

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

ABOGADOS

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C

Tel: 6060700 Fax: 6060701

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 04-109443- 00006-0000

Fecha: 2008-06-16 16:33:42 Dep. 2020 NUECHLACIONI
Tra. 11 PATENTLIYII Eve: 379 FASLNACIONALII
Act. 444 RCPUESTAREQUE Folios: 34

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

*Colombia 31 de mayo
#PLC.*

Re: P1.-WYETH HOLDINGS CORPORATION.-Solicitud de Patente de
Invención en Fase Nacional PCT para "CONJUGADOS PORTADORES DE
DERIVADOS DE CALIQUEAMICINA".-Clase A61K 39/395.-
Expediente número 04-109.443.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista de 14 de Marzo de 2008.

2. Con el fin de dar respuesta a las objeciones expuestas por el señor Examinador en su Concepto Técnico número **518**, en relación con el requisito de claridad de las reivindicaciones, excepciones a la patentabilidad, reivindicaciones relativas a usos, y el requisito de Nivel Inventivo, me permito dirigir su atención a las siguientes modificaciones y argumentos técnicos, por medio de los cuales se superan completamente dichas objeciones.

3. **MODIFICACIONES VOLUNTARIAS**

Antes de entrar a analizar las objeciones del señor Examinador, quiero manifestar que, debidamente autorizado por el solicitante, procedo a efectuar las siguientes modificaciones voluntarias al capítulo descriptivo y reivindicatorio de la invención.

3.1 **MODIFICACIONES AL CAPÍTULO DESCRIPTIVO**

Hago notar al señor Examinador que con el fin de corregir dos errores involuntarios de carácter tipográfico presentes en el capítulo descriptivo, se han realizado las siguientes modificaciones:

- (i) En la página 39, línea 11, se ha modificado la citación del J. Mol. Biol., con el fin de corregir el número de la página citada incorrectamente como **250** a la página correcta **260**. Dicha modificación se sustenta mediante la revisión de la página del artículo correspondiente adjuntada como anexo 1 al presente memorial.

- (ii) En la página 78, línea 3, se ha modificado el término incorrecto "**CDR-H3 (gH5 y gH7)**" con el fin de remplazarlo por el término correcto "**CDR-H2 (gH6 y gH7)**". Esta modificación obedece a la corrección de un error involuntario de carácter tipográfico y encuentra adecuado sustento en la figura 6 de la presente solicitud, la cual muestra que el CDR-H2s de gH6 y gH7 incluye los tres residuos humanos adicionales al final.

Sobre este particular, quiero manifestar que, **ninguna de las modificaciones realizadas por el solicitante al capítulo descriptivo constituye una ampliación del objeto de protección inicialmente solicitado**. Por el contrario, obedecen a la corrección de dos errores involuntarios de carácter tipográfico que se encuentran plenamente sustentados en la solicitud bajo estudio.

3.2 **MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO**

Hago notar al señor Examinador que cuando la solicitud fue inicialmente presentada, los residuos en el dominio variable del anticuerpo, el cual está compuesto de una cadena pesada y una cadena liviana, fueron numerados usando un sistema de numeración tradicional creado por Kabat et al., publicado en 1987 en el libro "*Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services*", NIH, USA.

Respecto a este hecho, es bien conocido por la persona versada en la materia que la designación de residuos de Kabat, no siempre corresponde directamente con la numeración lineal de los residuos de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos. La secuencia lineal de aminoácidos puede contener menos o más aminoácidos que en la numeración estricta de Kabat, lo que corresponde a un acortamiento de, o a una inserción en, un componente estructural, ya sea en la estructura o una **región complementaria determinada (CDR)**, de la estructura de dominio variable básica.

Basado en este hecho, el solicitante considera conveniente reenumerar algunos residuos de aminoácidos del donador que fueron mantenidos en el anticuerpo, en ciertas reivindicaciones. Dicha reenumeración se encuentra plenamente sustentada en el capítulo descriptivo tal y como se expone a continuación.

- (i) **REIVINDICACIONES 50 Y 59:** Estas reivindicaciones corresponden a las nuevas reivindicaciones 25 y 29 respectivamente, tal y como se explica en el punto 7 del presente memorial. Estas reivindicaciones han sido modificadas de tal forma que ahora dicen que el residuo donador está en la posición 1, 28, 48, 72 y 97 en SEQ ID NO:8.

Dicha modificación está sustentada en el hecho de que:

Para injertar la cadena pesada, fue usada como estructura del aceptor la secuencia VHI-3, DP7 de la estructura germinal del sub-grupo I humano, la cual está presente en SEQ ID NO:21. La secuencia aceptor de estructura 4, fue derivada de la secuencia de línea germinal región-J humana JH4, la cual es presentada en SEQ ID NO:22.

La figura 6 proporciona una comparación de la cadena pesada de murina 5/44 con la secuencia de estructura del aceptor y muestra diferencias en la posición 22. Usando la misma estrategia para la cadena liviana descrita en la página 74, líneas 7-31, **fue hecho un análisis del potencial de los residuos de murina que contribuyen al enlace de antígeno, y cuando el residuo de murina fue considerado importante y suficientemente diferente del residuo humano, entonces ese residuo de murina fue mantenido.**

Nótese entonces que, en la figura 6, la secuencia dada por la cadena pesada gH1, gH4, gH5, gH6 y gH7 muestra que el residuo de murina E (ácido glutámico, Glu), R (arginina, Arg), I (isoleucina, Ile), A (alanina Ala), y T (treonina Thr) **en la posición 1, 28, 48, 72, y 97, respectivamente, las cuales fueron mantenidas.**

Así es claro que, **cuando se realiza una comparación de estos cinco aminoácidos con la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO:8, estos aminoácidos aparecen en la posición 1, 28, 48, 72 y 97 en SEQ ID NO:8, y son considerados el residuo del donador, tal y como se reivindica en las nuevas reivindicaciones 25 y 59.**

- (ii) **REIVINDICACIÓN 51:** Esta reivindicación corresponde a las nuevas reivindicaciones 26 y 60 tal y como se explica en el punto 7 del presente memorial. Esta reivindicación dependiente de las reivindicaciones originales 50 y 59 ha sido modificada de tal forma que ahora señala que dos residuos adicionales de murina en la posición 68 y 70 en la secuencia, A (alanina, Ala), y L (leucina Leu) respectivamente, son mantenidos en la secuencia por la cadena pesada gH1, gH4 y gH6.

