



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

04-57564

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO

**PREPARACION LIOFILIZADA QUE CONTIENE UN ANTICUERPO CONTRA EL
RECEPTOR NGF**

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 39/395

71. SOLICITANTE

MERCK PATENT GMBH

DOMICILIO

Darmstadt, Alemania

74. APODERADO

**EMILIO FERRERO
CODIGO 1072**

22. BOGOTA, D.C.,


Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 84857564 00000000

 Folios: 95
in

Fecha (RFB): 2004-06-18 17:10:31

Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

 Nombre: **MERCK PATENT GMBH**

 sociedad constituida y existente bajo las
leyes de Alemania.

 Dirección: **Frankfurter Strasse 250,
64293 Darmstadt,
Alemania**

 Domicilio: **Darmstadt, Alemania**
IDENTIFICACION

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número:

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

 Nombre: **EMILIO FERRERO**

 Dirección: **Carrera 4ª. No. 72-35**

 Teléfono: **347 38 11**

 Fax: **217 92 11**

 E-mail: **clientes@camvp.com.**

 Domicilio: **Bogotá, Colombia.**
IDENTIFICACION

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

 Número: **438.019** T.P. **31.929**

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

 1- **Hanns-Christian MAHLER**
Buschungsstrasse 54a,
65205 Wiesbaden,
Alemania

 3- **Robert MÜLLER**
Rhönring 131,
64289 Darmstadt,
Alemania

 5- **Udo HAAS**
Trinkbornstrasse 30,
64293 Darmstadt,
Alemania

 7- **Ulrike MARTINI-MARR**
Im Schöffentuhl 8,
64319 Pfungstadt
Alemania

 2- **Hans-Peter ZOBEL**
Bahnweg 5A,
65439 Flörsheim,
Alemania

 4- **Christiane BACHMANN**
Am Mattes 33,
66773 Gladbach,
Alemania

 6- **Ludwig KRÜGER**
Ruhlandstrasse 75,
63741 Aschaffenburg,
Alemania

5

PCT (86)

 Solicitud Internacional No. **PCT/EP02/13223**

 Publicación Internacional No. **WO 03/053465 A2**

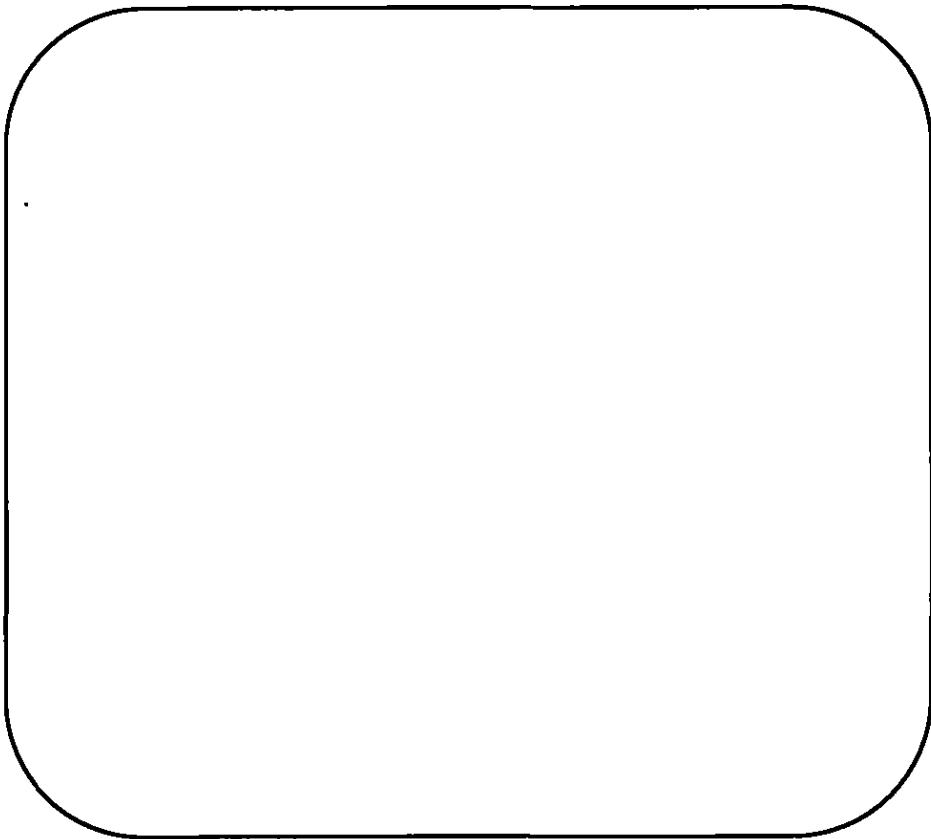
 Fecha: **25 de noviembre de 2002**

 Fecha: **3 de julio de 2003**

6	Título (54)	<u>PREPARACIÓN LIOFILIZADA QUE CONTIENE UN ANTICUERPO CONTRA EL RECEPTOR EGF</u>		
7	Clasificación Internacional (51)	<u>A61K 39/395</u>		
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>DE</u>	(32) Fecha <u>21 de diciembre de 2001</u>	(31) Número de Solicitud <u>101 63 459.5</u>
9	Comprobante de pago No. <u>04 - 47,574</u>		Fecha: <u>15 de junio de 2004</u>	
10	Anexos:			
☒	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 422.000			
☐	Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.			
☒	Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.			
☒	Poderes, si fuere el caso.			
☐	Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.			
☐	Declaraciones.			
☒	Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)			
☒	Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)			
☒	Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.			
☒	Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.			
☐	De ser el caso, copia del contrato de acceso.			
☐	De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.			
☐	De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.			
☐	Arte final 12x12			
☐	De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.			
☐	Otros			

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERRERO

FIRMA : 
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

B047

La suscrita Cónsul General de Colombia en Frankfurt am Main, República Federal de Alemania, vistos los documentos presentados por los interesados,

CERTIFICA:

Que el Señor Wellenreuther ejercía las funciones de representante del Presidente del Tribunal Regional en Darmstadt en la fecha indicada y su firma corresponde a la registrada en este Consulado.

Que la empresa Merck Patent GmbH es una sociedad constituida de acuerdo con las leyes de la República Federal de Alemania y cumple su objeto conforme a las mismas.

Que los Señores Jens Jürgen HEUMANN y Dr. Reinhard SCHÜTTLER quienes en su carácter de apoderados y cuyas firmas fueron autenticadas ante el Notario Dr. Ebner son sus representantes legales en este país.

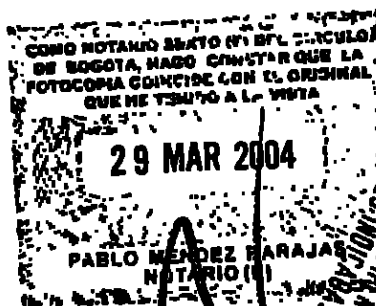
Frankfurt am Main, Junio 14, 1995



Stella Luz Sotelo
STELLA LUZ SOTELO
Cónsul General de Colombia

PAGADOS:

Impuesto Timbre
Nacional US\$: 6,=
Derechos Cons./
Fdo. Rotat. US\$: 100,=



179024
179024
DOCUMENTO DESEMPAÑADO
LAS FUNCIONES INDICADAS
CUMPLIDAS

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

LUZ ARRIAGA DE...
1044915
Resolución No.

NO SE ASU
RESPONSABILIDAD
1995 JUL 14 A 11
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

(Comunión 5

4418957

PODER

Yo, (nosotros) abajo firmado(s) **MERCK PATENT GMBH**

domiciliado(s) en **Darmstadt, Alemania,**

(veremos) poder a **GERMAN CAVELIER, GONZALO PERDOMO y ERNESTO CAVELIER**, domiciliados en
la Carrera 44 No 72-35, Bogotá, Colombia, para

y para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo
efecto autorizo(amos) a los dichos apoderados para que me(nos) representen ante cualesquiera entidades
o personas, ejerzan o no jurisdicción especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-admini-
strativo y judicial en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes, modelos
y dibujos; registros de marcas de fábrica, colectivas, defensivas y de servicio; depósito de nombres comer-
ciales y enseñas; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria, o licen-
cias de uso de esos derechos; b) Las acciones de oposición, cancelación, nulidad, medidas cautelares,
licencias; y en general los procesos civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacio-
nados con esos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan; y c) Para que en
todos los asuntos arriba determinados puedan sustituir este poder, transigir, desistír, cancelar, recibir,
renunciar, aceptar notificaciones, nombrar apoderados judiciales y extrajudiciales, y ratificar los actos de
agentes oficiosos.

Dado y firmado hoy

en

Firma del poderdante:

MERCK PATENT GMBH

ppa.

Dr. Schüttler

ppa.

Heumann

principal officers

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

A los días del mes de de 19
ante mí, Notario Público de
compareció(eron) personalmente

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que
es(son) la(s) persona(s) firmante(s) del poder
que precede, y quien(es) tiene(n) capacidad
legal para otorgarlo.

Ciudad

Notario Público

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

A los días del mes de de 19
ante mí, Notario Público de
compareció(eron) personalmente

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que
es(son) la(s) persona(s) firmante(s) del poder
que precede, y quien(es) tiene(n) capacidad
legal para otorgarlo.

Ciudad

Notario Público

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Hoy, de de 19
compareció(eron) ante mí

a quien(es) conozco personalmente, y que fir-
ma(n) este documento en representación de la
Sociedad/Compañía denominada

Certifico:

1. Que he visto los siguientes documentos *:

MERCK PATENT GMBH

2. Que dichos documentos prueban lo si-
guiente: Que la persona o personas que la
Sociedad/Compañía designa con la firma
que aparece en el presente documento, es(son) la(s)
persona(s) que tiene(n) a la vista

2.1. Que la persona o personas que la
Sociedad/Compañía designa con la firma
que aparece en el presente documento, es(son) la(s)
persona(s) que tiene(n) a la vista

2.2. Que el domicilio de dicha Sociedad/Com-
pañía es **Darmstadt, Alemania,**

2.3. Que el objeto u objetos para los cuales se
otorga el presente poder están comprendidos
dentro del objeto social de la mencionada So-
ciedad/Compañía.

2.4. Que el Sr. (los Sres.)

está(n) autorizado(s) para otorgar el presente
Poder.

Ciudad
Estado

Dr. Schüttler
Herr Heumann

Notario Público

* Los documentos deben identificarse con fecha y origen.

NOTA: Para los poderes otorgados en **Venezuela, México, Venezuela y los Estados Unidos**, el notario
debe otorgar el anterior certificado y el señor Cónsul de Colombia autenticará solamente la firma
del notario.

Para los países que no son parte del Protocolo sobre Uniformidad del Régimen Legal de los Poderes, el
Cónsul colombiano debe certificar como sigue *:

Fecha:

Nº

El suscrito CONSUL DE COLOMBIA en

CERTIFICA:

1º Que el señor
quien autoriza el documento anterior, ejercía legalmente en la fecha allí indicada, las funciones de:

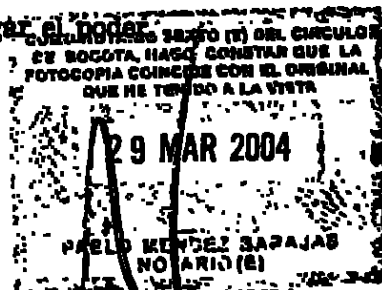
y que la firma y sello que en el documento aparecen como suyos son los que usa y acostumbra en sus
actos oficiales.

2º Que tuvo a la vista las pruebas de que la Compañía

existe legalmente,

que actualmente ejerce su objeto social; y

3º Que el señor
quien firmó el poder que precede en su carácter de
está autorizado para representarla en este acto, y otorgar el poder



Cónsul de Colombia

* Son parte del Protocolo: Colombia, El Salvador, México, Venezuela y los Estados Unidos. En los demás
países el señor Cónsul de Colombia debe otorgar el certificado arriba transcrito en esta página.

Nr. 299 der Urkundenrolle für 1995 (E)

Umstehende, heute vor mir vollzogenen Unterschriften der mir persönlich bekannten Herren der Firma Merck Patent GmbH in Darmstadt:

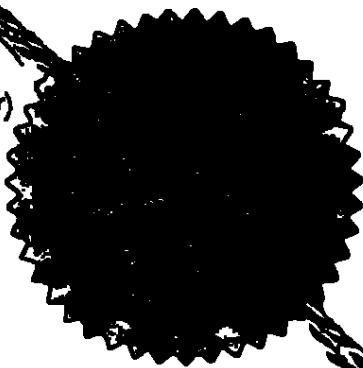
1. Jens Jürgen Heumann, Prokurist,
 2. Dr. Reinhard Schüttler, Prokurist,
- beide Dienstanschrift: 64293 Darmstadt, Frankfurter Str. 250,

beglaubige ich hiermit.

Gleichzeitig bescheinige ich hiermit aufgrund der heute vorgenommenen Einsicht in das Handelsregister des Amtsgerichts Darmstadt unter HRB 1547, daß die Herren Jens Jürgen Heumann und Dr. Reinhard Schüttler als Gesamtprokuristen gemeinsam zur Vertretung der Firma Merck Patent GmbH in Darmstadt berechtigt

Darmstadt, den 23. Mai 1995

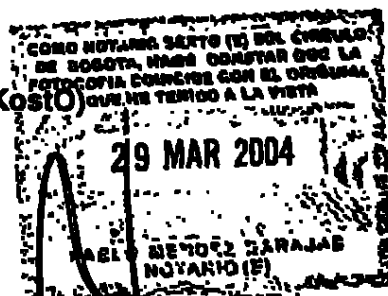

(Dr. Ebner, Notar)



Kostenberechnung

Geschäftswert: DM 5.000,- (festgesetzt gem. § 30,2 KostO)

Gebühr gem. §§ 32, 141, 45	KostO DM 20,-
Gebühr gem. § 150	KostO DM 20,-
Gebühr gem. §§ 137, 152	KostO DM 5,-
15 % Mehrwertsteuer	DM 6,75
Gesamt	DM 51,75




(Dr. Ebner, Notar)

- 010 E 2/2 -

Die Echtheit vorstehender Unterschrift des
Notars Dr. Wolfgang Ebner
in Darmstadt
und die Echtheit des beigedruckten Dienst-
siegels/stempels werden hiermit bestätigt.
Zugleich wird bescheinigt, daß der Vorge-
nannte zur Vornahme der Amtshandlung
befugt war.

Geb.Verz.Nr.1a) aa) bb) JVKostO: DM. 20.-

Darmstadt, den 06.06.95

Der Präsident des Landgerichts
im Auftrag



Wellenreuther
Vorsitzender Richter



NOTAR
DR. WOLFGANG EBNER
DARMSTADT
2000
HABLO REINDE
NOTARIAT

TRADUCCION OFICIAL No. 4915

de un documento escrito en Alemán, el cual para su identificación se sella con el sello de la traductora, lo mismo que la presente.-

(A continuación de la representación y poder conferido a GERMAN CAVELIER, GONZALO PERDOMO Y ERNESTO CAVELIER, domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia, por la MERCK PATENT GMBH, domiciliada en Darmstadt, Alemania:)

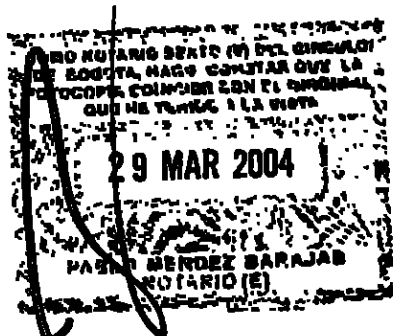
Protocolo notarial No. 299 del 1995 (E)

Certifico la autenticidad de las firmas antecedentes, puestas hoy ante mi, por los señores

1. Jens Jürgen Heumann, apoderado
2. Dr. Reinhard Schüttler, apoderado

ambos con domicilio comercial en: 69293 Darmstadt, Frankfurter Str. 250.

Igualmente certifico, por haber examinado en el día de hoy el Registro de Comercio del Juzgado Municipal de Darmstadt - HRB 1547 -, que los señores Jens Jürgen Heumann y Dr. Reinhard Schüttler, como apoderados generales, están facultados para



LUZ ARRIAGA DE PERDOMO
TRADUCTORA
Protocolo No. 559 Minutado

representar conjuntamente a la firma Merck Patent GmbH,
domiciliada en Darmstadt.

Darmstadt, 23 de mayo de 1995

Fdo.: firma ilegible

(Dr. Ebner, Notario)

(Hilo y oblea notarial en relieve)

Costas

Valor del negocio: 5.000.-- DM (fijados seg. Art. 30.2 KostD)

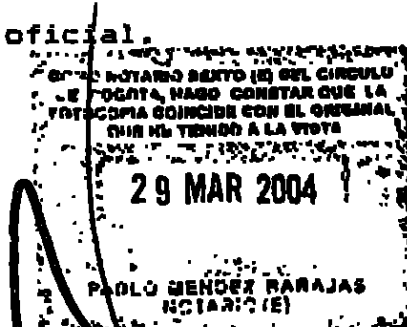
Derechos seg. Art. 32, 141, 45	KostD DM 20,--
Derechos seg. Art. 150	KostD DM 20,--
Derechos seg. Art. 137, 152	KostD DM 5,--
15% IVA	DM 6,75
Total	DM 51,75

Fdo.: firma ilegible

(Dr. Ebner, Notario)

- 910 E 2/2

Se certifica la autenticidad de la firma antecedente del notario de Darmstadt, Dr. Wolfgang Ebner, y la del sello oficial que la acompaña. Igualmente se certifica que el mencionado notario estaba facultado para realizar ese acto oficial.



Reglamento de costas No. 1a) bb) JVKost0: DM 20,--

Darmstadt, 06 de junio de 1995

El Presidente del Tribunal Regional

Fdo.: firma ilegible

Wellenreuther

Juez Presidente

(sello redondo en tinta:)

El Presidente del Tribunal Regional de Darmstadt

EN ESPAÑOL: La legalización de las firmas antecedentes por el
Consulado de Colombia en Frankfurt bajo el No. 047 del 14 de
junio de 1995 y por el Ministerio de Relaciones Exteriores de
Colombia bajo el No. 179024[✓] del 14 de julio de 1995.

Pagado impuesto de timbre y F.R. US\$ 106,--

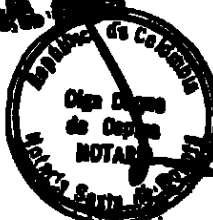
ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, de la cual se deja copia en los
archivos de estas oficinas para su confrontación.

