102350	- ✓	00004	2004-09-07 17:05:46	
02102350-00-00-02	02102350	02	102350	- 15	00007	2004-09-16 11:06:36	
02102350-00-00-03	02102350	02	102350	- ✓	00005	2004-10-05 16:25:06	
02102350-00-00-04	02102350	02	102350	- ✓	00006	2005-10-03 16:53:49	

31,482,650	PINO BERNAL ANDREA YAL 20050629	80,000.00-	0.00	15,260.00	28,485.00
31,486,345	ARBELAEZ GUTIERREZ MAR 20050629	13,225.00-	0.00	15,260.00	90,543.00-
31,567,247	ORTIZ GALINDO MARTHA C 20050629	75,283.00-	0.00	15,260.00	18,312.00-
34,318,340	FERNANDEZ CAICEDO BLAN 20050629	3,052.00-	0.00	15,260.00	10,682.00-
34,544,139	MUÑOZ CEDEÑO CLAUDIA E 20050531	10,682.00-	0.00	0.00	9,156.00
34,570,615	ALARCON GUAMANGA DILEI 20050629	0.00	0.00	17,128.00	30,011.00-
35,163,223	ARRIETA ORTEGA KARINA 20050629	76,300.00-	0.00	17,128.00	93,428.00-
38,141,096	VILLANUEVA BEDOYA MAYI 20050629	14,751.00-	0.00	17,128.00	54,745.00-
38,211,329	JIMENEZ DONOSO DIANA C 20050629	14,751.00-	0.00	17,128.00	51,533.00-
39,276,240	PEREZ SUAREZ BERTILDA 20050629	76,300.00-	0.00	18,417.00	99,933.00-
43,157,840	ROJAS ACEVEDO SANDRA T 20050629	49,150.00-	0.00	16,417.00	95,433.00-
43,251,793	HENAO GOMEZ JACKELINE 20050407	51,533.00-	0.00	5,595.00	54,745.00-
43,261,479	ORREGO ARISMENDY MABEL 20050712	81,516.00-	0.00	5,595.00	54,745.00-
43,435,880	RESTREPO PUERTA ANGELA 20050629	79,016.00-	0.00	38,000.00	215,333.00-
43,600,719	VILLEGAS CALLE LYDA GE 20050629	49,150.00-	0.00	0.00	62,185.00-
43,635,710	GALLEGO ARIAS SANDRA S 20050629	177,333.00-	0.00	16,214.00	94,104.00-
43,867,296	CUBIDES MOLINA KELLY 20050531	62,185.00-	0.00	15,260.00	30,011.00-
60,394,637	DELGADO PINILLOS ALICI 20050629	77,890.00-	0.00	18,280.00	88,285.00-
65,773,020	TRUJILLO MANRIQUE CLAU 20050629	14,751.00-	0.00	15,260.00	40,693.00-
66,728,818	SEGURA SINISTERRA AGUS 20050629	70,005.00-	0.00	15,260.00	82,404.00-
66,742,576	MIRANDA GONZALEZ ANGEL 20050629	25,433.00-	0.00	15,260.00	40,693.00-
66,951,947	BENAVIDES TRUJILLO CLA 20050629	67,144.00-	0.00	12,208.00	12,208.00-
67,024,605	LERMA ANGULO YULY JOHA 20050629	25,433.00-	0.00	44,800.00	268,800.00-
67,031,002	RIOS AGUIRRE CAROLINA 20050629	0.00	0.00	40,000.00	240,000.00-
71,750,984	CAMACHO BRAVO JOSE MAU 20050629	224,000.00-	0.00	17,128.00	93,428.00-
72,161,119	BOLAÑO RUA WALDIR 20050629	200,000.00-	0.00	17,128.00	92,411.00-
72,203,307	BOLAÑO RUA GERSON 20050629	76,300.00-	0.00		
72,263,159	OLIVARES MORALES EDUAR 20050629	75,283.00-	0.00		