Dicha modificación está sustentada en el hecho de que:

Cuando se realiza una comparación de estos dos amino ácidos con la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO:8, **estos amino ácidos aparecen en la posición 68 y 70 en SEQ ID NO:8 y son considerados el residuo del donador, tal y como se reivindica en las nuevas reivindicaciones 26 y 60.**

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

- (iii) **REIVINDICACIÓN 52:** Esta reivindicación corresponde a las nuevas reivindicaciones 27 y 61. Estas reivindicaciones han sido modificadas de tal forma que ahora señalan que los residuos del donador de cadena liviana están en las posiciones 2, 4, 42, 43, 50 y 65 en SEQ ID NO:7.

Dicha modificación está sustentada en el hecho de que:

En la página 73, línea 27 a la página 74 línea 6 y página 75 líneas 2 a 21 de la presente solicitud, se describen las regiones variables CDR-injertadas 5/44 de ratón de las cadenas liviana y pesada en las estructuras humanas para producir el anticuerpo anti-CD22 CDR-injertado, cuyas secuencias son proporcionadas en las figuras 2 y 3, respectivamente, y en SEQ ID NOS:7 y 8, respectivamente.

Para injertar la cadena liviana, fue usada como estructura del aceptor la secuencia O12, DPK9 de la línea germinal del subgrupo 1 Vk, la cual está presente en SEQ ID NO: 17. La secuencia aceptor de estructura 4, fue derivada de la secuencia de línea germinal región-J humana JK1, la cual está presente en SEQ ID NO: 18.

De esta manera, la figura 5 proporciona una comparación de la cadena liviana de murina 5/44 con la secuencia de estructura del aceptor y muestra diferencias en la posición 27. Usando la misma estrategia para la cadena liviana descrita en la página 74, líneas 7 a 31, **fue hecho un análisis del potencial de los residuos de murina que contribuyen al enlace de antígeno, y cuando el residuo de murina fue considerado importante y suficientemente diferente del residuo humano, entonces ese residuo de murina fue mantenido.**

Teniendo en cuenta este hecho, es claro que en la figura 5, las secuencias dadas para las cadenas livianas gL1 y gL2 muestran que el residuo de murina V (valina, Val), V (valina Val), L (leucina, Leu), H (histidina, His), Q (glutamine, Gln), y D (ácido aspártico, Asp) en la posición 2, 4, 42, 43, 50 y 65, respectivamente fueron mantenidos.

Así, **cuando se realiza una comparación de estos 6 amino ácidos con la secuencia de amino ácidos en SEQ ID NO: 7, estos amino ácidos aparecen en las posiciones 2, 4, 42, 43, 50 y 65 en SEQ ID NO:7 y son considerados residuos del donador, tal y como se reivindican en las nuevas reivindicaciones 27 y 61.**

JOSE LLORED A CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

Finalmente, me permito manifestar que, las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio, **no constituyen una ampliación de la materia tal y como fue originalmente presentada**, toda vez que, simplemente se refieren a la corrección en la numeración lineal de los residuos del donador que fueron mantenidos en el anticuerpo, la cual se encuentra plenamente sustentada en el capítulo descriptivo de la presente solicitud.

4. CLARIDAD DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO**4.1 ARGUMENTOS DEL EXAMINADOR EN CONTRA DE LA CLARIDAD DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO**

El señor Examinador ha objetado la claridad de las reivindicaciones asegurando que:

- (a) *"Se presenta un alto número de cláusulas que no especifican la materia objeto de la reclamación".*
- (b) *"Se utilizan términos denominativos que no definen la materia como fármaco citotóxico, portador proteínico".*
- (c) *"Se utilizan rangos imprecisos".*
- (d) *"La estructura molecular de los compuestos y composiciones producidas permanecen indeterminadas".*
- (e) *"Se reivindica 2 veces el conjugado de un derivado de caliqueamicina con el anticuerpo anti-CD22: i) como dependiente del método y ii) independientemente; un producto no debe reclamarse según su método de obtención".*
- (f) *"Se reclama sin sustento descriptivo suficiente, existiendo una inconsistencia con la descripción".*

4.2 MODIFICACIONES PERTINENTES EN EL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

Con el fin de superar las objeciones presentadas por el señor Examinador en contra de la claridad del capítulo reivindicatorio, es deseo del solicitante presentar un nuevo capítulo reivindicatorio en el cual:

- (a) En el nuevo capítulo reivindicatorio el número de reivindicaciones se ha reducido a **64 reivindicaciones** las cuales se basan en las reivindicaciones originalmente presentadas y se encuentran completamente sustentadas en la descripción de la presente solicitud tal y como se expone en el punto 7 del presente memorial.
- (b) En el nuevo capítulo reivindicatorio, los términos denominativos han sido remplazados por términos específicos de la siguiente manera:

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

- (i) En las nuevas reivindicaciones 1 a 17 se ha remplazado el término **"conjugado fármaco citotóxico monomérico/portador"** por **"conjugado de derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo"**, con lo cual se especifica la naturaleza del fármaco citotóxico y del portador. De igual forma se ha cambiado la definición de **"Pr es un portador proteínico"** por **"Pr es un anticuerpo"**
 - (ii) En las nuevas reivindicaciones 18 a 32 se ha remplazado el término **"conjugado fármaco citotóxico monomérico/portador"** por **"conjugado de derivado de caliqueamicina/anti-CD22"**, con lo cual se especifica la naturaleza del fármaco citotóxico y del portador. De igual forma se ha cambiado la definición de **"Pr es un portador proteínico"** por **"Pr es un anticuerpo anti-CD22"**.
 - (iii) En las nuevas reivindicaciones 33 a 64 se ha remplazado el término **"conjugado fármaco citotóxico monomérico/portador"** por **"conjugado de derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo"**, con lo cual se especifica la naturaleza del fármaco citotóxico y del portador.
 - (iv) Todas las expresiones **"portador proteínico"** presentes en el capítulo reivindicatorio, han sido remplazadas por la expresión **"anticuerpo"**.
 - (v) Todas las expresiones **"fármaco citotóxico"** presentes en el capítulo reivindicatorio han sido remplazadas por la expresión **"caliqueamicina"**, excepto cuando el término fármaco citotóxico está dirigido a la combinación del conjugado con un fármaco citotóxico adicional.
 - (vi) La definición de **"W es un fármaco citotóxico"** ha sido remplazada por **"W es caliqueamicina"**.
 - (vii) La definición de **"X es una ligadura que comprende un producto de cualquiera del grupo reactivo que pueden hacerse reaccionar con un portador proteínico"** ha sido remplazada por **"X es una ligadura hidrolizable que es capaz de liberar la caliqueamicina del conjugado después de enlazarse y entrar en las células objetivo"**.
- (c) Las reivindicaciones en las cuales se reclamaba el conjugado mediante su método de obtención **han sido canceladas**.