Santa Fe de Bogotá, 24 de julio de 1995

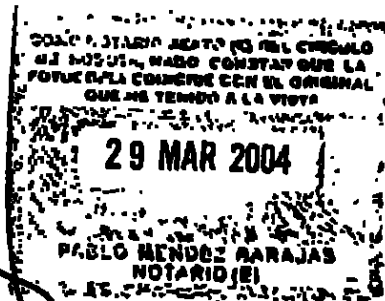
SIENDO NOTARIA SEXTA DE SANTAFE DE BOGOTA
HAGO CONSTAR QUE LA FIRMA DE Leidy

C. C. _____
COINCIDE CON LA REGISTRADA POR EL (ELLA)
EN ESTA NOTARIA. 26 JUL 1995

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.



Pablo Mendez Barajas
Notario Jefe, Santa Fe de Bogotá, D.C.
Resolución No. 595 de 1995



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

204546

P. Barajas
CUMPLIDA FIRMA AFERENTE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO DE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

1995 JUL 25 11:46

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

ATUQUE 20 301742 10 11426 114101 01411
HABO CON[?]AR QUE LA FIRMA

412031 1141 114101

ALMACH AT33 01

ALMACH AT33 01

25 MAR 2004
PABLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO(S)

TELFAX 157111 2358850
CABLES CAVELEYES
TELEX: 45479

CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 41, No. 72-35
BOGOTA 8, COLOMBIA

CORREO ELECTRONICO MUNDIAL: CAVE
TELEFONO: 157111 2120100

Señor Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Poderdante: MERCK PATENT GMBH

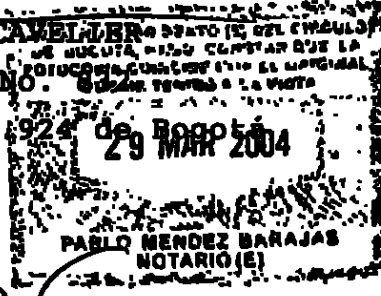
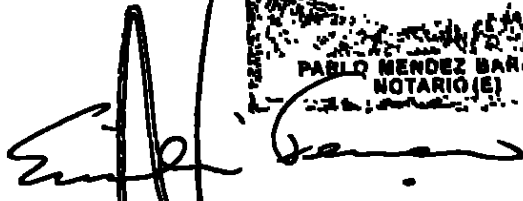
Poder conferido el: 23-05-95

Yo, GERMAN CAVELIER, obrando en mi calidad de apoderado principal del poderdante arriba mencionado atentamente manifiesto a Usted que sustituyo el poder que me ha sido conferido en la persona del doctor EMILIO FERRERO, Abogado con Tarjeta Profesional No. 31.929, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil ya que los otros sustitutos faltan en este momento.

Señor Jefe,

Acepto:


GERMAN CAVELIER
T.P.A. NO. 8048
C.C. No. 2.877.924 de Bogotá
29 MAR 2004

PABLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO(E)

EMILIO FERRERO
T.P.A. No. 31.929
C.C. No. 438.019 de Usaquén

2e-780-2

NOTARIA SEXTA DE BOGOTA

RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL

Bogotá, D. E., ... 25 JUL 1995
Ante MI, OLGA DUQUE DE OSPINA,
NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA,

compareció(aron) personalmente
.....

.....
.....

quien(es) exhibió(aron) la(s) C.C.

..... 438 019

y la(s) Libreta(s) Militar(es)

..... 287794

domiciliado(a) en Bogotá, y declaró(aron) que la(s) firma(s) que ap-
recen(n) en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y que el
contenido del mismo es cierto.

En constancia se firma esta Diligencia

[Signature]

NOTARIA SEXTA
BOGOTA
RECONOCIMIENTOS

[Signature]

DEL CIRCULO
25 JUL 1995
PABLO MENDEZ NARANJO
NOTARIO (E)



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
3 July 2003 (03.07.2003)

PCT

(10) International Publication Number:
WO 03/053465 A2

- (51) International Patent Classification⁷: A61K 39/395 ✓
- (21) International Application Number: PCT/EP02/13223 ✓
- (22) International Filing Date:
25 November 2002 (25.11.2002)
- (25) Filing Language: German
- (26) Publication Language: German
- (30) Priority Data:
101 63 459.5 21 December 2001 (21.12.2001) DE ✓
- (71) Applicant (for all designated States except US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE). ✓
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): MAHLER, Hanna-Christian [DE/DE]; Buschungsstrasse 54a, 65205 Wiesbaden (DE). ZOBEL, Hans-Peter [DE/DE]; Bahnweg 5A, 65439 Flörsheim (DE). MÜLLER, Robert [DE/DE]; Rhönring 131, 64289 Darmstadt (DE). BACHMANN, Christiane [DE/DE]; Am Mattes 33, 66773 Gladbach (DE). HAAS, Udo [DE/DE]; Trinkbornstrasse 30, 64293 Darmstadt (DE). KRÜGER, Ludwig [DE/DE]; Ruhlandstrasse 75, 63741 Aschaffenburg (DE). MARTINI-MARR, Ulrike [DE/DE]; Im Schöffentuhl 8, 64319 Pfungstadt (DE). ✓
- (74) Common Representative: MERCK PATENT GMBH; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).
- (81) Designated states (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CQ, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated states (regional): ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: LYOPHILISED PREPARATION COMPRISING ANTIBODIES AGAINST THE EGF RECEPTOR

(57) Abstract: The invention relates to a lyophilised pharmaceutical preparation comprising an antibody against the endothelial growth factor receptor (EGF receptor). The preparation has increased storage stability, even at elevated temperatures, and, after reconstitution, can be used parenterally for the treatment of tumours.

Lyophilised preparation comprising antibodies against the EGF receptor

The present invention relates to a stable lyophilised pharmaceutical preparation comprising an antibody which is directed against the epidermal growth factor receptor (EGFR), and to the preparation thereof.

Various in vitro and in vivo studies have shown that blockage of the EGFR by antibodies acts against tumours at various levels, for example by inhibiting cancer cell proliferation, reducing tumour-mediated angiogenesis, induction of cancer cell apoptosis and increasing the toxic effects of radiotherapy and conventional chemotherapy.

MAB c225 (Cetuximab[®]) is a clinically proven antibody which binds to the EGF receptor. Cetuximab[®] is a chimeric antibody whose variable regions are of murine origin and whose constant regions are of human origin, and was described for the first time by Naramura et al., *Cancer Immunol. Immunotherapy* 1993, 37: 343-349 and in WO 96/40210 A1.

MAB 425 is an originally murine antibody which is overexpressed in tumour cells and is directed against the EGFR, in particular of A431 carcinoma cells. Its humanised and chimeric forms are disclosed, for example, in EP 0 531 472 A1; Kettleborough *et al.*, *Protein Engineering* 1991, 4: 773-783; Bier *et al.*, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2001, 47: 519-524; Bier *et al.*, *Cancer Immunol. Immunother.* 1998, 46: 167-173. EMD 72000 here is an antibody (h425) which is in clinical phase I/II and whose constant region is composed of a κ and a human γ -1 chain.

Human anti-EGFR antibodies can be provided by XenoMouse technology, as described in WO 91/10741 A1, WO 94/02602 A1 and WO 96/33735 A1. A specific antibody which has been produced by this technology and is cur-

19

rently undergoing clinical trials is ABX-EGF (Abgenix, Crit. Rev. Oncol. Hematol., 2001, 38: 17-23; Cancer Research 1999, 59: 1236-43).

Further antibodies directed against the EGFR are described, for example, in EP 0 586 002 B1 and in J. Natl. Cancer Inst., 1993, 85: 27-33 (MAB 528).

Like other antibodies, EGFR antibodies are also applied parenterally as a solution for therapeutic use. A particular problem of solutions containing these antibodies is their tendency toward aggregation and the formation of protein multimers. In the case of reducible multimers, this can be attributed to unintentional intermolecular disulfide bridge formation through interaction between approaching moieties. Hydrophobic interactions and the consequent formation of non-reducible multimers are also possible. Furthermore, deamidation reactions, which subsequently result in protein degradation reactions, also occur. The denaturing reactions described occur, in particular, on storage at elevated temperature or during shear stresses, as occur, for example, during transport. In overall terms, liquid preparations are therefore of lower suitability as medicament form for broad use.

A customary process for the stabilisation of antibodies is freeze-drying of solutions containing antibodies and auxiliaries. Removal of the water reduces the formation of decomposition products and aggregates. (Hsu et al., Dev. Biol. Stand. 1991, 74: 255-267 and Pikal et al., Dev. Biol. Stand. 1991, 74: 21-27).

WO 93/00807 A1 describes lyophilised preparations of proteins which, for stabilisation, comprise polyethylene glycols and a sugar. However, polyethylene glycols are toxicologically dubious and should therefore be avoided in medicaments if possible, in particular if they are intended for parenteral administration.

15

WO 98/22136 A2 discloses a lyophilised preparation comprising an antibody, a sugar or amino sugar, an amino acid and a surfactant. Although the preparation is claimed for antibodies in general, the only preparations disclosed as working example are those comprising monoclonal antibodies directed against the hepatitis B virus (AK HBV), and in each case a preparation comprising an antibody against L-selectin (anti-L-selectin) and an antibody against the anti-L nerve growth factor receptor (anti-LNGFR). Whereas the preparations comprising AK HBV and anti-L-selectin were prepared from solutions having a maximum antibody concentration of 8 mg/ml and 7 mg/ml respectively, the preparation comprising the antibody directed against growth factor, anti-LNGFR, was prepared from a solution comprising only 0.25 mg/ml of antibody with an otherwise identical qualitative and quantitative composition of the auxiliaries. Although the preparation comprising anti-LNGFR thus has a more than 20-fold lower antibody content and a correspondingly lower amount of degradation products can therefore also be expected, no stability data are disclosed, in contrast to the preparations comprising the other antibodies.

The object of the present invention was to provide a stabilised preparation for antibodies directed against the EGFR. The preparation should not comprise any toxicologically unacceptable auxiliaries, should be stable for a relatively long time under increased stress conditions, such as elevated temperature and atmospheric humidity, and should be reconstitutable with an aqueous solvent to give a ready-to-use solution with a high active-ingredient content.

Surprisingly, a preparation which meets these requirements has been provided by freeze-drying an aqueous solution which, besides one of these anti-EGFR antibodies, also comprises a sugar or an amino sugar, an amino acid and a surfactant. The present invention therefore relates to a stable lyophilised preparation of mono- or polyclonal antibodies comprising a sugar or an amino sugar, an amino acid and a surfactant, characterised in

that the antibody is an antibody directed against the epidermal growth factor receptor (EGFR).

The antibody that may be present is any antibody that is directed against epidermal growth factor, in particular the murine, humanised or chimeric antibodies mentioned at the outset and the human anti-EGFR antibodies which have been and can be prepared by means of the said XenoMouse technology. The anti-EGFR antibody present in the preparation according to the invention is preferably Cetuximab® or EMD 72000 or one of the murine, humanised or chimeric antibody analogues corresponding thereto. Particular preference is given to preparations which comprise Cetuximab® or EMD 72000 as antibody.

The preparation according to the invention is physiologically well tolerated, can be prepared easily, can be dispensed precisely and is stable with respect to assay, decomposition products and aggregates over the duration of storage and during repeated freezing and thawing processes. It is stable on storage over a period of at least three months to a period of from one to two years at refrigerator temperature (2-8°C) and at room temperature (23-27°C, 60% relative atmospheric humidity (RAH)). Surprisingly, the preparation according to the invention is also stable on storage over the said period at elevated temperatures and higher atmospheric humidity levels, for example at a temperature of 40°C and 75% relative atmospheric humidity.

The lyophilised preparation can be reconstituted in a simple manner to give a ready-to-use solution which contains no visible particles by addition of an aqueous solvent, for example water for injection purposes or an isotonic aqueous solution. The reconstituted solution is stable over a period of about 5 days, but is particularly preferably applied within four hours.

17

Reconstitution of the preparation according to the invention with aqueous solvents advantageously enables the preparation of antibody-containing solutions having a pH of from 5 to 8, preferably having a pH of from 6.0 to 7.4, particularly preferably having a pH of about 7.2, and an osmolality of from 250 to 350 mOsmol/kg. The reconstituted preparation can thus be administered directly intravenously, intraarterially and also subcutaneously substantially without pain. In addition, the preparation can also be added to infusion solutions, such as, for example, glucose solution, isotonic saline solution or Ringer solution, which may also comprise further active ingredients, thus also enabling relatively large amounts of active ingredient to be administered.

According to a preferred embodiment of the invention, the lyophilised pharmaceutical preparation essentially consists of an antibody, a sugar or amino sugar, an amino acid, a buffer and a surfactant.

The preparation according to the invention enables the preparation of antibody solutions which are matched in their concentration to the clinical needs. Preference is given to antibody solutions having an antibody concentration of from about 0.5 to 25 mg/ml, particularly preferably from 5 to 20 mg/ml, very particularly preferably from 10 to 15 mg/ml. The preparation according to the invention thus enables the preparation of ready-to-use preparations having a significantly higher antibody concentration than is described for the preparations of WO 98/22138 A2.

The sugar employed in the preparation according to the invention can be a mono-, di- or trisaccharide. Examples of monosaccharides that may be mentioned are glucose, mannose, galactose, fructose and sorbose, examples of disaccharides that may be mentioned are sucrose, lactose, maltose and trehalose, and an example of a trisaccharide that may be mentioned is raffinose. Preference is given to sucrose, lactose, maltose and trehalose, particularly preferably sucrose.

It is also possible for amino sugars to be present, i.e. monosaccharides which contain a primary, secondary or tertiary amino group or an acylated amino group (-NH-CO-R) instead of a hydroxyl group. For the purposes of the invention, particular preference is given here to glucosamine, N-methyl-glucosamine, galactosamine and neuraminic acid.

The sugar/amino sugar is present in the preparation according to the invention in such an amount that it is present in the resultant solution after reconstitution with the proposed volume of solvent in a concentration of from about 1 to 200 mg/ml. The sugar is preferably present in the reconstituted solution in a concentration of from 30 to 65 mg/ml.

Suitable amino acids used in accordance with the invention are basic amino acids, such as, for example, arginine, histidine, ornithine, lysine, inter alia, the amino acids preferably being employed in the form of their inorganic salts (advantageously in the form of the hydrochloric acid salts, i.e. as amino acid hydrochlorides). In the case where the free amino acids are employed, the desired pH is set by addition of a suitable physiologically tolerated buffer substance, such as, for example, an organic or inorganic acid, such as citric acid or phosphoric acid, sulfuric acid, acetic acid, formic acid or salts thereof. Preference is given to citrates and phosphates, with which particularly stable lyophilisates are obtained.

Preferred amino acids are arginine, lysine and ornithine. In addition, it is also possible to use acidic amino acids, such as, for example, glutamic acid and aspartic acid, or neutral amino acids, such as, for example, isoleucine, leucine and alanine, or aromatic amino acids, such as, for example, phenylalanine, tyrosine or tryptophan. The amino acid content in the preparation according to the invention is from 1 to 100 mg/ml, preferably from 1 to 50 mg/ml, particularly preferably 3-30 mg/ml (in each case based on the reconstituted solution).



Surfactants which can be employed are all surfactants usually used in pharmaceutical preparations, preferably polysorbates and polyoxyethylene-polyoxypropylene polymers. Particular preference is given to polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate and polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate. In accordance with the invention, the preparation comprises from 0.001 to 1% by weight, preferably from 0.005 to 0.1% by weight and particularly preferably about 0.01% by weight (in each case based on the reconstituted solution).

If the preparation according to the invention comprises buffers, these can in principle be any physiologically tolerated substances which are suitable for setting the desired pH. The amount of buffer substance is selected in such a way that, after reconstitution of the lyophilised preparation, for example with water for injection purposes, the resultant aqueous solution has a buffer concentration of from 5 mmol/l to 20 mmol/l, preferably about 10 mmol/l. Preferred buffers are citrate buffers or phosphate buffers. Suitable phosphate buffers are solutions of mono- and/or disodium and -potassium salts of phosphoric acid, such as disodium hydrogenphosphate or potassium dihydrogenphosphate, as well as mixtures of the sodium and potassium salts, such as, for example, mixtures of disodium hydrogenphosphate and potassium dihydrogenphosphate.

If the reconstituted solution is not already isotonic through the osmotic properties of the antibody and the auxiliaries employed for stabilisation, an isotonic agent, preferably a physiologically tolerated salt, such as, for example, sodium chloride or potassium chloride, or a physiologically tolerated polyol, such as, for example, glucose or glycerol, may furthermore be present in a concentration necessary for establishing isotonicity.

In addition, the lyophilisates according to the invention may comprise further physiologically tolerated auxiliaries, such as, for example, antioxidants, such as ascorbic acid or glutathione, preservatives, such as phenol, m-

cresol, methyl- or propylparaben, chlorobutanol, thiomersal or benzalkonium chloride, polyethylene glycols (PEG), such as PEG 3000, 3350, 4000 or 6000, or cyclodextrins, such as hydroxypropyl- β -cyclodextrin, sulfobutylethyl- β -cyclodextrin or γ -cyclodextrin.

The preparation according to the invention can be prepared by preparing an aqueous preparation comprising Cetuximab[®] or EMD 72000 as active ingredient and a sugar or amino sugar, an amino acid and a surfactant as additives and, if desired, further pharmaceutical auxiliaries, and subsequently lyophilising the solution.

The aqueous preparation can be prepared by adding the said auxiliaries to a solution comprising Cetuximab[®] or EMD 72000. To this end, defined volumes of stock solutions comprising the said further auxiliaries in defined concentration are advantageously added to a solution having a defined concentration of Cetuximab[®] or EMD 72000, as obtained from its preparation, and the mixture is, if desired, diluted to the pre-calculated concentration with water. Alternatively, the auxiliaries can also be added as solids to the starting solution comprising Cetuximab[®]. If Cetuximab[®] or EMD 72000 is in the form of a solid, for example in the form of a lyophilisate, the preparation according to the invention can be prepared by firstly dissolving the respective antibodies in water or an aqueous solution comprising one or more of the further auxiliaries, and subsequently adding the amounts required in each case of stock solutions comprising the further auxiliaries, the further auxiliaries in solid form and/or water. Cetuximab[®] or EMD 72000 can advantageously also be dissolved directly in a solution comprising all further auxiliaries.

One or more of the auxiliaries present in the preparation according to the invention may advantageously already have been added during or at the end of the process for the preparation of the particular EGFR antibody.

This can preferably be carried out by dissolving Cetuximab[®] or EMD 72000

21
77

directly in an aqueous solution comprising one, more than one or all of the further auxiliaries in the final step of the purification carried out after its preparation. In order to prepare the preparation, the respective further ingredient(s) then need only be added in a smaller amount in each case and/or not added at all. It is particularly preferred for the respective ingredient to be dissolved directly in an aqueous solution comprising all further auxiliaries in the final step of the purification carried out after its preparation, directly giving the solution to be lyophilised.

The solution comprising the respective antibody and the auxiliaries is set to a pH of from 5 to 8, sterile-filtered and freeze-dried.

The examples explain the invention without being restricted thereto.

If 10 mmol/l of sodium phosphate buffer or potassium phosphate buffer pH 7.2 were employed, this comprised 2.07 g/l of disodium hydrogenphosphate 7-hydrate and 0.31 g/l of sodium dihydrogenphosphate monohydrate or 1.220 g/l of dipotassium hydrogenphosphate and 0.4050 g/l of potassium dihydrogenphosphate.

Example 1

Lyophilisate obtained from aqueous solution comprising:

10 mg/ml of EMD 72000

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

17 mmol/l of arginine

3% by weight of sucrose

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate

0.4% by weight of PEG 6000

The preparation was carried out by mixing defined volumes of aqueous solutions comprising the respective auxiliaries in defined concentration.

The following solutions were used:

Solution A (active-ingredient solution) comprising:

20 mg/ml of EMD 72000

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

Solution B (buffer/salt solution):

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

6% by weight of sucrose

0.02% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate

34 mmol/l of arginine

0.8% by weight of polyethylene glycol 6000

In order to prepare the preparation according to the invention, equal volumes of solution A and solution B were combined with one another.

The prepared solution was sterile-filtered before packaging. The vials were each filled with 2 ml of solution. The vials were subsequently partially

sealed with stoppers and lyophilised. After freeze-drying, the vials were sealed and crimped.

Example 2

Lyophilisate obtained from aqueous solution comprising:

10 mg/ml of EMD 72000

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

14 mmol/l of arginine

3% by weight of sucrose

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate

The preparation was carried out by mixing defined volumes of aqueous solutions comprising the respective auxiliaries in defined concentration. The following solutions were used:

Solution A (active-ingredient solution) comprising:

20 mg/ml of EMD 72000

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

Solution B (buffer/salt solution):

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

6% by weight of sucrose

0.02% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate

34 mmol/l of arginine

In order to prepare the preparation according to the invention, equal volumes of solution A and solution B were combined with one another.

The prepared solution was sterile-filtered before packaging. The vials were each filled with 20 ml of solution. The vials were subsequently partially

25
24

sealed with stoppers and lyophilised. After freeze-drying, the vials were sealed and crimped.

Example 3

Lyophilisate obtained from aqueous solution comprising:

15 mg/ml of Cetuximab®

5 mmol/l of citrate

100 mmol/l of arginine

4% by weight of mannitol

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate

The preparation was carried out by mixing defined volumes of aqueous solutions comprising the respective auxiliaries in defined concentration.

The following solutions were used:

Solution A (active-ingredient solution) comprising:

19 mg/ml of Cetuximab®

5 mmol/l of citrate

127 mmol/l of arginine

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate

Solution B (buffer/salt solution):

5 mmol/l of citrate

19.05% by weight of mannitol

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate

In order to prepare the preparation according to the invention, 7.9 ml of solution A and 2.1 ml of solution B were combined with one another.

The prepared solution was filtered using a sterile filter before packaging. The vials were each filled with 2 ml of solution using a pipette. The vials were subsequently partially sealed with stoppers and lyophilised. After freeze-drying, the vials were sealed and crimped.

Example 4

Lyophilisate obtained from aqueous solution comprising:

15 mg/ml of Cetuximab[®]

5 mmol/l of citrate

100 mmol/l of arginine

1.5% by weight of sucrose

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate

The preparation was carried out by mixing defined volumes of aqueous solutions comprising the respective auxiliaries in defined concentration.

The following solutions were used:

Solution A (active-ingredient solution) comprising:

19 mg/ml of Cetuximab[®]

5 mmol/l of citrate

127 mmol/l of arginine

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate

Solution B (buffer/salt solution):

5 mmol/l of citrate

7.1% of sucrose

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate

In order to prepare the preparation according to the invention, 7.9 ml of solution A and 2.1 ml of solution B were combined with one another.

The prepared solution was filtered using a sterile filter before packaging. The vials were each filled with 2 ml of solution using a pipette. The vials were subsequently partially sealed with stoppers and lyophilised. After freeze-drying, the vials were sealed and crimped.

Example 5

Lyophilisate obtained from aqueous solution comprising:

15 mg/ml of Cetuximab®

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

14 mmol/l of L-arginine hydrochloride

88 mmol/l of sucrose

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate

adjust to pH 7.5 using phosphoric acid

The preparation was carried out by mixing defined volumes of aqueous solutions comprising the respective auxiliaries in defined concentration.

The following solutions were used:

Solution A (active-ingredient solution) comprising:

25 mg/ml of Cetuximab®

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

water for injection purposes

Solution B (buffer/salt solution):

10 mmol/l of potassium phosphate buffer pH 7.2

35.6 mmol/l of L-arginine hydrochloride

219 mmol/l of sucrose

0.025% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate

adjust to pH 7.5 using phosphoric acid

As
27

In order to prepare the preparation according to the invention, 6 ml of solution A and 4 ml of solution B were combined with one another.

The prepared solution was filtered using a sterile filter before packaging. The vials were each filled with 2 ml of solution using a pipette. The vials were subsequently partially sealed with stoppers and lyophilised. After freeze-drying, the vials were sealed and crimped.

Example 6 (comparative preparation 1)

Aqueous solution comprising:

5 mg/ml of Cetuximab®

10 mmol/l of sodium phosphate buffer pH 7.2

145 mmol/l of sodium chloride

The preparation was carried out by mixing defined volumes of aqueous solutions comprising the respective auxiliaries in defined concentration.

The following solutions were used:

Solution A (active-ingredient solution) comprising:

10 mg/ml of Cetuximab®

10 mmol/l of sodium phosphate buffer pH 7.2

145 mmol/l of sodium chloride

(The solution was obtained by eluting the active ingredient from the column using solution B in the final step of the chromatographic active-ingredient purification carried out after its preparation.)

Solution B (buffer/salt solution):

Corresponds to solution A, but comprises no active ingredient.

In order to prepare the comparative preparation, 10 ml of each of solutions A and B were combined with one another.

Example 7 (comparative preparation 2)

Aqueous solution comprising:

5 mg/ml of Cetuximab®

10 mmol/l of sodium phosphate buffer pH 7.2

45 mmol/l of sodium chloride

0.01% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate

The preparation was carried out by mixing defined volumes of aqueous solutions comprising the respective auxiliaries in defined concentration.

The following solutions were used:

Solution A (active-ingredient solution) comprising:

9.7 mg/ml of Cetuximab®

10 mmol/l of sodium phosphate buffer pH 7.2

145 mmol/l of sodium chloride

(The solution was obtained by eluting the active ingredient from the column using solution B in the final step of the chromatographic active-ingredient purification carried out after its preparation.)

Solution B (buffer/salt solution):

Corresponds to solution A, but comprises no active ingredient.

Solution C (polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester solution):

Corresponds to solution B, but additionally comprises 1% by weight of polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate

In order to prepare the comparative preparation, 10 ml of solution A, 9.8 ml of solution B and 0.2 ml of solution C were combined with one another.

The prepared solution was filtered using a sterile filter before packaging. The vials were each filled with 2 ml of solution using a pipette. The vials were subsequently sealed with stoppers and crimped.

Investigations of the stability of the preparations

The stability of the preparations according to the invention from Examples 1 and 2 was tested in stress tests. To this end, the lyophilisates prepared were stored at 40°C and a relative atmospheric humidity (RAH) of 75%. The preparations were stored for certain times and analysed using suitable analytical methods. Possible instabilities were evident in the antibodies principally from the formation of aggregates and from the formation of degradation products. Degradation products are preferably detected by gel electrophoresis (sodium dodecylsulfate/polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and isoelectric focusing (IEF)), whereas visual inspection and turbidity measurements were used to detect visible aggregates and size exclusion chromatography (HPLC-SEC) was used to detect soluble aggregates. The ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) test likewise used for evaluating the preparations serves to check the integrity and binding ability to the receptor.

Results in Tables 1 and 2 clearly confirm the quality and stability of the preparations prepared, even at elevated storage temperatures and elevated relative atmospheric humidity (40°C/75% RAH).

21
30

Storage time (months)	pH	ELISA (rel. titre)	SDS-PAGE [% of IG monomer]		SE-HPLC
			non- reducing	reducing	
Temperature 2 - 8°C					
0	7.11	1.00	100	100	100
6	7.14	1.01	99.3	100	99.6
12	7.15	1.04	99.9	99.1	99.7
24	7.16	1.03	100	100	100
Temperature 25°C, 60% rel. humidity					
6	7.17	1.03	99.1	99.0	99.5
12	7.15	1.01	98.7	99.1	99.6
24	7.16	1.03	100	100	99.5
Temperature 40°C, 75% rel. humidity					
6	7.17	1.10	98.8	98.2	99.3
12	7.15	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
24	7.16	0.98	100	100	99.3

Table 1: Stability of the preparation from Example 1

32
31

Storage time (weeks)	pH	ELISA (rel. titre)	SDS-PAGE [% of IG monomer]		SE-HPLC
			non- reducing	reducing	
Temperature 2 - 8°C					
0	7.20	0.97	100	100	99.33
13	7.23	1.00	n.m.	n.m.	99.24
26	7.21	1.02	99.47	99.57	99.27
Temperature 25°C, 60% rel. humidity					
13	7.24	1.05	n.m.	n.m.	99.22
26	7.24	0.97	99.47	99.64	99.21
Temperature 40°C, 75% rel. humidity					
13	7.23	1.04	n.m.	n.m.	99.08
26	7.25	0.97	99.61	99.62	98.85

Table 2: Stability of the preparation from Example 2

The stability of the preparations according to the invention from Examples 3 to 7 were likewise checked in stress tests. To this end, vials containing the solution from Examples 3-5 and, for comparative purposes, vials containing the solution from Examples 6-7 were stored at 25°C and 60% relative atmospheric humidity (RAH) and 40°C and 75% RAH. Before storage and after defined storage times, in each case 3 vials were assessed visually under direct illumination with a cold light source, and the absorption of the solutions at 350 and 550 nm, which represents a measure of the turbidity, was determined. Furthermore, 3 vials were removed in each case and analysed with regard to the content of Cetuximab® and decomposition products by means of HPLC gel filtration.

33
32

The HPLC chromatographic studies were carried out with acetonitrile/water 95/5 (V/V) gradients (B) and buffer solution pH 2.5/acetonitrile 95/5 (V/V) (A) as eluents. Column: LiChroCHART® 125-2 HPLC cartridge; Super-spher® 60 RP-select B, flow rate: 0.3 ml/min, detection at 210 nm.

The results of the stability studies are shown in Table 3.

Test solution	Storage at 40°C/75% RAH [weeks]	Cetuximab [%]	Aggregates [%]	Decomposition products [%]	Turbidity at $\lambda = 350$ nm	Turbidity at $\lambda = 550$ nm	Visual assessment
Ex. 3	0	99.30	0.20	0.51	0.0211	0.0055	clear
Ex. 3	4	99.04	0.62	0.34	0.0214	0.0029	clear
Ex. 3	8	98.54	1.12	0.34	0.0224	0.0020	clear
Ex. 3	13	98.43	1.18	0.40	0.0246	0.0019	clear
Ex. 4	0	99.33	0.19	0.48	0.0198	0.0045	clear
Ex. 4	4	99.11	0.40	0.50	0.0174	0.0025	clear
Ex. 4	8	99.19	0.44	0.38	0.0181	0.0021	clear
Ex. 4	13	99.20	0.45	0.36	0.0172	0.0014	clear
Ex. 5	0	99.58	0.19	0.04	0.0195	0.0050	clear
Ex. 5	4	99.51	0.24	0.25	0.0165	0.0028	clear
Ex. 5	8	99.56	0.22	0.22	0.0156	0.0023	clear
Ex. 5	13	99.52	0.28	0.20	0.0187	0.0045	clear
Ex. 6	0	99.69	0.62	0.15	0.0130	0.0021	clear
Ex. 6	4	92.00	0.84	7.38	0.0232	0.0047	cloudy
Ex. 6	8	89.94	1.39	8.68	0.0338	0.0044	cloudy
Ex. 6	13	86.66	3.26	10.11	0.0403	0.0061	cloudy

Ex. 7	0	99.72	0.17	0.11	0.0128	0.0016	clear
Ex. 7	4	98.60	0.56	0.84	0.0200	0.0022	clear
Ex. 7	8	96.49	2.21	1.32	0.0280	0.0033	clear
Ex. 7	13	86.46	4.84	8.73	0.0382	0.0036	cloudy

Table 3

Figures 1 to 5 furthermore show a comparison of the results of various stability studies of the preparation according to the invention from Example 4 with comparative formulations 1 and 2 after defined storage times at 40°C and 75% RAH. Before each analysis was carried out, the freeze-dried preparation from Example 4 was reconstituted with water for injection purposes to give an aqueous solution containing three times the amount of water compared with the starting solution used to prepare the lyophilised preparation by freeze-drying.

Figure 1 shows the decrease in the active-ingredient content in comparative formulations 1 and 2 compared with the preparation according to the invention from Example 4, measured as the content of monomer in the HPLC-SEC.

Figure 2 shows the increase in degradation products in comparative formulations 1 and 2 compared with the preparation according to the invention from Example 4, measured in the HPLC-SEC.

Figure 3 shows the increase in aggregates in comparative formulations 1 and 2 compared with the preparation according to the invention from Example 4, measured in the HPLC-SEC.

Figure 4 shows the increase in optical density at $\lambda = 350$ nm in comparative formulations 1 and 2 compared with the preparation according to the invention from Example 4.

Figure 5 shows the increase in optical density at $\lambda = 550$ nm in comparative formulations 1 and 2 compared with the preparation according to the invention from Example 4.

The results clearly show that the compositions according to the invention have significantly increased stability compared with the liquid comparative solutions.

Patent Claims

1. Lyophilised pharmaceutical preparation of mono- or polyclonal antibodies comprising a sugar or an amino sugar, an amino acid and a surfactant, characterised in that the antibody is an antibody directed against the epidermal growth factor receptor (EGF receptor).
2. Lyophilised pharmaceutical preparation according to Claim 1, characterised in that the antibody is Cetuximab[®] or EMD 72000 or one of the murine, humanised or chimeric antibody analogues corresponding thereto.
3. Lyophilised pharmaceutical preparation according to Claim 2, characterised in that the antibody is Cetuximab[®] or EMD 72000.
4. Lyophilised pharmaceutical preparation according to one or more of Claims 1 to 3, essentially consisting of an antibody, a sugar or amino sugar, an amino acid, a buffer and a surfactant.
5. Lyophilised pharmaceutical preparation according to one or more of Claims 1 to 4, characterised in that the sugar is a mono-, di- or trisaccharide, preferably sucrose, maltose or trehalose.
6. Lyophilised pharmaceutical preparation according to one or more of Claims 1 to 5, characterised in that the amino sugar is glucosamine, N-methyl-glucosamine, galactosamine or neuraminic acid.
7. Lyophilised pharmaceutical preparation according to one or more of Claims 1 to 6, characterised in that the amino acid is a basic, acidic or neutral amino acid, preferably arginine, lysine or ornithine.

37
36

8. Lyophilised pharmaceutical preparation according to one or more of Claims 1 to 7, characterised in that the surfactant is a polysorbate or a polyoxyethylene-polyoxypropylene polymer.
9. Lyophilised pharmaceutical preparation according to Claim 8, characterised in that the surfactant is the polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate or polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate.
10. Lyophilised pharmaceutical preparation according to one or more of Claims 1 to 9, characterised in that an isotonic agent in a concentration necessary for establishing isotonicity is furthermore present.
11. Lyophilised pharmaceutical preparation according to Claim 10, characterised in that sodium chloride is present as isotonic agent.
12. Aqueous pharmaceutical preparation of mono- or polyclonal antibodies obtainable by reconstituting the lyophilisate according to one or more of Claims 1 to 11 with an aqueous solvent.
13. Aqueous pharmaceutical preparation according to Claim 12, characterised in that the solution has a pH of 5 - 8, preferably 6 - 7.4.
14. Aqueous pharmaceutical preparation according to Claim 13, characterised in that the solution has a pH of about 7.2.
15. Process for the preparation of a lyophilised pharmaceutical preparation according to one or more of Claims 1 to 11, characterised in that an aqueous preparation comprising Cetuximab® or EMD 72000 as active ingredient and a sugar or amino sugar, an amino acid and a surfactant as additives and, if desired, further pharmaceutical auxiliaries, is prepared, and the solution is subsequently lyophilised.