JOSE LLORED A CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

- (d) En el nuevo capítulo reivindicatorio, las estructuras de los compuestos y conjugados están plenamente identificadas gracias a que los términos denominativos usados anteriormente han sido remplazados por términos específicos.
- (e) Tal como se expone en el punto 7 del presente memorial, todas las reivindicaciones del nuevo capítulo reivindicatorio se basan en las reivindicaciones originalmente presentadas y están debidamente sustentadas por la descripción de la presente solicitud.

5. EXCEPCIÓN A LA PATENTABILIDAD

Manifiesta acertadamente el señor Examinador que las reivindicaciones 113 a 144 hacen referencia a un método de tratamiento que se encuentra **excluido** de patentabilidad por expresa disposición del Artículo 20, literal d de la Decisión 486 de 2000.

De acuerdo con lo anterior, y con el fin de superar dicha objeción, es deseo del solicitante **cancelar las reivindicaciones 113 a 144.**

6. REIVINDICACIONES RELATIVAS A UN USO

El señor Examinador manifiesta que las reivindicaciones 145 a 206 originalmente presentadas hacen referencia al uso de los compuestos reivindicados.

Acatando esta observación, es deseo del solicitante **eliminar las reivindicaciones 145 a 206, con lo cual esta objeción es superada.**

7. ESTRUCTURA DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

Antes de entrar a analizar la objeción referida a la aparente falta de nivel inventivo de la solicitud y considerando las modificaciones realizadas sugeridas por el señor Examinador a fin de superar las objeciones relativas a la falta de claridad del capítulo reivindicatorio, me permito exponer a usted la nueva estructura del capítulo reivindicatorio que ahora se presenta a su consideración.

Este nuevo capítulo reivindicatorio consta de **64 reivindicaciones** y tiene como base el capítulo reivindicatorio originalmente presentado en el cual se han hecho las siguientes modificaciones:

NUEVA REIVINDICACIÓN 1: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 1 originalmente presentada, en la cual se ha incluido la materia de las reivindicaciones originales 2 y 19. Dicha reivindicación está debidamente sustentada en la página 12,

líneas 12 a 17; página 41, líneas 4-6; página 43, líneas 29 a página 44, línea 19; página 48, línea 10 – página 51, línea 25; página 79, línea 14 - página 82, línea 23 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 2: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 4 originalmente presentada, en la cual se ha incluido la materia de la reivindicaciones originales 2 y 19. Dicha reivindicación está debidamente sustentada en la página 12, líneas 12 a 17; página 41, líneas 4-6; página 43, líneas 29 a página 44, línea 19; página 48, línea 10 – página 51, línea 25; página 79, línea 14 - página 82, línea 23 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 3 A 5: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 5, 6 y 9 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en la página 34, líneas 6-13; página 75, línea 22; página 78, líneas 26-31 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 6 Y 7: Estas reivindicaciones corresponden a la materia de la reivindicación 47 originalmente presentada, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en las Figuras 1, 4 y 6; página 29 líneas 5-14; página 35, línea 1- página 37 línea 22; página 37, línea 23-; página 75, líneas 13 a 21; página 78, líneas 2-4 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 8 A 17: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 17, 18 y 20 a 27 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en la página 40, líneas 14-24; página 44, líneas 20-27; página 49, líneas 16 - página 53, línea 14; página 79, línea 14 – página 82, línea 22 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 18: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 43 originalmente presentada, la cual está debidamente sustentada en la página 41, líneas 4-6; página 48, línea 10 – página 51, línea 2 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 19: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 44 originalmente presentada, la cual está debidamente sustentada en la página 33, líneas 30- página 34, línea 3; página 37, línea 22- página 38, línea 2 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 20 Y 21: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 54 y 57 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

sustentadas en la página 75, línea 21; página 78, líneas 26-31 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 22 Y 23: Estas reivindicaciones corresponden a la materia de la reivindicación 47 originalmente presentada, y se encuentran debidamente sustentadas en las Figuras 1, 4 y 6; página 29 líneas 5-14; página 35, línea 1- página 37 línea 22; página 75, líneas 13 a 21; página 78, líneas 2-4 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 24: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 49 originalmente presentada, la cual está debidamente sustentada en la página 35, línea 1 - página 37 línea 22 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 25 Y 26: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 50 y 51 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en la página 35, línea 1- página 37 línea 22; página 73, línea 27- página 74, línea 7; página 74, línea 7- página 75, línea 22; figuras 3 y 6; SEQ ID NOS: 7, 17 y 19 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 27 Y 28: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 52 y 53 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en la página 35, línea 1- página 37 línea 22; página 73, línea 27- página 74, línea 7; página 74, línea 7- página 75, línea 22; figuras 2 y 5; SEQ ID NOS: 7, 17 y 19 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 29 A 32: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 59, 61, 62, y 64 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en la página 40, líneas 14-24; página 73, línea 27- página 74, línea 7; página 44, líneas 20-27 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 33: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 65 originalmente presentada, en la cual se ha incluido la materia de la reivindicación original 71. Dicha reivindicación está debidamente sustentada en la página 57, línea 16 - página 59, línea 17; página 112, línea 8 - página 117, línea 10 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 34 A 47: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 77 a 90 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

sustentadas en la página 57, línea 16 – página 59, línea 17; página 112, línea 8 – página 117, línea 10 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 48: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 72 originalmente presentada, la cual está debidamente sustentada en la página 40, líneas 14-24 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 49: Esta reivindicación corresponde a la materia de las reivindicaciones originales 4, 44, y 93 a 97. Dicha reivindicación está debidamente sustentada en la página 33, línea 30 - página 34, línea 3; página 37, línea 23- página 24, línea 2 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 50 A 53: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 94 a 97 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en la página 33, línea 30 - página 34, línea 3 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 54: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 102 originalmente presentada, en la cual se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y está debidamente sustentada en la página 75, líneas 20-22 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 55: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 105 originalmente presentada, en la cual se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y está debidamente sustentada en la página 78, línea 26 – página, línea 1 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 56 Y 57: Estas reivindicaciones corresponden a la materia de la reivindicación 101 originalmente presentada, y se encuentran debidamente sustentadas en las Figuras 1, 4 y 6; página 29 líneas 5-14; página 35, línea 1- página 37 línea 22; página 75, líneas 13 a 21; página 78, líneas 2-4 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 58 A 60: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 49 a 51 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente sustentadas en la página 35, línea 1- página 37 línea 22; página 73, línea 27- página 74, línea 7; página 74, línea 7- página 75, línea 22; Figuras 3 y 6; SEQ ID NOS: 8, 21 y 22 del capítulo descriptivo.

NUEVAS REIVINDICACIONES 61 Y 62: Estas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones 52 y 53 originalmente presentadas, en las cuales se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y se encuentran debidamente

sustentadas en la página 35, línea 1- página 37 línea 22; página 73, línea 27- página 74, línea 7; página 74, línea 7- página 75, línea 22; Figuras 2 y 5; SEQ ID NOS: 7, 17 y 19 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 63: Esta reivindicación corresponde a la reivindicación 59 originalmente presentada, en la cual se ha modificado su dependencia según la nueva numeración y está debidamente sustentada en la página 73, línea 27- página 74, línea 7 del capítulo descriptivo.

NUEVA REIVINDICACIÓN 64: Esta reivindicación corresponde a la materia de las reivindicaciones 73 a 76 originalmente presentada, y está debidamente sustentada en la página 53, línea 24 – página 54, línea 3; Página 61, línea 18- página 61, línea 17 página 73, línea 27- página 74, línea 7 del capítulo descriptivo.

Finalmente, me permito manifestar que **ninguna de las modificaciones realizadas amplía el alcance de la invención**, toda vez que han sido realizadas con el ánimo de proporcionar una mayor claridad al capítulo reivindicatorio, superar las objeciones presentadas por el señor Examinador y se encuentran plenamente sustentadas tanto en la descripción como en el capítulo reivindicatorio originalmente presentado.

8. **OBJECCIÓN DE FALTA DE NIVEL INVENTIVO**

Ahora bien, el señor Examinador en su Concepto Técnico número **518**, manifiesta que, la presente solicitud carece de nivel inventivo con base en las enseñanzas de los documentos US5712374 (**D1**) Y US6183744 (**D2**).

8.1 **CONSIDERACIONES RESPECTO AL DOCUMENTO US5712374 (D1)**

Con respecto a este documento el señor Examinador afirma que:

*"el documento de US5712374 (**D1**) divulga un método de preparación de conjugados de derivados monoméricos de caliqueamicina con portadores ...y que el conjugado presenta un LCF menor a 10% ...las únicas diferencias que presentan entre la solicitud en estudio y **D1** es el método de purificación específico (cromatográfico) del conjugado".*

Frente a este particular, me permito manifestar de manera respetuosa que, **el señor Examinador se equivoca cuando afirma que el documento D1 enseña métodos para preparar conjugados de derivado de caliqueamicina monoméricos/portador que presentan una fracción de conjugado inferior (LCF, por sus siglas en inglés) menor del 10%.**

El señor Examinador está interpretando erróneamente las enseñanzas de **D1**, pues **confunde la reducción en la agregación de los conjugados de derivados de caliqueamicina/anticuerpo enseñada por D1, con la disminución en la fracción de conjugado inferior LCF (esto es la fracción que consiste en anticuerpo no conjugado) que enseña la presente solicitud.**

A este respecto, considero importante señalar que, cuando **D1** discute la **agregación**, lo hace claramente refiriéndose a la **agregación de los conjugados unos a otros debido a la hidrofobicidad de la caliqueamicina** y a la hidrofobicidad del conector que une la caliqueamicina al anticuerpo. **El enfoque de la invención contenida en D1, es entonces, el de prevenir esta agregación o romper esta agregación mediante el uso de aditivos que causen su separación durante la reacción de conjugación** tal como lo menciona **D1** en la columna 1, líneas 38-46, columna 6, líneas 12 a 36, columna 8, líneas 18 a 32, ejemplos 2, 3, 7, 8, 12.

Ahora bien, si bien es cierto que **D1 describe procesos de preparación de conjugados con una disminución en el contenido de agregados, es importante tener en cuenta que dichos procesos dan como resultado conjugados que tienen unos altos e indeseables niveles (45 a 65% HPLC Área %) de fracción de conjugación inferior (LCF), es decir, de anticuerpos no conjugados**, tal como se menciona en la página 5 líneas 18 a 29 de la presente solicitud.

Esta característica es de gran importancia, toda vez que, los altos niveles de LCF como los que se obtienen con el procedimiento enseñado en **D1** dan como resultado un uso ineficiente del anticuerpo, debido a que éste no contiene el fármaco citotóxico. Adicionalmente, la LCF puede entrar a competir con el anticuerpo conjugado por el objetivo, resultando en una reducción de la eficiencia del fármaco citotóxico, tal como se mencionó en la página 6, líneas 1 a 6 de la presente solicitud.

Bajo este panorama, queda claro que, **los métodos de preparación de conjugados enseñados en D1 no solucionan el problema relativo a los altos e indeseables niveles de LCF, el cual sí soluciona la presente invención mediante el mejoramiento en el proceso de conjugación, con el cual se preparan conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con una fracción de conjugado inferior (LCF) por debajo del 10% y que además tienen niveles aceptables de agregación.**

Teniendo en consideración los hechos anteriormente expuestos, queda completamente claro que, la persona versada en la materia no podría llegar de manera obvia a los métodos reivindicados en la presente solicitud, mediante los

cuales se preparan conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con una fracción de conjugado inferior (LCF) por debajo del 10%, usando como guía o punto de referencia las enseñanzas del documento **D1**, toda vez que, dicho documento enseña procedimientos de preparación de conjugados con características totalmente opuestas, tal como altos e indeseables niveles (45 a 65% HPLC Área %) de fracción de conjugación inferior (LCF), es decir, de anticuerpos no conjugados.