328

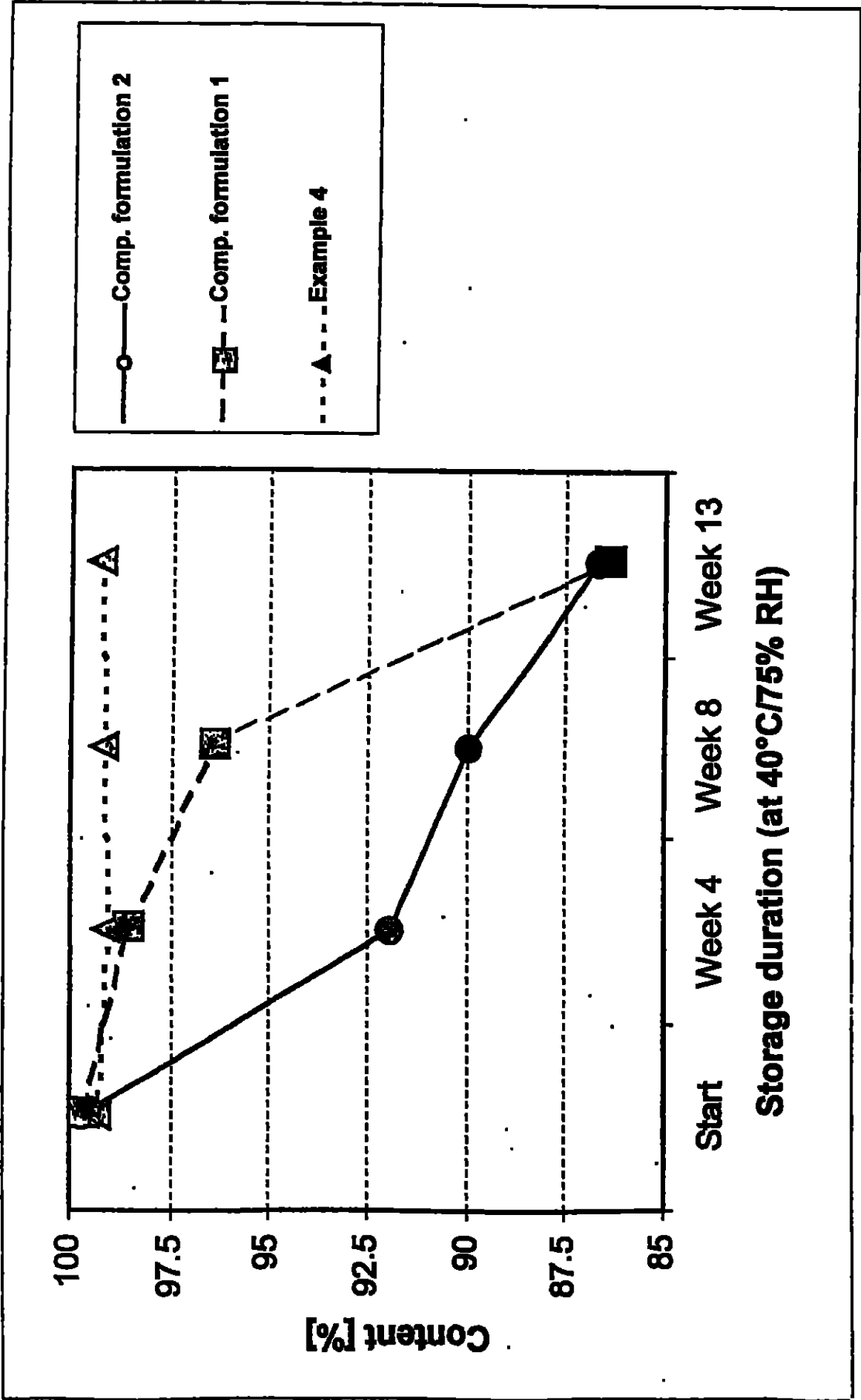


Fig. 1: Decrease in the active ingredient content on storage of various formulations with Cetuximab® (SEC-HPLC)

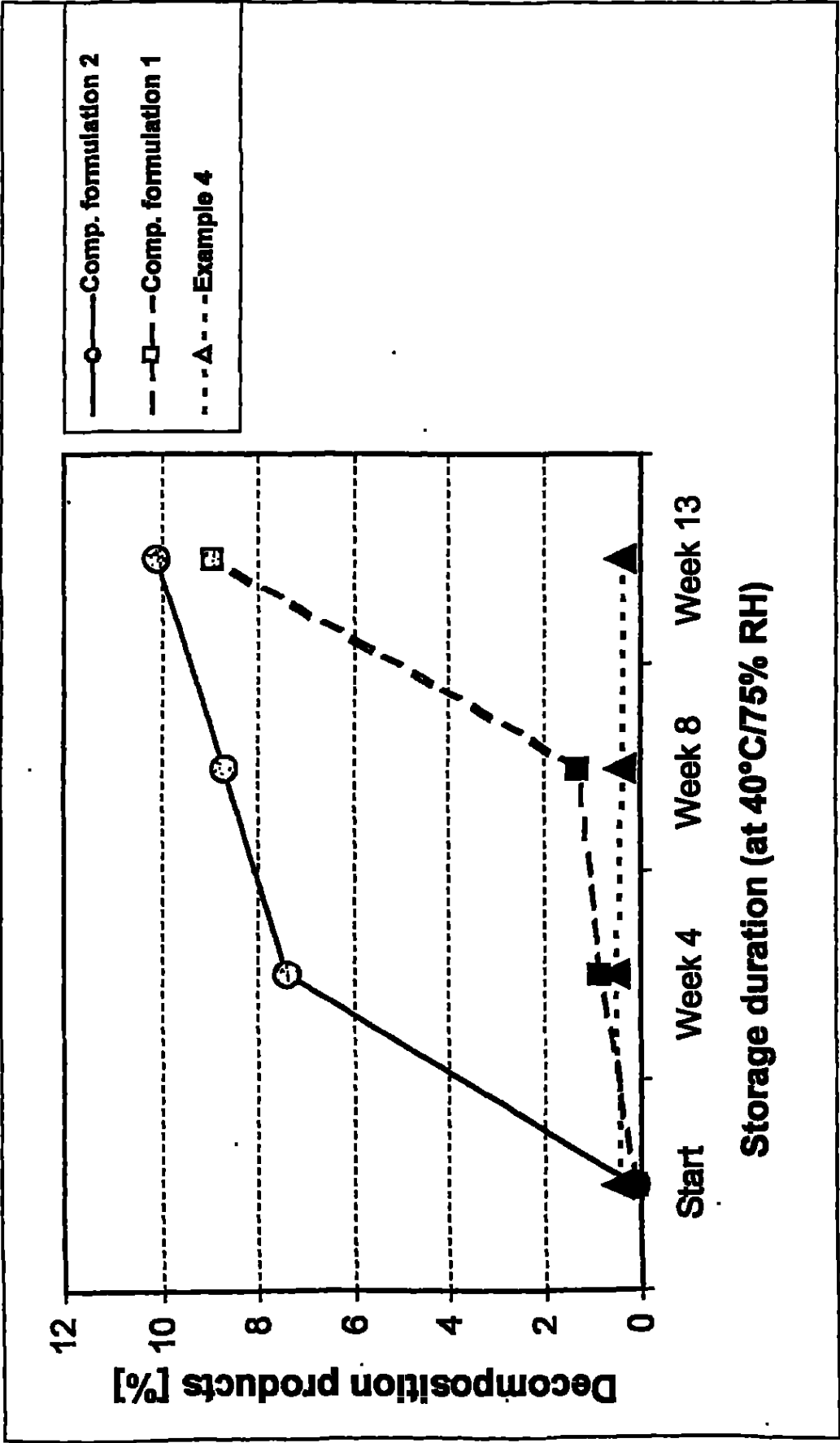


Fig. 2: Increase in degradation products on storage of various formulations with Cetuximab® (SEC-HPLC)

87

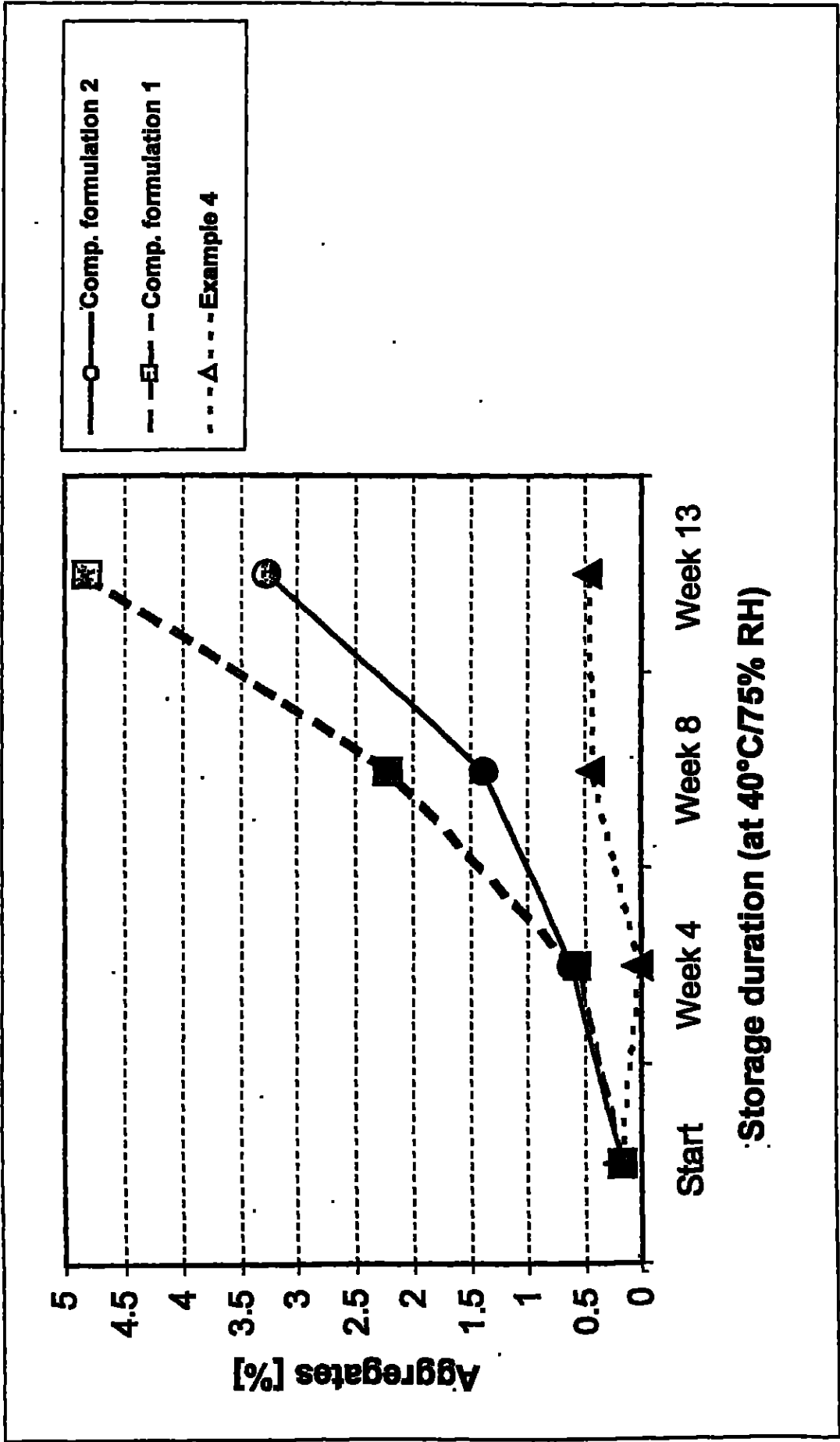


Fig. 3: Increase in aggregates on storage of various formulations with Cetuximab® (SEC-HPLC)

XX

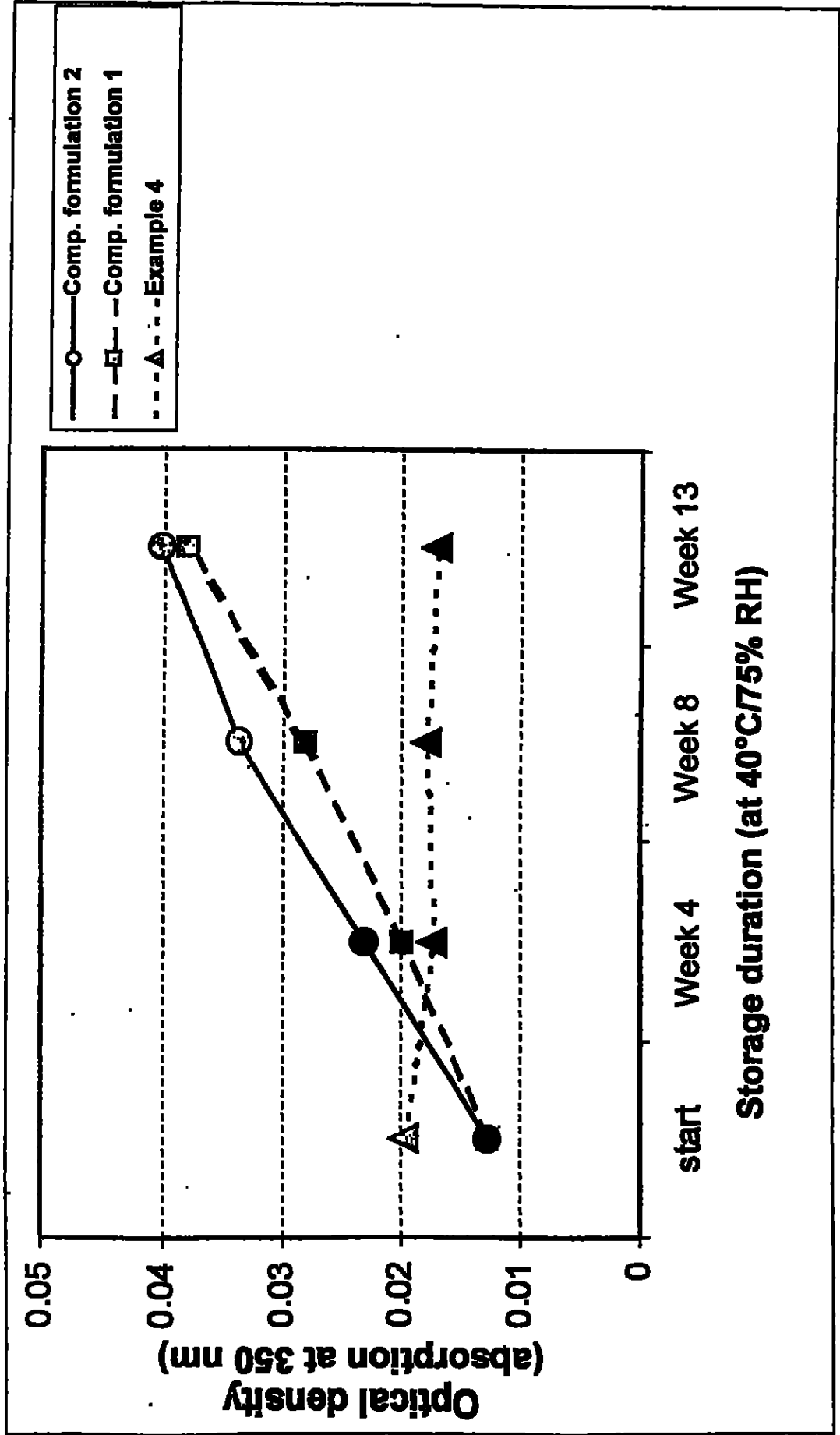


Fig. 4: Increase in turbidity in storage of various formulations with Cetuximab® (measured at 350 nm (A350))

2

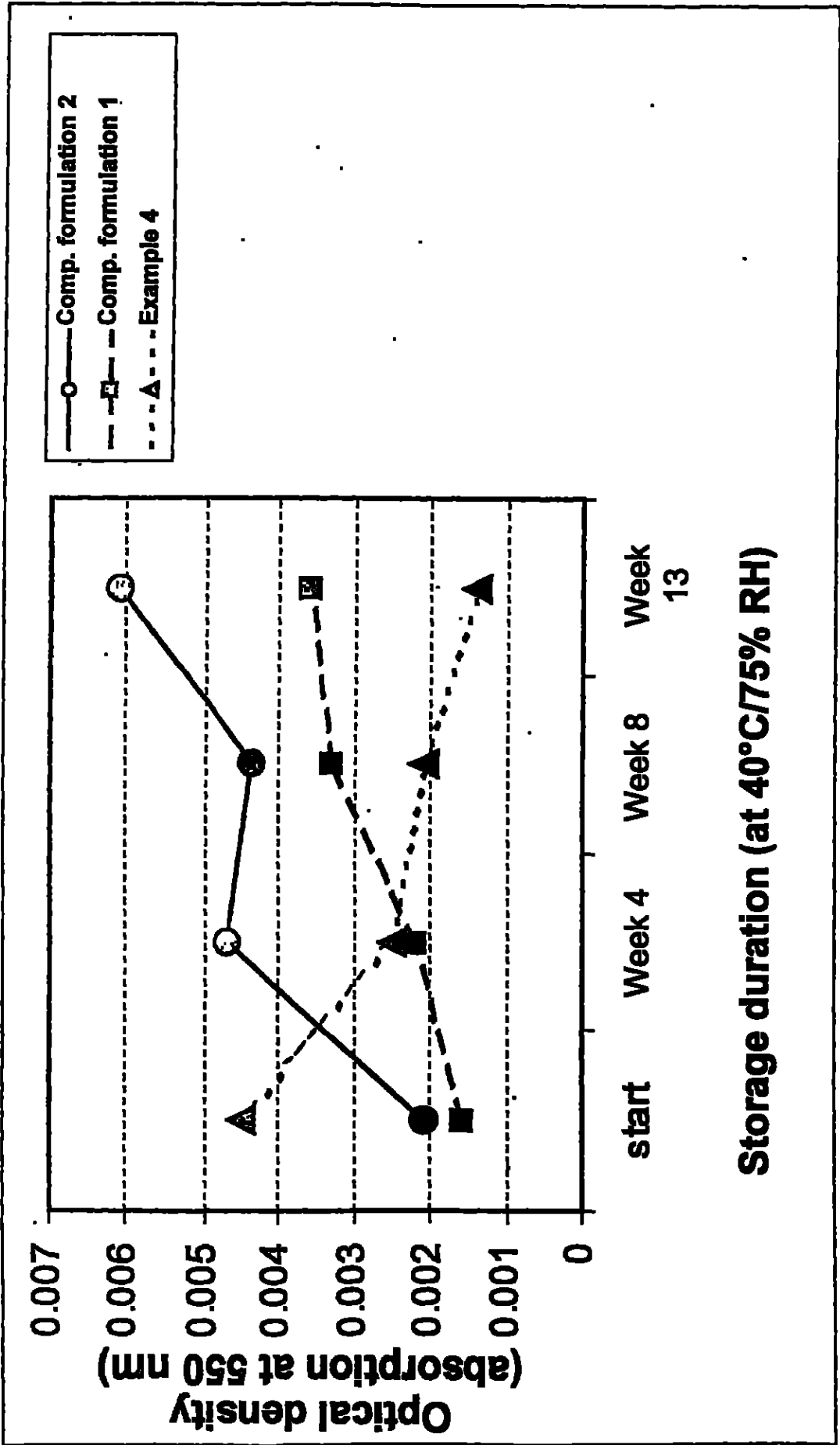


Fig. 5: Increase in turbidity on storage of various formulations with Cetuximab® (measured at 550 nm (A550))

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

32
42

Applicant's or agent's file reference 101D193-Iggs	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP2002/013223	International filing date (day/month/year) 25 November 2002 (25.11.2002)	Priority date (day/month/year) 21 December 2001 (21.12.2001)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 39/395		
Applicant MERCK PATENT GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 2 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 26 June 2003 (26.06.2003)	Date of completion of this report 27 November 2003 (27.11.2003)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP2002/013223

43

I. Basis of the report

The basis of international preliminary examination report is the application as originally filed.

V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability

In light of the documents cited in the International search report, it is considered that the invention as defined in at least some of the claims does not appear to meet the criteria mentioned in Article 33(1) PCT, i.e. does not appear to be novel and/or to involve an inventive step (see international search report, in particular the documents cited X and/or Y and corresponding claim references).