8.2 CONSIDERACIONES RESPECTO AL DOCUMENTO US6183744 (D2)

Con respecto a este documento manifiesta el señor Examinador que:

"el documento US6183744 (D2) divulga el anticuerpo anti-CD22 y sugiere su conjugación para fines farmacéuticos".

Frente a tal afirmación, me permito manifestar, que el documento **D2** citado por el señor Examinador, **no enseña explícitamente que la caliqueamicina puede ser un agente terapéutico, y tampoco describe conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo.**

Dicho documento describe anticuerpos anti-CD22 inmunoconjugados, donde el agente terapéutico del inmunoconjugado incluye fármacos quimioterapéuticos del cáncer tal como mostazas de nitrógeno, alquilsulfonatos, nitrosoureas, triazenos y análogos del ácido fólico (ver **D1**, columna 4, líneas 14-17, y 25-26; columna 12, líneas 61-65), pero no hace alguna referencia o comentario en ninguna parte sobre compuestos endiino, tal como la caliqueamicina, a la que sí se refiere la invención en estudio.

Adicionalmente, nótese que en el documento **D2** no se hace ninguna mención o discusión acerca de: cómo preparar conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo en los cuales el promedio de la carga de caliqueamicina constituye el 4-10% en peso del producto conjugado, ni tampoco hay ninguna discusión acerca de la LCF del conjugado final.

Así las cosas, es evidente que, una persona versada en la materia que se proponga preparar conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con una fracción de conjugado inferior (LCF) por debajo del 10% y que además tengan niveles aceptables de agregación, no tendría ninguna motivación o razón para usar las enseñanzas del **D2** como guía ó punto de partida, toda vez que, dicho documento es totalmente silencioso frente a un método de preparación que lo lleve a obtener conjugados con la reducción de la LCF menor al 10%.

En este sentido es claro que el documento **D2** citado por ese Despacho no podría afectar de ninguna forma la patentabilidad de la presente invención.

8.3 **CONSIDERACIONES RESPECTO A LA COMBINACIÓN DE D1 Y D2**

Con respecto a la combinación de las enseñanzas de los documento **D1** y **D2**, me permito señalar que, ninguno de estos documentos, solos o combinados, enseñan o sugieren conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con una reducción de la LCF por debajo del 10%. De igual forma estos documentos tampoco hacen referencia alguna sobre como preparar dichos conjugados, ni las formulaciones que los contienen las cuales si reclaman en el capítulo reivindicatorio de la presente invención.

Teniendo en cuenta los hechos mencionados anteriormente, es claro que para la persona versada en la materia que centre su atención en la combinación de las enseñanzas de **D1** y **D2**, no sería obvio llegar a un método para preparar conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con una fracción de conjugado inferior (LCF) por debajo del 10% y que además tienen niveles aceptables de agregación como los actualmente reivindicados, toda vez que, estos documentos solos o en combinación son totalmente silenciosos frente a la preparación de conjugados con estas características.

9. **ANÁLISIS SUGERIDO DE NIVEL INVENTIVO**

Bajo el panorama que ofrecen los argumentos anteriormente expuestos, solicito al señor Examinador de manera muy respetuosa realizar un nuevo análisis de nivel inventivo de la solicitud, basándose para ello en el enfoque problema-solución contemplado por el **Manual Andino de Patentes**.

De acuerdo con el citado **Manual**, *"Para determinar si el objeto de la reivindicación resulta obvio o se deriva de manera evidente del estado de la técnica se recurre, siempre que sea posible, al método problema-solución"*^{*}.

En este sentido, el **Manual** afirma que para aplicar dicho enfoque es necesario: (i) identificar el estado de la técnica más cercano; (ii) identificar las características técnicas de la invención que son diferentes con respecto a la anterioridad; y (iii) definir el problema técnico a solucionar sobre la base del estado de la técnica más cercano.

^{*} Manual para el Examen de solicitudes de Patentes de Invención, Quito Ecuador 2004, Página 77, numeral 10.2.1

Para el presente caso, el estado de la técnica más cercano está dado por los documentos **D1** y **D2** citados por el señor Examinador, y estos documentos se diferencia ampliamente de la presente solicitud, dado que, no enseñan o sugieren métodos de preparación de conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con una reducción de la LCF por debajo del 10%, ni las formulaciones que los contienen las cuales sí se reclaman en el capítulo reivindicatorio de la presente invención.

Por último, el problema técnico planteado es el de encontrar un método de preparación que solucione o disminuya los altos niveles de LCF que se presentan en los conjugados preparados con los métodos conocidos en el estado de la técnica.

Hecho lo anterior, debe plantearse el señor Examinador las siguientes preguntas:

1. "¿Estaba el técnico con conocimientos medios en la materia en condiciones de plantearse el problema?"
2. Estaba esa persona en condiciones "de resolverlo en la forma en que se reivindica?" y por último,
3. Estaba esa persona en capacidad "de prever el resultado?"

Si y solo si la respuesta es afirmativa en los tres casos podrá el señor Examinador concluir que existe una o varias anterioridades que, refiriéndose al campo de la técnica pertinente, anticipan el problema y su solución y que por ende no puede haber nivel inventivo.

En el caso que nos ocupa, queda completamente claro que, la presente solicitud **sí** posee nivel inventivo frente a las enseñanzas de los documentos **D1** y **D2** citados por el señor Examinador, toda vez que, **si bien D1 describe procesos de preparación de conjugados con un reducido contenido de agregados, dichos procesos dan como resultado conjugados que tienen unos altos e indeseables niveles (45 a 65% HPLC Área %) de fracción de conjugación inferior (LCF), es decir, de anticuerpos no conjugados, y por otra parte en D2 no se hace ninguna discusión acerca de cómo preparar conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con las características de los conjugados obtenidos con los métodos de la presente invención.**

Lo anterior trae como resultado que, una persona medianamente versada en la materia no podría haber resuelto el problema planteado tal como se reivindica en la solicitud bajo estudio, simplemente con estudiar las enseñanzas de los documentos **D1** y **D2**, toda vez que, en estos documentos no existe ningún indicio o sugerencia que le indique un método de preparación de conjugados de derivados de caliqueamicina monoméricos/anticuerpo con una fracción de conjugado inferior (LCF) por debajo del 10% y que además tienen niveles aceptables de agregación, como si sucede en la presente invención.

10 **CONCLUSIÓN**

Queda entonces plenamente demostrado que las objeciones relativas a la claridad de las reivindicaciones, excepciones a la patentabilidad y reivindicaciones relativas a usos, fueron superadas mediante las modificaciones realizadas al capítulo reivindicatorio, y la exclusión de las reivindicaciones correspondientes.

Finalmente, quedó claro que entre la presente solicitud y el documento **D1** existen diferencias diametrales que no son obvias para la persona versada en la materia. De igual forma se demostró que no existe motivación alguna para que una persona con conocimientos medios opte por combinar las enseñanzas de **D1** con las enseñanzas de **D2** con el fin de llegar al objeto de la presente invención.

En consecuencia, es claro que ninguno de los documentos citados por ese Despacho afecta de manera alguna el nivel inventivo de la solicitud bajo estudio, por lo que la misma se hace merecedora del privilegio de patente solicitado.

11. Anexo me permito presentar:

- (a) Recibo número 08 - 44,783 expedido por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acredita el pago de las modificaciones mencionadas;
- (b) Copia del nuevo capítulo reivindicatorio, **que reemplaza al actualmente presentado**, en el cual se han realizado las modificaciones expuestas anteriormente; y
- (c) Anexo 1 correspondiente a la copia del artículo "*Mimicking Somatic Hypermutation: Affinity Maturation of Antibodies Displayed on Bacteriophage Using a Bacterial Mutator Strain*".

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

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

Señor Superintendente,


ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

Alicia Lloreda Ricaurte

*C.C. 39.690.713
T.P. 53.215*


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



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 44,733
 FECHA : JUNIO 5 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 04-109443- -00006-0000

Fecha: 2008-06-16 16:33:42 Dep. 2020 NUECRLACIONI
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
 Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 34

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PBO	Vr. PAGO
LOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2756091	05/06/2008	6,040,000.00

***** CONCEPTO *****

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

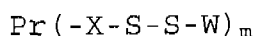
CON: CIENTO TRECE MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

REIVINDICACIONES

① Un método para preparar conjugados de derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo con una fracción conjugada baja reducida (LCF) que tiene la fórmula,



En donde:

Pr es un anticuerpo,

X es una ligadura hidrolizable que es capaz de liberar la caliqueamicina del conjugado después de enlazarse y entrar en las células objetivo.

W es caliqueamicina;

m es la carga promedio para un producto de conjugación purificado de manera tal que la caliqueamicina constituye 4-10% del conjugado en peso; y

$(-\text{X}-\text{S}-\text{S}-\text{W})_m$ es un derivado de caliqueamicina, dicho método caracterizado porque comprende las etapas de:

(1) agregar el derivado de caliqueamicina al anticuerpo en donde el derivado de caliqueamicina es 4.5-11% en peso del anticuerpo;

(2) incubar el derivado de caliqueamicina y el anticuerpo en una solución amortiguadora, compatible con la proteína, no nucleofílica que tiene un pH en el rango desde alrededor de 7 hasta 9 para producir un conjugado de derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo, en donde la solución comprende además (a) un cosolvente orgánico, y (b) un aditivo que comprende al menos un ácido carboxílico $\text{C}_6\text{-C}_{18}$ o su sal, y en donde la incubación se conduce a una temperatura en el rango desde

alrededor de 30°C hasta alrededor de 35°C durante un periodo de tiempo en el rango desde alrededor de 15 minutos hasta 24 horas; y

(3) someter el conjugado producido en la etapa (2) a un proceso de separación cromatográfica para separar los conjugados de derivados de caliqueamicina monomérico/anticuerpo con una carga en el rango de 4-10 % en peso de caliqueamicina y con una fracción de conjugado inferior (LCF) debajo de 10 por ciento del anticuerpo no conjugado, derivado de caliqueamicina, y conjugados agregados.

2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste de un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo químerico, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de cadena simple, y un fragmento de anticuerpo biológicamente activado, donde el fragmento activado biológicamente es Fab, Fab modificado, Fab', F(ab')₂ o Fv, o un monómero o dímero de cadena pesada.

3. El método de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo humanizado se dirige contra el antígeno de superficie celular CD22.

4. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende SEQ ID NO:19, y una región variable de cadena pesada que comprende SEQ ID

NO:27.

5. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende SEQ ID NO:28 y una cadena pesada que comprende SEQ ID NO:30.

6. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el anticuerpo comprende SEQ ID NO:1 por CDR-H1, SEQ ID NO:2 ó SEQ ID NO:13 ó SEQ ID NO:15 ó SEQ ID NO:16 o 50 a 66 residuos de SEQ ID NO: 27 por CDR- *posición?* H2, SEQ ID NO:3 por CDR-H3, SEQ ID NO:4 por CDR-L1, SEQ ID NO:5 por CDR-L2 y SEQ ID NO:6 por CDR-L3.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, donde el anticuerpo comprende 50 a 66 residuos de SEQ ID *posición?* NO:27 por CDR-H2.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la caliqueamicina es caliqueamicina gamma o caliqueamicina N-acetil gamma.

9. El método de conformidad con la reivindicación 1 a 9, caracterizado porque la caliqueamicina se funcionaliza con 3-mercaptopropionil hidrazida.

10. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la ligadura hidrolizable es el ácido 4-(4-acetilfenoxi)butanoico (AcBut).

11. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el aditivo de la etapa (2) (b) es ácido octanoico o su sal.

12. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el aditivo de la etapa (2) (b) es ácido decanoico o su sal.

13. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el proceso de separación cromatográfica de la etapa (3) es cromatografía de exclusión de tamaño (SEC).

14. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el proceso de separación cromatográfica de la etapa (3) es CLAR, FPLC o cromatografía de Sephacryl S-200.

15. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el proceso de separación cromatográfica de la etapa (3) es cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC).

16. El método de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado porque la cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) se lleva a cabo usando un medio cromatográfico de Fenil Sefarosa 6 de flujo rápido, medio cromatográfico de Butil Sefarosa 4 de flujo rápido, medio cromatográfico de Octil Sefarosa 4 de flujo rápido, medio cromatográfico Toyopearl Ether-650M, medio Macro-Prep

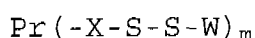
met. difer?

metil HIC o medio Macro-Prep t-Butil HIC.

17. El método de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado porque la cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) se lleva a cabo usando un medio cromatográfico de Butil Sefarosa 4 de flujo rápido.