44
↓

TRADUCCIÓN
TRATADO DE COOPERACIÓN SOBRE PATENTES

PCT

INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

PCT, Artículo 36 y Regla 70

Referencia del archivo del agente o solicitante: 101SD193-Iggs

Para acción ulterior: Ver notificación de transmisión del Informe de examen preliminar internacional (Forma PCT/IPEA/416)

Solicitud internacional PCT/EP01/06603. Fecha de radicación internacional: 25 de noviembre de 2002

Fecha de prioridad:: 21 de diciembre de 2001

Clasificación internacional de patente o clasificación nacional y PCT

A61K 39/395

Solicitante: MERCK PATENT GMBH

- 1. Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta autoridad examinadora preliminar internacional y se transmite al solicitante de acuerdo con el Artículo 36.**
- 2. Este informe está formado por 2 hojas, incluyendo esta portada**

(N/A) Este informe está también acompañado por anexos, o sea hojas de la descripción, reivindicaciones y o dibujos que han sido reformados y que constituyen la base de este informe y o las hojas que contienen rectificaciones hechas ante esta autoridad (Ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones administrativas bajo el PCT)

Estos anexos están formados por _____ hojas.

- 3. Este informe contiene indicaciones relacionadas con los siguientes puntos:**

45
2

I ☒ Bases del informe

II ☐ Prioridad

III ☐ No establecimiento de informe con respecto a novedad, actividad inventiva, y aplicabilidad industrial

IV ☐ Carencia de unidad de la invención

V ☒ Declaración motivada, de acuerdo con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, actividad inventiva o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones de apoyo a dicha declaración

VI ☐ Ciertos documentos citados

VII ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional

VIII ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Fecha de presentación de la demanda: 26 de junio de 2003

Fecha de culminación de este informe: 27 de noviembre de 2003

Nombre y dirección postal de la Autoridad examinadora preliminar internacional:

(DATO EN BLANCO)

Funcionario autorizado: (DATO EN BLANCO)

Teléfono: (DATO EN BLANCO)

INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

Solicitud internacional Número PCT/EP2002/013223

I. Fundamento del informe

El fundamento del informe preliminar internacional es la solicitud tal como fue originalmente presentada.

V. Declaración razonada de acuerdo con la Regla 66.2(a)(ii) con respecto a novedad, actividad inventiva o aplicabilidad industrial.

Con base en los documentos citados en el informe de búsqueda internacional, se considera que el invento, tal como se define en por lo menos algunas de las reivindicaciones, no parece cumplir con los criterios mencionados en el Artículo 33 (1) PCT, o sea no parece ser novedoso ni implicar actividad inventiva (ver informe de búsqueda internacional, en especial los documentos citados X y o Y y las referencias de reclamación correspondientes).

FORMA PCT/409NEI (EPO-Marzo 2002) P20752.

WPCL002G. ID 5668

Eduardo Calado
Eduardo Calado
TRABAJADOR OFICIAL
BOLSA DE TRABAJO
BOLSA DE TRABAJO

Figures 4 + 5 are only available in English x 47

Preparación liofilizada que contiene un anticuerpo contra el receptor EGF

La presente invención se refiere a una preparación farmacéutica liofilizada estable que contiene un anticuerpo y que está dirigida contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), y a su obtención.

En diversos estudios *in vitro* e *in vivo* se pudo demostrar que el bloqueo del EGFR por medio de anticuerpos actúa contra los tumores en diferentes niveles, por ejemplo, por inhibición de la proliferación de las células cancerígenas, disminución de la angiogénesis mediada por tumores, inducción de la apoptosis de células cancerígenas y potenciación de los efectos tóxicos de la radioterapia y la quimioterapia usual.

MAB c225 (Cetuximab[®]) es un anticuerpo clínicamente probado que se une al receptor EGF. Cetuximab[®] es un anticuerpo quimérico, cuyas regiones variables son de origen murino y cuyas regiones constantes son de origen humano, y fue descrito por primera vez por Naramura et al., Cancer Immunol Immunotherapy 1993, 37: 343-349, así como en la WO 96/40210 A1.

MAB 425 es un anticuerpo originariamente murino e bre-expresado en células tumorales que está dirigido contra el EGFR, sobre todo células de carcinoma A431. Sus formas huma-

nizadas y quiméricas son conocidas, por ejemplo, de la EP 0 531 472 A1; Kettleborough et al., Protein Engineering 1991, 4: 773-783; Bier et al., Cancer Chemother Pharmacol 2001, 47: 519-524; Bier et al., Cancer Immunol Immunother 1998, 46: 167-173. EMD 72000 es un anticuerpo que se halla en la fase clínica I/II (h425), cuya región constante se compone de una cadena κ y una cadena γ -1 humana.

Los anticuerpos anti-EGFR humanos pueden prepararse según la tecnología XenoMouse, tal como se describe en la WO 91/10741 A1, WO 94/02602 A1, WO 96/33735 A1. Un anticuerpo preparado según esta tecnología que se halla especialmente en la comprobación clínica es el ABX-EGF (Abgenix, Crit Rev Oncol Hematol 2001, 38: 17-23; Cancer Research 1999, 59:1236-43).

Otros anticuerpos dirigidos al EGFR se describen, por ejemplo, en la EP 0 586 002 B1, así como en J Natl Cancer Inst 1993, 85: 27-33 (MAB 528).

Como otros anticuerpos, los anticuerpos EGFR también se usan para la aplicación terapéutica de modo parenteral como solución. Otro problema de las soluciones con estos anticuerpos consiste en su tendencia a la agregación y la formación de multímeros de proteínas. En el caso de multímeros reproducibles, esto puede atribuirse a una formación intermolecular de puentes de disulfuro no pretendida por una interacción entre partes de moléculas que se aproximan. Tam-

bién se tienen en cuenta las interacciones hidrófobas y la formación de multímeros no reducibles relacionada con ellas. Además, se producen reacciones de desamidación que posteriormente conducen a reacciones de degradación de proteínas. Las reacciones de desnaturalización descritas se presentan sobre todo durante el almacenamiento a altas temperaturas o en caso de sollicitación de corte, tal como aparecen, por ejemplo, durante el transporte. Por ello, en general las preparaciones líquidas son menos adecuadas como forma farmacéutica para una aplicación general.

Un procedimiento habitual para estabilizar los anticuerpos es la liofilización de soluciones que contienen anticuerpos y excipientes. Separando el agua, se reduce la formación de productos de descomposición y agregados (Hsu et al., Dev. Biol. Stand. 1991, 74: 255-267 y Pikal et al., Dev. Biol. Stand. 1991, 74: 21-27).

La WO 93/00807 A1 describe preparaciones liofilizadas de proteínas que contienen polietilenglicoles y un azúcar para la estabilización. Sin embargo, los polietilenglicoles no son toxicológicamente inofensivos y por este motivo deberían evitarse en medicamentos dentro de lo posible, sobre todo cuando están previstos para la administración parenteral.

La WO 98/22136 A2 revela una preparación liofilizada que contiene un anticuerpo, un azúcar o un aminoazúcar, un aminoácido y un surfactante. En general, se reivindica la

preparación para anticuerpos, pero como ejemplo de realización se revelan solamente preparaciones con anticuerpos monoclonales que están dirigidos contra el virus de la hepatitis B (AC VHB), así como una preparación con un anticuerpo contra la L-selectina (anti-L-selectina) y un anticuerpo contra el receptor del "anti-L-Nerve-Growth-Factor" (anti-L-NGFR). Mientras que las preparaciones con el AC VHB y la anti-L-selectina se obtuvieron a partir de soluciones con una concentración de anticuerpos de 8 mg/ml ó 7 mg/ml como máximo, la preparación con el anticuerpo dirigido contra el factor de crecimiento anti-L-NGFR se produjo con una composición de los excipientes cuantitativa y cualitativa por lo demás idéntica a partir de una solución con sólo 0,25 mg/ml de anticuerpo. A pesar de que la preparación con el anti-L-NGFR contiene una proporción de anticuerpo 20 veces menor y por ello también ha de esperarse una menor cantidad de productos de degradación, contrariamente a las preparaciones con otros anticuerpos no se revelan datos de estabilidad.

El objeto de la presente invención consistió en poner a disposición una preparación estabilizada para los anticuerpos dirigidos contra el EGFR. La preparación no deberá contener excipientes toxicológicamente peligrosos, en condiciones de mayor estrés, tal como temperatura y humedad ambiente elevadas, deberá ser estable durante un tiempo prolongado y reconstituible con un solvente acuoso en una solución lista

para usar con una alta proporción de principio activo.

Sorprendentemente, se pudo poner a disposición una preparación que satisface estos requerimientos, liofilizando una solución acuosa que contiene, además de uno de estos anticuerpos anti-EGFR, un azúcar o un aminoazúcar, un aminoácido y un surfactante. Por ello, es objeto de la presente invención una preparación liofilizada estable de anticuerpos mono o policlonales, que contiene un azúcar o un aminoazúcar, un aminoácido y un surfactante, caracterizada porque el anticuerpo es un anticuerpo dirigido contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

Como anticuerpo puede estar contenido cualquier anticuerpo dirigido contra el factor de crecimiento epidérmico, sobre todo los anticuerpos murinos, humanizados y quiméricos mencionados al principio, así como los anticuerpos anti-EGFR humanos preparados y que pueden prepararse por medio de la tecnología XenoMouse mencionada. En la preparación de la invención se prefiere como anticuerpo dirigido contra el EGFR Cetuximab[®] o EMD 72000 ó uno de los análogos murinos, humanizados o quiméricos correspondientes a éstos. Se prefieren especialmente las preparaciones que contienen Cetuximab[®] o EMD 72000 como anticuerpo.

La preparación de la invención tiene buena tolerancia fisiológica, es de fácil obtención, se puede dosificar en forma exacta y es estable al almacenamiento con el paso del

tiempo y en múltiples pasos de congelamiento y descongelamiento en lo que respecta al contenido, los productos de descomposición y los agregados. Puede almacenarse en forma estable a temperatura de heladera (2-8°C) y a temperatura ambiente (23-27°C, 60 % de humedad relativa ambiente (h.r.)) durante un período de al menos tres meses hasta un período de uno a dos años. Sorprendentemente, la preparación de la invención también puede almacenarse en forma estable a mayores temperaturas y humedades relativas ambiente, por ejemplo, a una temperatura de 40°C y 75 % de humedad relativa ambiente durante el período mencionado.

La preparación liofilizada puede reconstituirse sencillamente en una solución lista para usar, que no presenta partículas visibles, agregando un solvente acuoso, por ejemplo, agua para inyectables o una solución acuosa isotónica. La solución reconstituida es estable durante un período de aproximadamente 5 días, pero se aplica muy preferentemente dentro de las cuatro horas.

Ventajosamente, a partir de la preparación de la invención por reconstitución con solventes acuosos pueden obtenerse soluciones con anticuerpos con un valor pH de 5 a 8, preferentemente con un valor pH de 6,0 a 7,4, de preferencia especial, con un valor pH de aproximadamente 7,2 y una osmolaridad de 250 a 350 mOsmol/kg. La preparación reconstituida puede administrarse directamente de esta manera sin diluir

por vía intravenosa, intraarterial y subcutánea. Además, la preparación puede agregarse a soluciones de infusión como, por ejemplo, una solución de glucosa, una solución fisiológica isotónica o una solución de Ringer, que también pueden contener otros principios activos, de modo que también se pueden aplicar mayores cantidades de principios activos.

De acuerdo con una forma preferida de realización de la invención, la preparación farmacéutica liofilizada está compuesta esencialmente de un anticuerpo, un azúcar o un aminoazúcar, un aminoácido, un buffer y un surfactante.

La preparación de la invención posibilita la obtención de soluciones de anticuerpos que están adecuadas en su concentración a los requerimientos clínicos. Se prefieren las soluciones de anticuerpos con una concentración de anticuerpos de aproximadamente 0,5 a 25 mg/ml, de preferencia especial, de 5 a 20 mg/ml, de preferencia muy especial de 10 a 15 mg/ml. La preparación de la invención posibilita, de esta manera, la obtención de preparaciones listas para usar con una concentración de anticuerpos claramente mayor que la que se describió para las preparaciones de la WO 98/22136 A2.

En la preparación de la invención pueden aplicarse como azúcares los mono, di o trisacáridos. Se mencionan a manera de ejemplo como monosacáridos glucosa, manosa, galactosa, fructosa y sorbosa, como disacáridos, sacarosa, lactosa, maltosa o trehalosa, y como trisacáridos, rafinosa. Se pre-

fieren la sacarosa, la lactosa, la maltosa o la trehalosa, de preferencia especial la sacarosa. Asimismo pueden estar contenidos aminoazúcares, es decir, monosacáridos que, en lugar de un grupo hidroxil, poseen un amino primario, secundario o terciario o un grupo amino acilado ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{R}$). Según la invención, se prefieren especialmente la glucosamina, la N-metilglucosamina, la galactosamina y el ácido neuramínico.

El azúcar/aminoazúcar contenido está presente en la preparación de la invención en una cantidad tal que, luego de la reconstitución con el volumen previsto de solvente, existe en la solución obtenida en una concentración de aproximadamente 1 a 200 mg/ml. De preferencia, el azúcar está en la solución reconstituida en una concentración de 30 a 65 mg/ml.

Como aminoácidos usados según la invención se tienen en cuenta aminoácidos básicos como, por ejemplo, arginina, histidina, ornitina, lisina, entre otros, aplicándose los aminoácidos de preferencia en forma de sus sales inorgánicas (preferentemente, en forma de las sales de ácido clorhídrico, es decir, como clorhidrato de aminoácido). Para el caso de que se apliquen los aminoácidos libres, la regulación del pH deseado se produce agregando una sustancia amortiguadora apropiada de tolerancia fisiológica como, por ejemplo, un ácido orgánico o inorgánico como ácido cítrico y ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido acético, ácido fórmico sus

sales. Se prefieren citratos y fosfatos con los cuales se obtienen liofilizados particularmente estables.

Como aminoácidos se prefieren arginina, lisina u ornitina. Además, también pueden aplicarse aminoácidos ácidos como, por ejemplo, ácido glutámico y ácido aspártico, o aminoácidos neutros como, p.ej., isoleucina, leucina y alanina, o aminoácidos aromáticos como, por ejemplo, fenilalanina, tirosina o triptófano. El contenido de aminoácido en la preparación de la invención es de 1 a 100 mg/ml, de preferencia, de 1 a 50 mg/ml, de preferencia especial 3-30 mg/ml en cada caso con respecto a la solución reconstituida).

Como surfactantes se pueden usar todos los surfactantes utilizados habitualmente en las preparaciones farmacéuticas, preferentemente, polisorbatos y polímeros de polioxietileno-polioxipropileno. Se prefieren especialmente el polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurato y el polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato. De acuerdo con la invención, en la preparación están contenidos del 0,001 al 1 % en peso, de preferencia, del 0,005 al 0,1 % en peso, y de preferencia especial, aproximadamente el 0,01 % en peso (en cada caso respecto de la solución reconstituida).

Siempre que en la preparación de la invención estén contenidos los buffers, pueden utilizarse a tal fin básicamente todas las sustancias de tolerancia fisiológica que son apropiadas para regular el valor del pH deseado. La cantidad

de sustancia amortiguadora se selecciona de modo tal que, luego de reconstituir la preparación liofilizada, p.ej. con agua para inyectables, la solución acuosa obtenida presenta una concentración de buffer de 5 mmol/l a 20 mmol/l, preferentemente, de aproximadamente 10 mmol/l. Como buffer se prefiere el buffer de citrato o el buffer de fosfato. Los buffers de fosfato adecuados son soluciones de las sales mono y/o disódicas y potásicas del ácido fosfórico, como fosfato ácido disódico o fosfato diácido de potasio, así como mezclas de sales de sodio y potasio como, p.ej., mezclas de fosfato ácido disódico y fosfato diácido de potasio.

Siempre que, por las propiedades osmóticas del anti-cuerpo y los excipientes aplicados para la estabilización, la solución reconstituida ya no sea isotónica, puede estar contenido en una concentración necesaria para la isotonización un agente isotónico, preferentemente una sal fisiológica como, p.ej., cloruro de sodio o de potasio, o un polímero de tolerancia fisiológica como, p.ej., glucosa o glicerina.

Más allá de ello, los liofilizados de la invención pueden contener otros excipientes de tolerancia fisiológica como, por ejemplo, antioxidantes como ácido ascórbico o glutatión, conservantes como fenol, m-cresol, metil o propilparabeno, clorobutanol, tiomersal o cloruro de benzalconio, polietilenglicoles (PEG) como PEG 3000, 3350, 4000 ó 6000, ciclodextrinas como hidroxipropil-β-ciclodextrina, sulfobu-

86
57

tiletil- β -ciclodextrina o γ -ciclodextrina.

La preparación de la invención puede obtenerse produciendo una preparación acuosa con contenido de Cetuximab[®] EMD 72000 como principio activo y un azúcar o aminoazúcar, un aminoácido y surfactante como aditivos, así como, opcionalmente, otros excipientes farmacéuticos, y liofilizando posteriormente la solución.

La preparación acuosa puede obtenerse agregando a una solución que contiene Cetuximab[®] o EMD 72000 los excipientes mencionados. Convenientemente, para ello se mezcla una solución con una concentración definida de Cetuximab[®] o EMD 72000, tal como se obtiene en su preparación, con volúmenes definidos de soluciones madre, que contienen los demás excipientes mencionados en una concentración definida, y opcionalmente se diluye con agua hasta la concentración previamente calculada. De modo alternativo, los excipientes también pueden agregarse como sustancias sólidas a la solución inicial con contenido de Cetuximab[®]. Si el Cetuximab[®] EMD 72000 están presentes como sustancia sólida, por ejemplo como liofilizado, la preparación de la invención puede obtenerse disolviendo el correspondiente anticuerpo primer en agua o una solución acuosa que contiene uno o varios de los demás excipientes y posteriormente mezclando con las cantidades necesarias en cada caso de soluciones madre con contenido de otros excipientes, con los demás excipientes en for-

ma sólida y/o agua. Es conveniente disolver Cetuximab[®] EMD 72000 directamente en una solución que contenga todos los demás excipientes. Ventajosamente puede agregarse uno o varios excipientes contenidos en la preparación de la invención ya durante o al final del procedimiento de preparación del correspondiente anticuerpo EGFR. Esto puede producirse disolviendo Cetuximab[®] o EMD 72000 en el último paso de la purificación posterior a su preparación en forma directa en una solución acuosa que contenga uno, varios o todos los demás excipientes. Entonces, para obtener la preparación deben agregarse los correspondientes excipientes en una pequeña cantidad o directamente no agregarse. Se prefiere especialmente cuando el ingrediente correspondiente se disuelve en el último paso de la purificación siguiente a su preparación en una solución acuosa que contiene todos los demás excipientes, de modo que se obtiene directamente la solución a liofilizar. La solución que contiene el correspondiente anticuerpo y los excipientes se regula a un valor pH de 5 a 8, se filtra en forma estéril y se liofiliza.

Los ejemplos comentan la invención, pero sin quedar limitados a ellos.

Siempre que se utilizaron 10 mmol/l de buffer de fosfato de sodio o de potasio, pH 7,2, éste contenía 2,07 g/l de fosfato ácido disódico-7-hidrato y 0,31 g/l de fosfato ácido sódico-monohidrato o 1,220 g/l de fosfato ácido dipotásico.

sico y 0,4050 g/l de fosfato diácido de potasio.

Ejemplo 1

Liofilizado de solución acuosa que contiene:

10 mg/ml de EMD 72000

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

17 mmol/l de arginina

3 % en peso de sacarosa

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurato

0,4 % en peso de PEG 6000

La preparación se realizó por mezcla de volúmenes definidos de soluciones acuosas que contienen los correspondientes excipientes en una concentración definida. Se utilizaron las siguientes soluciones:

Solución A (solución con principio activo) con contenido de:

20 mg/ml de EMD 72000

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

Solución B (solución buffer/salina):

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

6 % en peso de sacarosa

0,02 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurato

34 mmol/l de arginina

0,8 % en peso de polietilenoglicol 6000

Para obtener la preparación de la invención se combinaron iguales volúmenes de solución A y de solución B.

La solución preparada se filtró en forma estéril antes

60²⁴ 68
f

del envasado. Los frascos-ampolla se rellenaron con 2 ml de solución cada uno. Luego los frascos-ampolla se cerraron parcialmente con tapones y se liofilizaron. Tras realizar la liofilización, los frascos-ampolla se cerraron herméticamente y se rebordearon.

Ejemplo 2

Liofilizado de solución acuosa que contiene:

10 mg/ml de EMD 72000

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

14 mmol/l de arginina

3 % en peso de sacarosa

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurato

La preparación se realizó por mezcla de volúmenes definidos de soluciones acuosas que contienen los correspondientes excipientes en una concentración definida. Se utilizaron las siguientes soluciones:

Solución A (solución con principio activo) con contenido de:

20 mg/ml de EMD 72000

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

Solución B (solución buffer/salina):

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

6 % en peso de sacarosa

0,02 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurato

34 mmol/l de arginina

Para obtener la preparación de la invención se combina-

ron iguales volúmenes de solución A y de solución B.

La solución preparada se filtró en forma estéril antes del envasado. Los frascos-ampolla se llenaron con 20 ml de solución cada uno. Luego, los frascos-ampolla se cerraron parcialmente con tapones y se liofilizaron. Tras finalizar la liofilización, los frascos-ampolla se cerraron herméticamente y se rebordearon.

Ejemplo 3

Liofilizado de solución acuosa que contiene:

15 mg/ml de Cetuximab[®]

5 mmol/l de citrato

100 mmol/l de arginina

4 % en peso de manitol

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato

La preparación se realizó por mezcla de volúmenes definidos de soluciones acuosas que contienen los correspondientes excipientes en una concentración definida.

Se utilizaron las siguientes soluciones:

Solución A (solución con principio activo) con contenido de:

19 mg/ml de Cetuximab[®]

5 mmol/l de citrato

127 mmol/l de arginina

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato

Solución B (solución buffer/salina):

5 mmol/l de citrato

16
62

19,05 % en peso de manitol

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato

Para obtener la preparación de la invención se combinaron 7,9 ml de la solución A y 2,1 ml de la solución B.

La solución preparada se filtró con un filtro estéril antes del envasado. Los frascos-ampolla se llenaron por medio de una pipeta con 2 ml de solución cada uno. Luego, los frascos-ampolla se cerraron parcialmente con tapones y se liofilizaron. Tras finalizar la liofilización, los frascos-ampolla se cerraron herméticamente y se rebordearon.

Ejemplo 4

Liofilizado de solución acuosa que contiene:

15 mg/ml de Cetuximab[®]

5 mmol/l de citrato

100 mmol/l de arginina

1,5 % en peso de sacarosa

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato

La preparación se realizó por mezcla de volúmenes definidos de soluciones acuosas que contienen los correspondientes excipientes en una concentración definida. Se utilizaron las siguientes soluciones:

Solución A (solución con principio activo) con contenido de:

19 mg/ml de Cetuximab[®]

5 mmol/l de citrato

127 mmol/l de arginina

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato

Solución B (solución buffer/salina):

5 mmol/l de citrato

7,1 % de sacarosa

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato

Para obtener la preparación de la invención se combinaron 7,9 ml de la solución A y 2,1 ml de la solución B.

La solución preparada se filtró con un filtro estéril antes del envasado. Los frascos-ampolla se llenaron por medio de una pipeta con 2 ml de solución cada uno. Luego, los frascos-ampolla se cerraron parcialmente con tapones y se liofilizaron. Tras finalizar la liofilización, los frascos-ampolla se cerraron herméticamente y se rebordearon.

Ejemplo 5

Liofilizado de solución acuosa que contiene:

15 mg/ml de Cetuximab[®]

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

14 mmol/l de clorhidrato de L-arginina

88 mmol/l de sacarosa

0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurato

ajustar ad pH 7,5 con ácido fosfórico

La preparación se realizó por mezcla de volúmenes definidos de soluciones acuosas que contienen los correspondientes excipientes en una concentración definida. Se utilizaron las siguientes soluciones:

18 4
64

Solución A (solución con principio activo) con contenido de:

25 mg/ml de Cetuximab[®]

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

Agua para inyectables

Solución B (solución buffer/salina):

10 mmol/l de buffer de fosfato de potasio pH 7,2

35,6 mmol/l de clorhidrato de L-arginina

219 mmol/l de sacarosa

0,025 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurat

regular ad pH 7,5 con ácido fosfórico

Para obtener la preparación de la invención se combinaron 6 ml solución A y 4 ml de la solución B.

La solución preparada se filtró con un filtro estéril antes del envasado. Los frascos-ampolla se llenaron por medio de una pipeta con 2 ml de solución cada uno. Luego, los frascos-ampolla se cerraron parcialmente con tapones y se liofilizaron. Tras finalizar la liofilización, los frascos-ampolla se cerraron herméticamente y se rebordearon.

Ejemplo 6 (preparación de comparación 1)

Solución acuosa que contiene:

5 mg/ml de Cetuximab[®]

10 mmol/l de buffer de fosfato de sodio pH 7,2

145 mmol/l de cloruro de sodio

La preparación se realizó por mezcla de volúmenes definidos de soluciones acuosas que contienen los correspondien-

tes excipientes en una concentración definida. Se utilizaron las siguientes soluciones:

Solución A (solución con principio activo) con contenido de:
 10 mg/ml de Cetuximab[•]
 10 mmol/l de buffer de fosfato de sodio pH 7,2
 145 mmol/l de cloruro de sodio.

(Se obtuvo la solución eluyendo de la columna el principio activo en el último paso de la purificación del principio activo por cromatografía posterior a su preparación con la solución B.)

Solución B (solución buffer/salina):
 es equivalente a la solución A, pero no contiene principios activos.

Para obtener la preparación de comparación, se combinaron 10 ml de la solución A y 10 ml de la solución B.

Ejemplo 7 (preparación de comparación 2)

Solución acuosa que contiene:
 5 mg/ml de Cetuximab[•]
 10 mmol/l de buffer de fosfato de sodio pH 7,2
 45 mmol/l de cloruro de sodio
 0,01 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonocoleat .

La preparación se realizó por mezcla de volúmenes definidos de soluciones acuosas que contienen los correspondientes excipientes en una concentración definida.

Se utilizaron las siguientes soluciones:

20
66

solución A (solución con principio activo) que contiene:

9,7 mg/ml de Cetuximab[®]

10 mmol/l de buffer de fosfato de sodio pH 7,2

145 mmol/l de cloruro de sodio.

(Se obtuvo la solución eluyendo de la columna el principio activo en el último paso de la purificación del principio activo por cromatografía posterior a su preparación con la solución B.)

Solución B (solución buffer/salina):

es equivalente a la solución A, pero no contiene principio activo.

solución C (solución de éster de ácido graso de polioxietilensorbitano): es equivalente a la solución B, pero contiene adicionalmente el 1 % en peso de polioxietilen(20)-sorbitanmonooleato.

Para obtener la preparación de la invención se combinaron 10 ml de solución A, 9,8 ml de solución B y 0,2 ml de solución C.

La solución preparada se filtró con un filtro estéril antes de su envasado. Los frascos-ampolla se llenaron por medio de una pipeta con 2 ml de solución cada uno. Posteriormente, los frascos-ampolla se cerraron herméticamente con tapones y se rebordearon.

Ensayos de estabilidad de las preparaciones

Se ensayó la estabilidad de las preparaciones de la in-

vención de los ejemplos 1 y 2 en pruebas de estrés. Para ello se almacenaron los liofilizados preparados a 40° C y a una humedad relativa ambiente (h.r.) del 75 %. Las preparaciones se retiraron del depósito en momentos determinados y se ensayaron con métodos analíticos apropiados. Las posibles inestabilidades se manifiestan en los anticuerpos preferentemente en la formación de agregados, como también en la formación de productos de degradación. Los productos de degradación se detectan preferentemente por electroforesis en gel (electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y enfoque isoeléctrico (IEF)), mientras que la inspección visual y las mediciones de la turbidez sirven para comprobar los agregados visibles, y la cromatografía por exclusión de tamaño (HPLC-SEC) sirve para comprobar los agregados solubles. El test de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) utilizado también para evaluar las preparaciones sirve para verificar la integridad y la capacidad de unión con el receptor.

Los resultados de las tablas 1 y 2 documentan claramente la calidad y la estabilidad de las preparaciones obtenidas también a grandes temperaturas de almacenamiento y una mayor humedad relativa ambiente (40° C / 75 % h.r.).

22 68

Duración de almacena- miento (me- ses)	valor pH	ELISA (tit. rel.)	SDS-PAGE [% monómero IG]		SE-HPLC
			no re- ductor	reductor	
Temperatura 2 - 8° C					
0	7,11	1,00	100	100	100
6	7,14	1,01	99,3	100	99,6
12	7,15	1,04	99,9	99,1	99,7
24	7,16	1,03	100	100	100
Temperatura 25° C, 60 % de humedad rel. ambiente					
6	7,17	1,03	99,1	99,0	99,5
12	7,15	1,01	98,7	99,1	99,6
24	7,16	1,03	100	100	99,5
Temperatura 40° C, 75 % de humedad rel. ambiente					
6	7,17	1,10	98,8	98,2	99,3
12	7,15	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
24	7,16	0,98	100	100	99,3

Tabla 1: Estabilidad de la preparación de acuerdo c n el ejemplo 1

Duración de almace- namiento (meses)	valor pH	ELISA (tit. rel.)	SDS-PAGE [% monómero IG]		SE-HPLC
			no re- ductor	reductor	
Temperatura 2 - 8° C					
0	7,20	0,97	100	100	99,33
13	7,23	1,00	n. d.	n. d.	99,24
26	7,21	1,02	99,47	99,57	99,27
Temperatura 25° C, 60 % de humedad rel. ambiente					

13	7,24	1,05	n. d.	n. d.	99,22
26	7,24	0,97	99,47	99,64	99,21
Temperatura 40° C, 75 % de humedad rel. ambiente					
13	7,23	1,04	n. d.	n. d.	99,08
26	7,25	0,97	99,61	99,62	98,85

Tabla 2: Estabilidad de la preparación de acuerdo con el ejemplo 2

La estabilidad de las preparaciones de la invención de los ejemplos 3 a 7 también fue ensayada en pruebas de estrés. Para ello se almacenaron frascos-ampolla que contenían la solución según el ejemplo 3-5 así como -para fines comparativos- frascos-ampolla que contenían la solución según el ejemplo 6-7 a 25°C y 60 % de humedad relativa ambiente y 40°C y 75 % de h.r. Antes de almacenar, así como luego de períodos de almacenamiento definidos se evaluaron 3 frascos-ampolla en forma visual por radiación directa con una fuente de luz fría y se determinó la absorción de las soluciones a 350 y 550 nm, lo cual representa una medida para la turbidez. Además se extrajeron 3 frascos-ampolla y se ensayaron en cuanto al contenido de Cetuximab[®] y los productos de descomposición por medio de HPLC de filtración en gel.

Los ensayos cromatográficos de HPLC se realizaron con gradientes de acetonitrilo / agua 95/5 (V/V) (B) y solución buffer pH 2,5 / acetonitrilo 95/5 (V/V) (A) como eluyentes. Columna: LiChroCHART[®] cartucho HPLC 125-2; Superspher[®] 60 RP-select B, flujo: 0,3 ml/min, detección a 210 nm.

Los resultados de los ensayos de la estabilidad están representados en la tabla 3.

Solu- ción de ensayo	Almacena- miento 40°C/75 de h.r. [semanas]	Cetu- aximab [%]	Agre- ga- dos [%]	Produc- tos de descom- posición [%]	Turbidez a $\lambda=350$ nm	Turbidez a $\lambda=500$ nm	Evalua- ción vi- sual
Ej. 3	0	99,30	0,20	0,51	0,0211	0,0055	clara
Ej. 3	4	99,04	0,62	0,34	0,0214	0,0029	clara
Ej. 3	8	98,54	1,12	0,34	0,0224	0,0020	clara
Ej. 3	13	98,43	1,18	0,40	0,0246	0,0019	clara
Ej. 4	0	99,33	0,19	0,48	0,0198	0,0045	clara
Ej. 4	4	99,11	0,40	0,50	0,0174	0,0025	clara
Ej. 4	8	99,19	0,44	0,38	0,0181	0,0021	clara
Ej. 4	13	99,20	0,45	0,36	0,0172	0,0014	clara
Ej. 5	0	99,58	0,19	0,04	0,0195	0,0050	clara
Ej. 5	4	99,51	0,24	0,25	0,0165	0,0028	clara
Ej. 5	8	99,56	0,22	0,22	0,0156	0,0023	clara
Ej. 5	13	99,52	0,28	0,20	0,0187	0,0045	clara
Ej. 6	0	99,69	0,62	0,15	0,0130	0,0021	clara
Ej. 6	4	92,00	0,84	7,38	0,0232	0,0047	turbia
Ej. 6	8	89,94	1,39	8,68	0,0338	0,0044	turbia
Ej. 6	13	86,66	3,26	10,11	0,0403	0,0061	turbia
Ej. 7	0	99,72	0,17	0,11	0,0128	0,016	clara
Ej. 7	4	98,60	0,56	0,84	0,0200	0,0022	clara
Ej. 7	8	96,49	2,21	1,32	0,0280	0,0033	clara
Ej. 7	13	86,46	4,84	8,73	0,0382	0,0036	turbia

Tabla 3

Las figuras 1 a 5 muestran en comparación los resultados de distintos ensayos de estabilidad de la preparación de la invención según el ejemplo 4 frente a las formulaciones comparativas 1 y 2 luego de períodos de almacenamiento definidos a 40° C y 75 % de humedad relativa ambiente. La preparación liofilizada según el ejemplo 4 se reconstituyó, antes de realizar el análisis con agua para inyectables, en una solución acuosa con la triple cantidad de agua en comparación con la solución inicial que se utilizó para obtener la preparación liofilizada por liofilización.

La figura 1 muestra la reducción del contenido de principio activo en las formulaciones comparativas 1 y 2 frente a la preparación de la invención según el ejemplo 4, medida como contenido de monómero en HPLC-SEC.

La figura 2 muestra el aumento de productos de degradación en las formulaciones comparativas 1 y 2 frente a la preparación de la invención según el ejemplo 4, medida en HPLC-SEC.

La figura 3 muestra el aumento de agregados en las formulaciones comparativas 1 y 2 frente a la preparación de la invención según el ejemplo 4, medida en HPLC-SEC.

La figura 4 muestra el aumento de la densidad óptica a $\lambda = 350$ nm en las formulaciones comparativas 1 y 2 frente a la preparación de la invención según el ejemplo 4.

91
25
72

La figura 5 muestra el aumento de la densidad óptica a $\lambda = 550$ nm en las formulaciones comparativas 1 y 2 frente a la preparación de la invención según el ejemplo 4.

Los resultados muestran claramente que las composiciones de la invención presentan una estabilidad claramente mayor frente a las soluciones comparativas líquidas.

REIVINDICACIONES

1. Preparación farmacéutica liofilizada de anticuerpos mono o policlonales, que contiene un azúcar o un aminoazúcar, un aminoácido y un surfactante, caracterizada porque el anticuerpo es un anticuerpo dirigido contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (receptor EGF).

2. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque el anticuerp es Cetuximab[®] o EMD 72000, o uno de los análogos de anticuerpos murinos, humanizados o quiméricos correspondientes.

3. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizada porque el anticuerp es Cetuximab[®] o EMD 72000.

4. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerd con una o varias de las reivindicaciones 1 a 3, esencialmente compuesta de un anticuerpo, un azúcar o aminoazúcar, un aminoácido, un buffer y un surfactante.

5. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque el azúcar es un mono, di o trisacárido, preferentemente, sacarosa, maltosa o trehalosa.

6. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerd con una o varias de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque el aminoazúcar es glucosamina, N-metilglucosamina, galactosamina o ácido neuramínico.

7. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada porque el aminoácido es un aminoácido básico, ácido neutro, preferentemente, arginina, lisina u ornitina.

8. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada porque el surfactante es un polisorbato o un polímero de polioxietileno-polioxipropileno.

9. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizada porque el surfactante es éster de ácido graso de polioxietilensorbitano, polioxietilen(20)sorbitanmonooleato o polioxietilen(20)-sorbitanmonolaurato.

10. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada porque además está contenido un agente isotónico en una concentración necesaria para la isotonización.

11. Preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizada porque está contenido cloruro de sodio como agente isotónico.

12. Preparación farmacéutica acuosa de anticuerpos mono o policlonales que se obtiene por reconstitución del liofilizado de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 11 con un solvente acuoso.

13. Preparación farmacéutica acuosa de acuerdo con la

reivindicación 12, caracterizada porque la solución presenta un valor pH de 5 - 8, preferentemente, de 6 - 7,4.

14. Preparación farmacéutica acuosa de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizada porque la solución presenta un valor pH de aproximadamente 7,2.

15. Procedimiento para obtener una preparación farmacéutica liofilizada de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada porque se obtiene una preparación acuosa que contiene Cetuximab[®] o EMD 72000 como principio activo y un azúcar o aminoazúcar, un aminoácido y un surfactante como aditivos, así como opcionalmente tres excipientes farmacéuticos, y posteriormente se liofiliza la solución.

RESUMEN

La invención se refiere a una preparación farmacéutica liofilizada que contiene un anticuerpo contra el receptor del factor de crecimiento endotelial (receptor EGF). La preparación presenta una mayor estabilidad al almacenamiento incluso a altas temperaturas y puede utilizarse en forma parenteral para el tratamiento de tumores luego de su reconstitución.

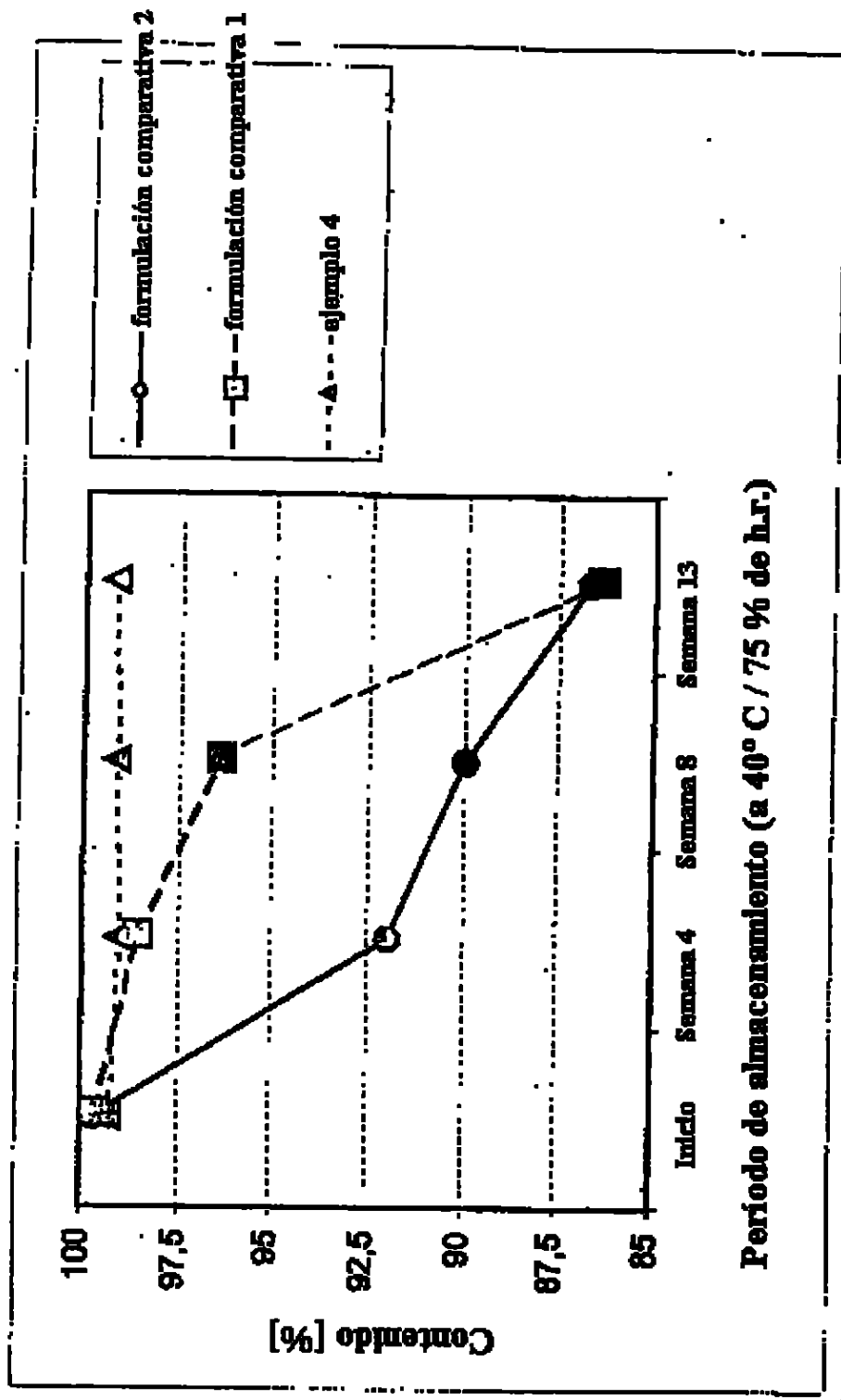


Figura 1: Reducción del contenido de principio activo al almacenar diversas formulaciones con Cetudimab® (SEC-HPLC).

37

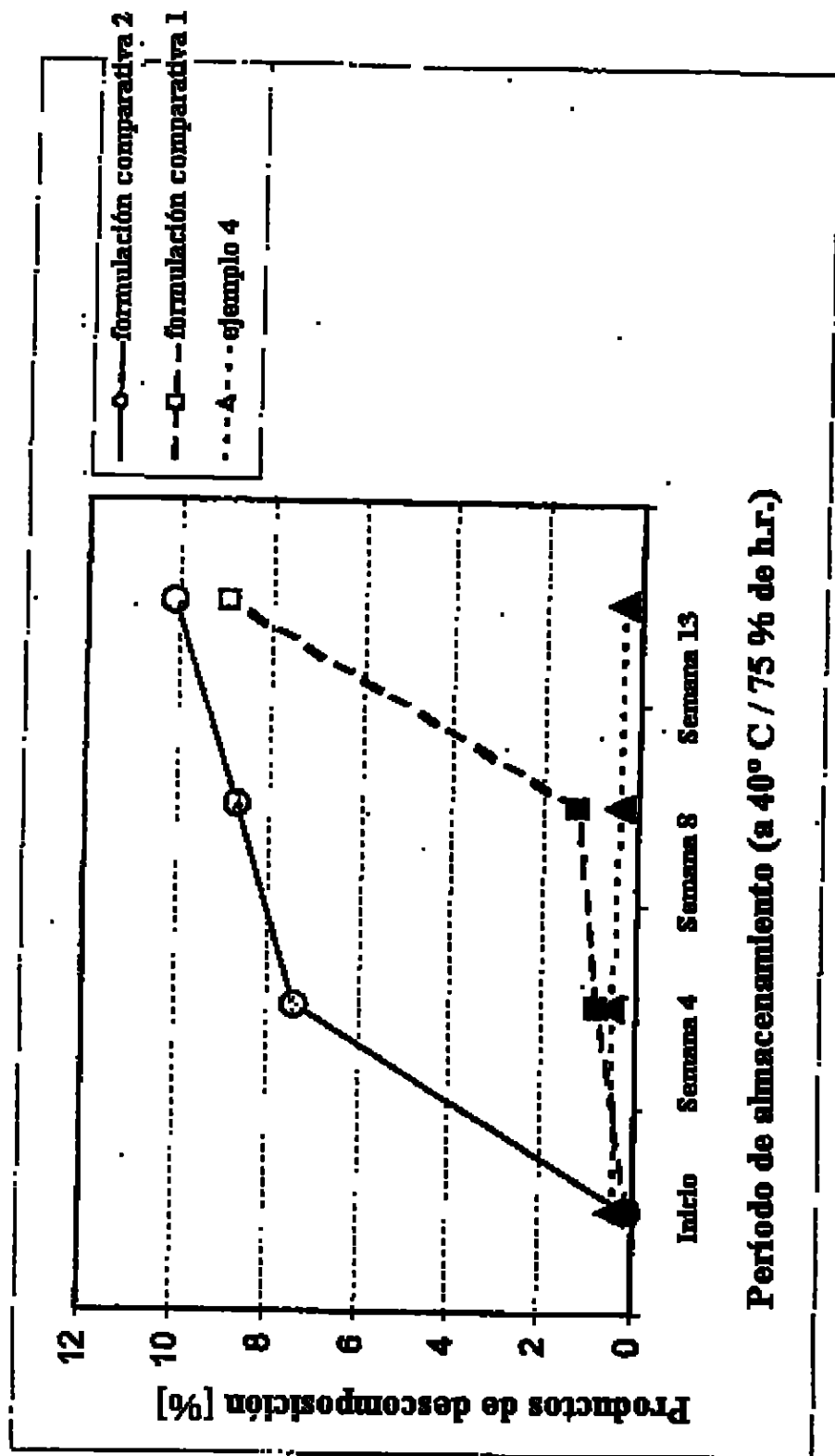


Figura 2: Aumento de productos de degradación al almacenar diversas formulaciones con Cetuximab® (SEC-HPLC).

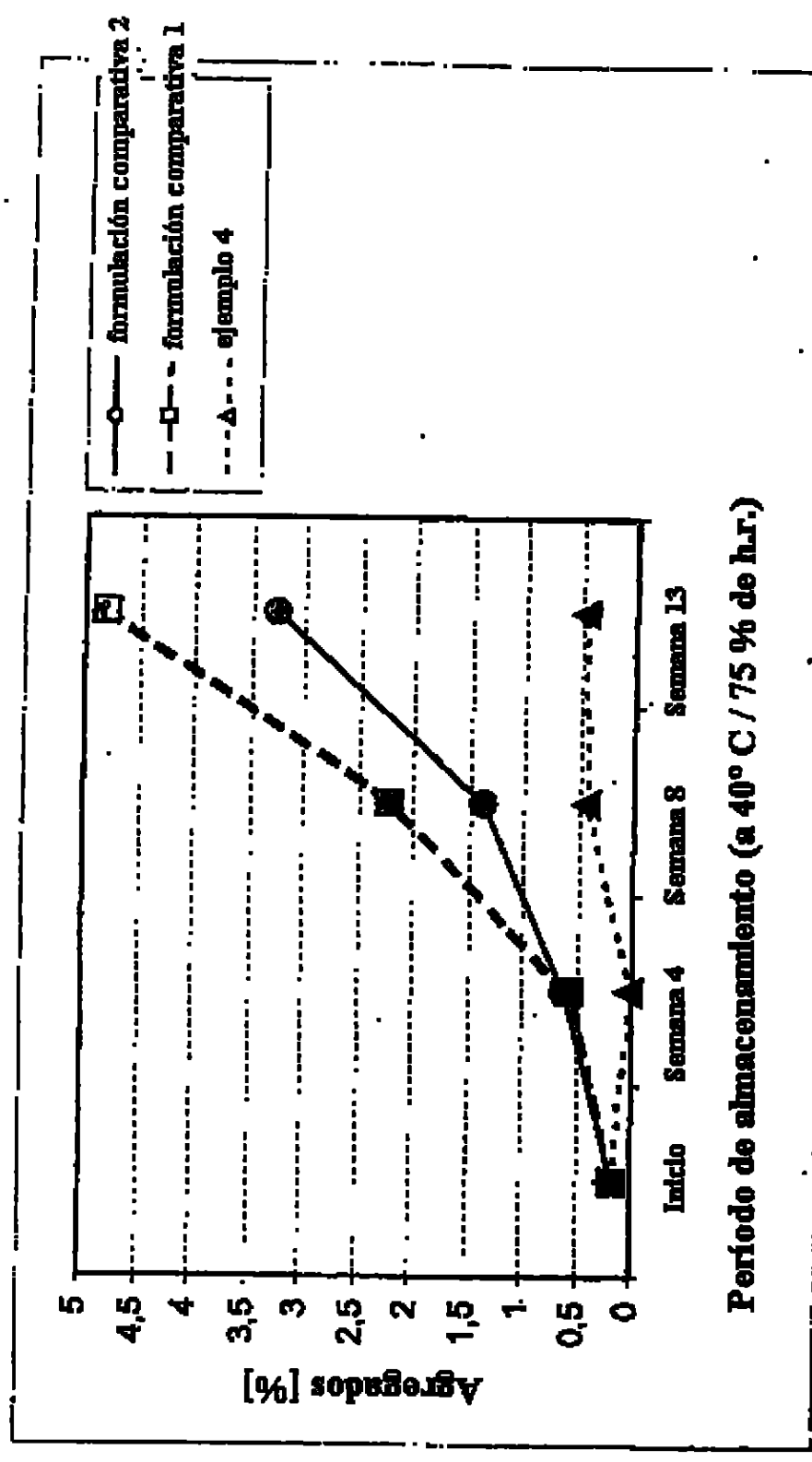


Figura 3: Aumento de agregados al almacenar diversas formulaciones con Cetudimab® (SEC-HPLC).

81

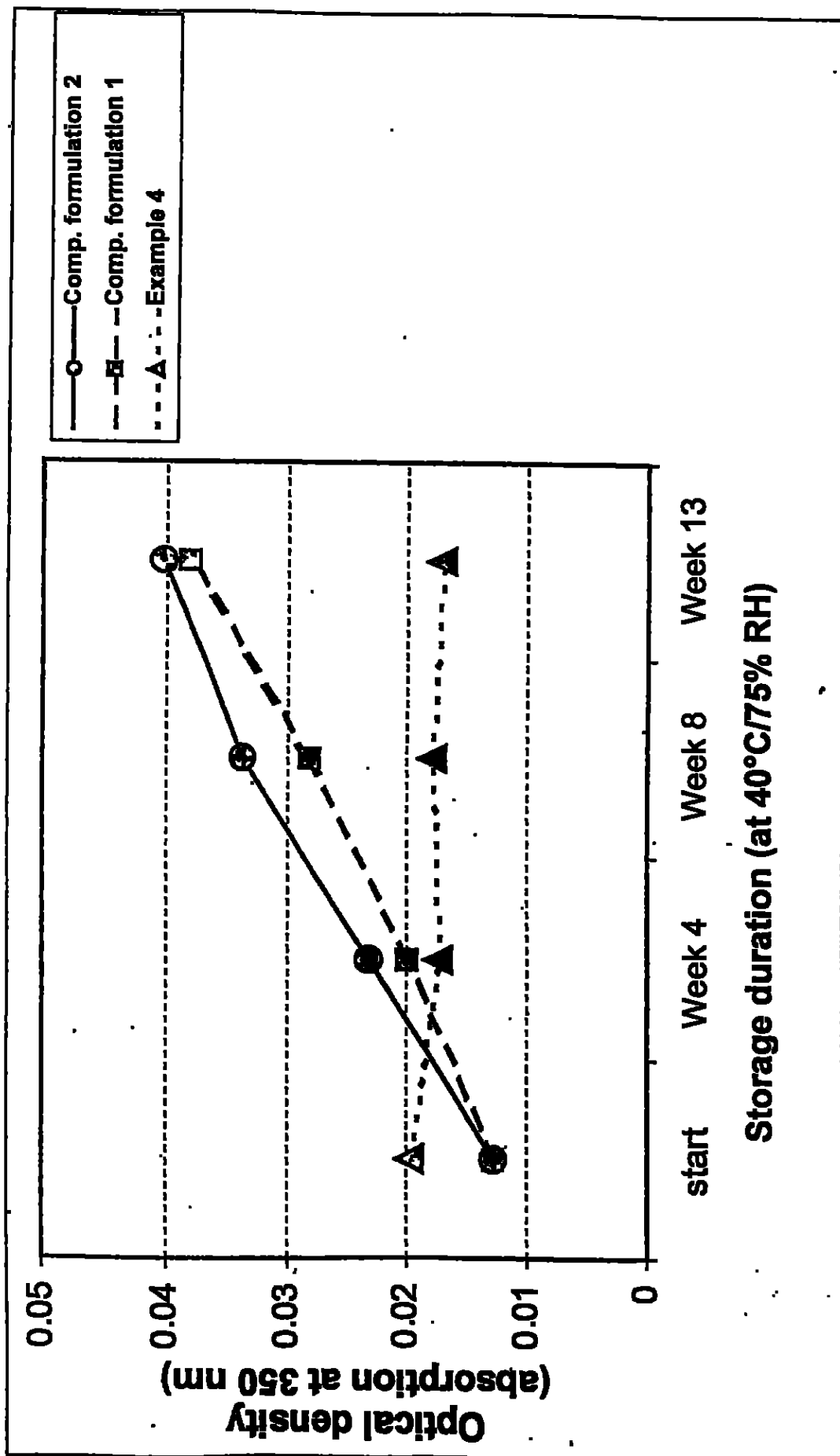


Fig. 4: Increase in turbidity on storage of various formulations with Cetuximab® (measured at 350 nm (A350))

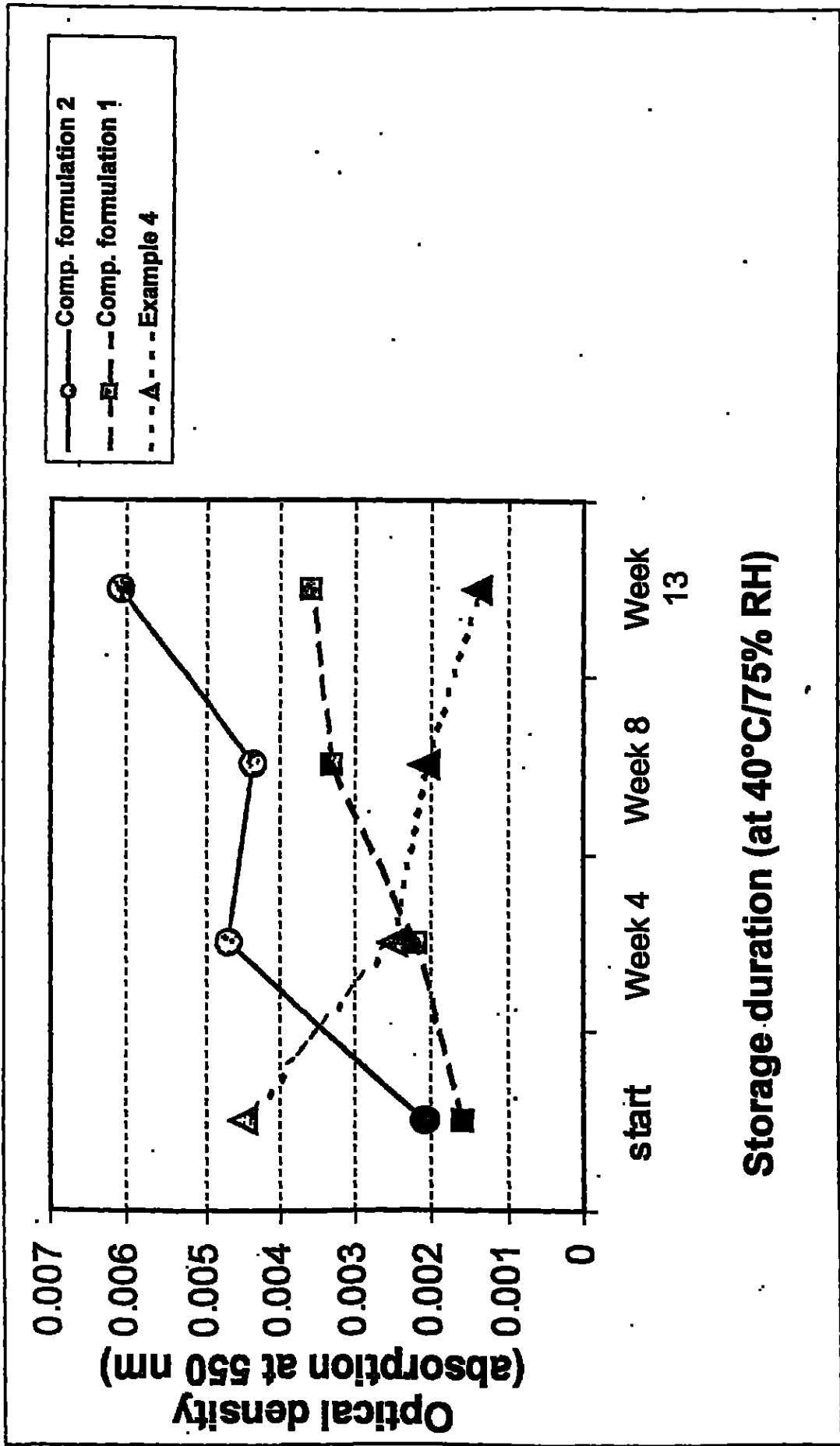


Fig. 5: Increase in turbidity on storage of various formulations with Cetuximab® (measured at 550 nm (A550))

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 101D193-1ggs	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 02/13223	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 25/11/2002	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 21/12/2001
Anmelder MERCK PATENT GMBH		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerisierbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerisierbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerisierbarer Form erteilten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

Feld III

WORTLAUT DER ZUSAMMENFASSUNG (Fortsetzung von Punkt 6 auf Blatt 1)

Die Erfindung betrifft eine lyophilisierte pharmazeutische Zubereitung enthaltend einen Antikörper gegen den Rezeptor des epidermalen Wachstumsfaktors (EGF-Rezeptor). Die Zubereitung weist eine erhöhte Lagerstabilität auch bei erhöhten Temperaturen auf und kann nach Rekonstitution parenteral zur Behandlung von Tumoren verwendet werden.

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K39/395 A61K47/18 A61K47/26 A61K47/34 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 98 22136 A (KLESSEN CHRISTIAN ;WOOG HEINRICH (DE); KALLMEYER GEORG (DE); WINTE) 28. Mai 1998 (1998-05-28) in der Anmeldung erwähnt Seite 10, Zeile 21 - Zeile 30; Ansprüche Seite 12, Absatz 1	1-15
Y	A.A. MORALES MORALES ET AL.: "Freeze-dried formulation for direct 99mTc-labeling for-egf/r3 Mab: Additives, biodistribution, and stability." NUCLEAR MEDICINE & BIOLOGY, Bd. 26, Nr. 6, August 1999 (1999-08), Seiten 717-723, XP002252112 das ganze Dokument	1-15

-/-

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung: die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nützlich ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

22. August 2003

Abschließdatum des internationalen Recherchenberichts

08/09/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3018

Bevollmächtigter Beauftragter

Ryckebosch, A

80
85

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	J. BASELGA : "The EGFR as a target for anticancer therapy-focus on cetuximab" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, Bd. 37, Nr. Suppl. 4, September 2001 (2001-09), Seiten S16-S22, XP004307911 ISSN: 0959-8049 Seite S16, Zusammenfassung ---	1-15
Y	H. BIER ET AL.: "Anti-(epidermal growth factor) receptor monoclonal antibodies for the induction of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity against squamous cell carcinoma lines of the head and neck." CANCER IMMUNOLOGY IMMUNOTHERAPY, Bd. 46, Nr. 3, Mai 1998 (1998-05), Seiten 167-173, XP002252113 in der Anmeldung erwähnt Seite 167, Zusammenfassung -----	1-15

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/13223

89
86

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9822136	A	28-05-1998	EP	0852951 A1	15-07-1998
			AU	735411 B2	05-07-2001
			AU	5484198 A	10-06-1998
			BR	9713521 A	21-03-2000
			CN	1244805 A	16-02-2000
			WO	9822136 A2	28-05-1998
			EP	0941121 A2	15-09-1999
			JP	2001503781 T	21-03-2001
			KR	2000053328 A	25-08-2000
			TR	9901696 T2	21-09-1999
			ZA	9710409 A	19-05-1999

PCT

ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

PCT/EP 0 2 / 1 3 2 2 3
Internationales Aktenzeichen25 NOV 2002 (25.11.2002)
Internationales AnmeldedatumEUROPEAN PATENT OFFICE
PCT INTERNATIONAL APPLICATION

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 17 Zeichen) 101D193-1ggs

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Lyophilisierte Zubereitung enthaltend Antikörper gegen den EGF-Rezeptor

Feld Nr. II ANMELDER

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Merck Patent GmbH
Frankfurter Strasse 250
64293 Darmstadt
DE

Telefonnr.:
0 61 51/72-33 28Telefaxnr.:
0 61 51/72 71 91

Fernschreiber.:

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zustellfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

MAHLER Hanns-Christian
Buschungstrasse 54a
65205 Wiesbaden
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☒ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zustellfeld angegebenen Staaten☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☐ Anwalt ☒ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Merck Patent GmbH
Frankfurter Strasse 250
64293 Darmstadt
DE

Telefonnr.:
0 61 51/72-33 28Telefaxnr.:
0 61 51/72 71 91

Fernschreiber.:

Registrierungsnr. des Anwalts beim Amt:

☐ Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

87
88

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

ZOBEL, Hans-Peter
Bahnweg 5A
65439 Flörsheim
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☒ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnummer des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

MÜLLER, Robert
Rhönring 131
64289 Darmstadt
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☒ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnummer des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

BACHMANN, Christiane
Am Mattes 33
66773 Gladbach
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☒ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnummer des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

HAAS, Udo
Trinkbornstrasse 30
64293 Darmstadt
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder☒ Anmelder und Erfinder☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnummer des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER
Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats angegeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

KRÜGER, Ludwig
Ruhlandstrasse 75
63741 Aschaffenburg
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats angegeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

MARTINI-MARR, Ulrike
Im Schöffenhstuhl 8
64319 Pfungstadt
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats angegeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats angegeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Registrierungsnr. des Anmelders beim Amt:

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN Bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden.

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen:

Regionales Patent

- ☐ **AP** ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mosambik, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swasiland, TZ Vereinigte Republik Tansania, UG Uganda, ZM Sambia, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)
- ☐ **EA** Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ **EP** Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, BG Bulgarien, CH & LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, CZ Tschechische Republik, DE Deutschland, DK Dänemark, EE Estland, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden, SK Slowakei, TR Türkei und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ **OA** OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, GQ Äquatorialguinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | | |
|--|---|--|
| ☐ AE Vereinigte Arabische Emirate | ☐ GM Gambia | ☐ NZ Neuseeland |
| ☐ AG Antigua und Barbuda | ☐ HR Kroatien | ☐ OM Oman |
| ☐ AL Albanien | ☐ HU Ungarn | ☐ PH Philippinen |
| ☐ AM Armenien | ☐ ID Indonesien | ☐ PL Polen |
| ☐ AT Österreich | ☐ IL Israel | ☐ PT Portugal |
| ☐ AU Australien | ☐ IN Indien | ☐ RO Rumänien |
| ☐ AZ Aserbaidschan | ☐ IS Island | ☐ RU Russische Föderation |
| ☐ BA Bosnien-Herzegowina | ☐ JP Japan | |
| ☐ BB Barbados | ☐ KE Kenia | ☐ SD Sudan |
| ☐ BG Bulgarien | ☐ KG Kirgisistan | ☐ SE Schweden |
| ☐ BR Brasilien | ☐ KP Demokratische Volksrepublik Korea | ☐ SG Singapur |
| ☐ BY Belarus | ☐ KR Republik Korea | ☐ SI Slowenien |
| ☐ BZ Belize | ☐ KZ Kasachstan | ☐ SK Slowakei |
| ☐ CA Kanada | ☐ LC Saint Lucia | ☐ SL Sierra Leone |
| ☐ CH & LI Schweiz und Liechtenstein | ☐ LK Sri Lanka | ☐ TJ Tadschikistan |
| ☐ CN China | ☐ LR Liberia | ☐ TM Turkmenistan |
| ☐ CO Kolumbien | ☐ LS Lesotho | ☐ TN Tunesien |
| ☐ CR Costa Rica | ☐ LT Litauen | ☐ TR Türkei |
| ☐ CU Kuba | ☐ LU Luxemburg | ☐ TT Trinidad und Tobago |
| ☐ CZ Tschechische Republik | ☐ LV Lettland | |
| ☐ DE Deutschland | ☐ MA Marokko | ☐ TZ Vereinigte Republik Tansania |
| ☐ DK Dänemark | ☐ MD Republik Moldau | ☐ UA Ukraine |
| ☐ DM Dominica | | ☐ UG Uganda |
| ☐ DZ Algerien | ☐ MG Madagaskar | ☐ US Vereinigte Staaten von Amerika |
| ☐ EC Ecuador | ☐ MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | |
| ☐ EE Estland | ☐ MN Mongolei | ☐ UZ Usbekistan |
| ☐ ES Spanien | ☐ MW Malawi | ☐ VN Vietnam |
| ☐ FI Finnland | ☐ MX Mexiko | ☐ YU Jugoslawien |
| ☐ GB Vereinigtes Königreich | ☐ MZ Mosambik | ☐ ZA Südafrika |
| ☐ GD Grenada | ☐ NO Norwegen | ☐ ZM Sambia |
| ☐ GE Georgien | | ☐ ZW Simbabwe |
| ☐ GH Ghana | | |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten, die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind.

- | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| ☐ | ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ | ☐ |

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung (einschließlich der Gebühren) muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Zusatzfeld

Wird dieses Zusatzfeld nicht benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

1. Wenn der Platz in einem Feld nicht für alle Angaben ausreicht: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. ..." (Nummer des Feldes angeben) und machen die Angaben entsprechend der in dem Feld, in dem der Platz nicht ausreicht, vorgeschriebenen Art und Weise, insbesondere:
 - (i) Wenn mehr als zwei Anmelder und/oder Erfinder vorhanden sind und kein "Fortsetzungsblatt" zur Verfügung steht: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. III" und machen für jede weitere Person die in Feld Nr. III vorgeschriebenen Angaben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.
 - (ii) Wenn in Feld Nr. II oder III die Angabe "die im Zusatzfeld angegebenen Staaten" angekreuzt ist: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. II", "Fortsetzung von Feld Nr. III" bzw. "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" und geben den Namen des Anmelders oder die Namen der Anmelder an und neben jedem Namen den Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent), für die die bezeichnete Person Anmelder ist.
 - (iii) Wenn der in Feld Nr. II oder III genannte Erfinder oder Erfinder/Anmelder nicht für alle Bestimmungsstaaten oder für die Vereinigten Staaten von Amerika als Erfinder benannt ist: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. II", "Fortsetzung von Feld Nr. III" bzw. "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" und geben den Namen des Erfinders oder die Namen der Erfinder an und neben jedem Namen den Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent), für die die bezeichnete Person Erfinder ist.
 - (iv) Wenn zusätzlich zu dem Anwalt oder den Anwälten, die in Feld Nr. IV angegeben sind, weitere Anwälte bestellt sind: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. IV" und machen für jeden weiteren Anwalt die entsprechenden, in Feld Nr. IV vorgeschriebenen Angaben.
 - (v) Wenn in Feld Nr. V bei einem Staat (oder bei OAPI) die Angabe "Zusatzpatent" oder "Zusatzzertifikat" oder wenn in Feld Nr. V bei den Vereinigten Staaten von Amerika die Angabe "Fortsetzung" oder "Teilfortsetzung" hinzugefügt wird: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. V" und geben den Namen des betreffenden Staats (oder OAPI) an und nach dem Namen jedes solchen Staats (oder OAPI) das Aktenzeichen des Hauptschutzrechts oder der Hauptschutzrechtsanmeldung und das Datum der Erteilung des Hauptschutzrechts oder der Einreichung der Hauptschutzrechtsanmeldung.
 - (vi) Wenn in Feld Nr. VI die Priorität von mehr als fünf früheren Anmeldungen beansprucht wird: In diesem Fall schreiben Sie "Fortsetzung von Feld Nr. VI" und machen für jede weitere frühere Anmeldung die entsprechenden, in Feld Nr. VI vorgeschriebenen Angaben.
2. Wenn, im Hinblick auf die Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen in Feld Nr. V, der Anmelder Staaten von dieser Erklärung ausnehmen möchte: In diesem Fall schreiben Sie "Bestimmung(en), die von der Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen ausgenommen ist(sind)" und geben den Namen oder den Zweibuchstaben-Code jedes so ausgeschlossenen Staates an.

Feld Nr. X: Unterschrift des Anmelders, des Anwalts oder des gemeinsamen Vertreters:

Hans-Christian Mahler

Hanns-Christian Mahler

Hans-Peter Zobel

Hans-Peter Zobel

Robert Müller

Robert Müller

Christiane Bachmann

Christiane Bachmann

Udo Haas

Udo Haas

Ludwig Krüger

Ludwig Krüger

Ulrike Martini-Marr

Ulrike Martini-Marr

28
9/9
91

92

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH				
Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit in Anspruch genommen:				
Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		nationale Anmeldung: Staat oder Mitglied der WTO	regionale Anmeldung:* regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) 21. Dezember 2001 (21.12.2001)	101 63 459.5	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				
Zeile (4)				
Zeile (5)				

☐ Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.

Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist (sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist):

☐ sämtliche Zeilen ☐ Zeile (1) ☐ Zeile (2) ☐ Zeile (3) ☐ Zeile (4) ☐ Zeile (5) ☐ weitere, siehe Zusatzfeld

* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, geben Sie mindestens einen Staat an, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums oder Mitglied der Welthandelsorganisation ist und für den oder das die frühere Anmeldung eingereicht wurde:

Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE			
Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden):			
ISA /			
Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):			
Datum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Staat (oder regionales Amt)	

Feld Nr. VIII ERKLÄRUNGEN		
Die Felder Nr. VIII (i) bis (v) enthalten die folgenden Erklärungen (Kreuzen Sie unten die entsprechenden Kästchen an und geben Sie in der rechten Spalte für jede Erklärung deren Anzahl an):		Anzahl der Erklärungen
☐ Feld Nr. VIII (i)	Erklärung hinsichtlich der Identität des Erfinders	:
☐ Feld Nr. VIII (ii)	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, ein Patent zu beantragen und zu erhalten	:
☐ Feld Nr. VIII (iii)	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, die Priorität einer früheren Anmeldung zu beanspruchen	:
☐ Feld Nr. VIII (iv)	Erfindererklärung (nur im Hinblick auf die Bestimmung der Vereinigten Staaten von Amerika)	:
☐ Feld Nr. VIII (v)	Erklärung hinsichtlich unschädlicher Offenbarungen oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit	:

93

Feld Nr. IX KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE

Diese internationale Anmeldung enthält:

(a) die folgende Anzahl an Blättern Papier:

Antrag (inklusive Erklärungsblätter) : 7
 Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) : 23
 Ansprüche : 3
 Zusammenfassung : 1
 Zeichnungen : 5
 Teilanzahl : 39

Sequenzprotokollteil der Beschreibung (Anzahl der Blätter, soweit auf Papier eingereicht wird, unabhängig davon, ob zusätzlich auch in computerisierbarer Form eingereicht wird)

Gesamtanzahl : 39

(b) Sequenzprotokollteil der Beschreibung in computerisierbarer Form eingereicht

(i) ☐ ausschließlich in dieser Form (nach Abschnitt 801(a)(i))(ii) ☐ zusätzlich zur Einreichung auf Papier (nach Abschnitt 801(a)(ii))

Art und Anzahl der Datenträger (Diskette, CD-ROM, CD-R oder sonstige), auf denen der Sequenzprotokollteil enthalten ist (soweit eingereichte Kopien unter Punkt 9(ii) in der rechten Spalte angegeben):

Dieser internationalen Anmeldung liegen die folgenden Unterlagen bei (kreuzen Sie die entsprechenden Kästchen an und geben Sie in der rechten Spalte jeweils die Anzahl der beiliegenden Exemplare an)

1. ☒ Blatt für die Gebührenberechnung : 1
 2. ☐ Original einer gesonderten Vollmacht :
 3. ☐ Original einer allgemeinen Vollmacht :
 4. ☐ Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden): :
 5. ☐ Begründung für das Fehlen einer Unterschrift :
 6. ☒ Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer(n) gekennzeichnet : 1
 7. ☐ Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache: :
 8. ☐ Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material :
 9. ☐ Sequenzprotokoll in computerisierbarer Form (geben Sie zusätzlich die Art und Anzahl der beiliegenden Datenträger an (Diskette, CD-ROM, CD-R oder sonstige))
 (i) ☐ Kopie ausschließlich für die Zwecke der internationalen Recherche nach Regel 13ter (und nicht als Teil der internationalen Anmeldung) :
 (ii) ☐ (nur falls Feld (b)(i) oder (b)(ii) in der linken Spalte angekreuzt wurde) zusätzliche Kopien einschließlich, soweit zutreffend, einer Kopie für die Zwecke der internationalen Recherche nach Regel 13ter :
 (iii) ☐ zusammen mit entsprechender Erklärung, daß die Kopie(n) mit dem in der linken Spalte aufgeführten Sequenzprotokollteil identisch ist (sind) :
 10. ☒ Sonstige (stimmeln auflisten): Form 1031 : 1

Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):

Sprache, in der die internationale Anmeldung Deutsch eingereicht wird:

Feld Nr. X UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, DES ANWALTS ODER DES GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterschreibt.

Merck Patent GmbH

i.V.

Dr. Kahrs

i.V.

Dr. Lang

Vom Anmelder auszufüllen		2. Zeichnungen:	
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	25 NOV 2002 (25.11.02)	☒ eingegangen:	
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:		☐ nicht eingegangen:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:			
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /	6. ☐ Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben		

Vom Internationalen Büro auszufüllen
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:

1
92
94

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Folios: 95

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 47,574
FECHA : JUNIO 15 DE 2004

Radicacion : 04857364 00000000
Fecha (IMP): 2004-06-18 17:10:31
Tramite : 011 PET-PATENT 379 FASE MACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	24340347	13/06/2004	43,837,560.00

***** CONCEPTO *****

CANT. CONTABILISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
	TOTAL :	\$ 422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Colo 09266-841-010-0

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ☒	☒	☒
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	☒	☒
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	☒	☒
- Descripción de la invención.	☒	☒
- Dibujos de ser estos pertinentes.	☒	☒
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	☒	☒

COMPLETA ☒ **INCOMPLETA** ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	☐	☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	☐	☐
- Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	☐	☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	☐	☐

COMPLETA ☐ **INCOMPLETA** ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	☐	☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	☐	☐
- Representación gráfica del esquema de trazado	☐	☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	☐	☐

COMPLETA ☐ **INCOMPLETA** ☐

Firma Responsable:



Fecha:

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
EMILIO FERRERO.
Apoderado(a)

Oficio N°

60439

ASUNTO:	Radicación N°	04-57564
	Solicitud internacional	PCT/EP02/13223
	Fecha inicio fase nacional	21/07/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio N°	
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- La solicitud no contiene copia del documento en que consta la cesión del derecho de patente del inventor al solicitante o a su causante (Art. 26-k) Decisión 486).

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

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 la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha, 10 de agosto de 2004
202051