18. Un conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 con una fracción conjugada baja reducida (LCF) por debajo del 10 por ciento que tiene la fórmula,

Igual a 1+3



caracterizado porque:

Pr es un anticuerpo anti-CD22;

X es una ligadura hidrolizable que es capaz de liberar la caliqueamicina del conjugado después de enlazarse y entrar en las células objetivo.

W es una caliqueamicina;

m es la carga promedio para un producto de conjugación purificado de tal manera que la caliqueamicina constituye el 4-10% del conjugado por peso; y $(-\text{X}-\text{S}-\text{S}-\text{W})_m$ es un derivado de caliqueamicina.

19. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 se selecciona del grupo que consiste de un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de cadena simple, y un fragmento de anticuerpo

Igual a 2
a 2.

biológicamente activado, donde el fragmento activado biológicamente es Fab, Fab modificado, Fab', F(ab')₂ o Fv, o un monómero o dímero de cadena pesada.

20. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende una región variable de cadena ligera que comprende SEQ ID NO:19 y una región variable de cadena pesada que comprende SEQ ID NO:27. *Igual RV4.*

21. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende una cadena ligera que comprende SEQ ID NO:28 y una cadena pesada que comprende SEQ ID NO: 30. *Igual RV5.*

22. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende la SEQ ID NO:1 por CDR-H1, SEQ ID NO:2 ó SEQ ID NO:13 ó SEQ ID NO:15 ó SEQ ID NO:16 *o 50 a posición?* 66 residuos de SEQ ID NO:27 por CDR-H2, SEQ ID NO:3 por *Igual RV6* CDR-H3, SEQ ID NO:4 por CDR-L1, SEQ ID NO:5 por CDR-L2 y SEQ ID NO:6 por CDR-L3.

23. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 *posición?* *Igual RV7* compre de 50 a 66 residuos de SEQ ID NO:27 por *Inde*

CDR-H2.

24. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende un dominio variable que comprende regiones de estructura aceptora humanas y CDRs donadores no humanos.

25. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 24, caracterizado porque las regiones de estructura del aceptor humano del dominio variable de la cadena pesada del anticuerpo se basan en SEQ ID NOS 21 y 22 y comprende un residuo donador en la posición 1, 28, 48, 72 y 97 en SEQ ID NO:8. CDR⁷

26. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 25, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende además residuos de donador en las posiciones 68 y 70 en SEQ ID NO:8.

27. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 24, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende un dominio variable de la cadena ligera que comprende una región de estructura del aceptor humano basada en SEQ ID NOS:17 y 18 y además comprende residuos de donador no humano en las posiciones 2, 4, 42,

43, 50, y 65 en SEQ ID NO:7.

28. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende además un residuo de donador en la posición 3 en SEQ ID NO:7.

29. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el anticuerpo anti-CD22 comprende una región variable de la cadena ligera comprendiendo SEQ ID NO:7 y una región variable de cadena pesada que comprende SEQ ID NO:8 respectivamente.

30. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque el derivado de caliqueamicina es una caliqueamicina gamma o un derivado de caliqueamicina N-acetil gamma. *Igual RV 8.*

31. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18 o 30, caracterizado porque el derivado de caliqueamicina se funcionaliza con 3-mercaptopropil hidrazida.

32. El conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la ligadura

hidrolizable es ácido 4-(4-acetilfenoxi)butanoico (AcBut).

(33). Un método para la preparación de una composición liofilizada estable de un conjugado de derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo, el método caracterizado porque comprende:

Anterioridad?

(a) disolver el conjugado de derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo hasta una concentración final de 0.5 hasta 2 mg/ml en una solución que comprende un crioprotector a una concentración de 1.5%-5% por peso, un agente de volumen polimérico a una concentración de 0.5-1.5% por peso, electrolitos a una concentración de 0.01M hasta 0.1 M, un agente que facilita la solubilidad a una concentración de 0.005-0.05% por peso, agente amortiguante a una concentración de 5-50 mM de tal manera que el pH final de la solución es 7.5-8.5, y agua;

(b) dispersar la solución de arriba en los viales a una temperatura de +5°C hasta +10°C;

(c) congelar la solución a una temperatura de congelación de -35°C hasta -50°C;

(d) someter la solución congelada a una etapa de secado por congelación inicial a una presión de secado primaria de 20 hasta 80 micrones a una temperatura de anaquel a -10°C hasta -40°C durante 24 hasta 78 horas; y

(e) someter el producto secado por congelado de la etapa (d) a una etapa de secado secundario a una presión de secado de 20 hasta 80 micrones a una temperatura de anaquel de +10°C hasta + 35°C durante 15 hasta 30 horas.

34. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el crioprotector se selecciona del grupo que comprende alditol, manitol, sorbitol, inositol, polietilenglicol, ácido aldónico, ácido urónico, ácido aldárico, aldosas, cetosas, amino azúcares, alditoles, inositol, gliceraldehídos, arabinosa, lixosa, pentosa, ribosa, xilosa, galactosa, glucosa, hexosa, idosa, mannososa, talosa, heptosa, glucosa, fructosa, ácido glucónico, sorbitol, lactosa, manitol, metil α -glucopiranosida, maltosa, ácido isoascórbico, ácido ascórbico, lactona, sorbosa, ácido glucárico, eritrosa, treosa, arabinosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, eritrulosa, ribosa, xilulosa, psicosa, tagatosa, ácido glucurónico, ácido glucónico, ácido glucárico, ácido galacturónico, ácido mannurónico, glucosamina, galactosamina, sacarosa, trehalosa, ácido neuráminico, arabinanos, fructanos, fucanos, galactanos, galacturonanos, glucanos, mannanos, xilanos, levan, fucoidan, carragenina, galactocarolosa, pectinas, ácidos pécticos, amilosa, pullulan, glicógeno, amilopectina, celulosa, dextrano, pustulan, quitina, agarosa, ceratina, condroitina, dermatan, ácido hialurónico, ácido algínico, goma de xantano, almidón, sacarosa, glucosa, lactosa, trehalosa, etilenglicol, polietilen glicol, polipropilen glicol, glicerol, y pentaeritritol.

35. El método de conformidad con la reivindicación 34, caracterizado porque el crioprotector es sacarosa.

36. El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado porque la sacarosa se presenta a una concentración de 1.5% por peso.

37. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el agente de volumen polimérico es Dextrano 40, y es una concentración de 0.9% por peso.

38. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el agente de volumen polimérico es almidón de hidroxietilo 40, y está a una concentración de 0.9% por peso.

39. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el electrolito es cloruro de sodio, y se presenta a una concentración de 0.05 M.

40. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el agente facilitador de la solubilidad es un tensoactivo.

41. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el tensoactivo es polisorbato 80, y se presenta a una concentración de 0.01% por peso.

42. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el agente de solución amortiguadora es trometamina, y se presenta a una concentración de 0.02 M.

43. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el pH de la solución de la etapa (a) es 8.0.

44. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque la solución en la etapa (b) se repartió en viales a temperatura de +5°C.

45. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque en la etapa (c) el congelamiento de la solución en viales se llevó a cabo a temperaturas congelantes de -45°C.

46. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque en la etapa (d) la solución congelada se sujetó a una etapa de secado por congelado inicial a una presión de secado primaria de 60 micrones y a una temperatura de una anaquel de -30°C durante 60 horas.

47. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque en la etapa (e), el producto secado por congelado de la etapa (d) se sometió a una etapa de secado secundaria a una presión de secado de 60 micrones a una temperatura de anaquel de +25°C durante 24 horas.

48. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque la caliqueamicina de el derivado la caliqueamicina es gamma o N-acetil caliqueamicina.

49. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste de un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo químero, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de cadena simple, y un fragmento de anticuerpo biológicamente activado, donde el fragmento activado biológicamente es Fab, Fab modificado, Fab', F(ab')₂ o Fv, o un monómero o dímero de cadena pesada.

50. El método de conformidad con la reivindicación 49, caracterizada porque el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano.

51. El método de conformidad con la reivindicación 49, caracterizada porque el anticuerpo es un anticuerpo quimérico.

52. El método de conformidad con la reivindicación 49, caracterizada porque el anticuerpo es un anticuerpo humano.

53. El método de conformidad con la reivindicación 49, caracterizada porque el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

54. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizada porque el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera SEQ ID NO:19, y una región variable de cadena pesada SEQ ID NO:27.

55. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizada porque el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende SEQ ID NO:28 y una región variable de cadena pesada que comprende SEQ ID NO:30. =RV 21.

56. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizada porque el anticuerpo comprende SEQ ID NO:1 por CDR-H1, SEQ ID NO:2 ó SEQ ID NO:13 ó SEQ ID NO:15 ó SEQ ID NO:16 ó 50 a 66 residuos de SEQ ID NO:27 por CDR-H2, SEQ ID NO:3 por CDR-H3, SEQ ID NO:4 por CDR-L1, SEQ ID NO:5 por CDR-L2, y SEQ ID NO:6 por CDR-L3. =RV 22.

57. El método de conformidad con la reivindicación 56, caracterizado porque el anticuerpo comprende 50 a 66 ^{posición?} residuos de SEQ ID NO:27 por CDR-H2. =RV 23.

58. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el anticuerpo comprende un dominio variable que comprende regiones de estructura aceptora humanas y CDRs donadores no humanos. =RV 24.

59. El método de conformidad con la reivindicación 58, caracterizado porque las regiones de estructura del aceptor humano del dominio variable de la cadena pesada del anticuerpo anti-CD22 se basan en SEQ ID NOS 21 y 22 y comprende residuos de donador en las posiciones 1, 28, 48, 72 y 97 en la SEQ ID NO:8. =RV 25

60. El método de conformidad con la reivindicación 59, caracterizado porque el anticuerpo comprende además residuos de donador en las posiciones 68 y 70 en SEQ ID NO:8. = RV 26.

61. El método de conformidad con la reivindicación 58, caracterizado porque el anticuerpo comprende un dominio variable de la cadena ligera que comprende una región de estructura del aceptor humano basada en SEQ ID NOS:17 y 18 y además comprende residuos de donador en las posiciones 2, 4, 42, 43, 50 y 65 en SEQ ID NO:7. = RV 27.

62. El método de conformidad con la reivindicación 61, caracterizado porque el anticuerpo comprende además un residuo de donador en la posición 3 en SEQ ID NO:7. = RV 28.

63. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende SEQ ID NO:7 y una región variable de cadena pesada que comprende SEQ ID NO:8. = RV 29.

64. El método de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque además opcionalmente comprende un agente bioactivo a una concentración terapéuticamente efectiva, donde el agente bioactivo es un fármaco citotóxico, un factor de crecimiento, una hormona, ó un anticuerpo. *clonada*

Mimicking Somatic Hypermutation: Affinity Maturation of Antibodies Displayed on Bacteriophage Using a Bacterial Mutator Strain

Nigel M. Low¹, Philipp Holliger^{2*} and Greg Winter^{1,2}

¹MRC Laboratory of Molecular Biology, and

²MRC Centre for Protein Engineering, Hills Road Cambridge, CB2 2QH, UK

Human antibodies can now be isolated from antibody repertoires displayed on the surface of filamentous bacteriophage in a process that mimics the primary immune response. Here we have attempted to mimic the secondary response, the natural process of affinity maturation of antibodies occurring in germinal centres, by multiple cycles of random mutation and selection. Phage displaying a human antibody fragment recognising the hapten 2-phenyl-5-oxazolone were grown in a mutator strain of bacteria (*Escherichia coli*: *mutD5*) to generate a large repertoire of antibodies that should include the majority of possible single nucleotide point mutations. The repertoire of phage antibody mutants was then selected by binding to hapten. By multiple rounds of growth in the mutator strain, and increasingly stringent selection, we succeeded in isolating mutants with improved binding affinities; furthermore, the distribution of mutations and nucleotide substitution preferences strongly resembled those of somatic hypermutation. We then constructed a genealogical tree from the sequences of mutants taken at different rounds, and identified four sequentially acquired mutations that together improve the binding affinity of the antibody by a factor of 100-fold (from K_d 320 nM to 3.2 nM).

© 1996 Academic Press Limited

*Corresponding author

Keywords: affinity maturation; *mutD5*; phage display; antibody; mutagenesis

Introduction

In the immune system, the rearranged antibody V-genes are assembled from germline segments to provide a large repertoire of different antibody binding sites. Each B-cell assembles and expresses on the surface a single antibody species and encounter with antigen leads to the selection of those B-cells of the repertoire with binding activities. Thus, the B-cell represents a package in which the genotype and phenotype of the antibody are linked. The antibodies selected in the primary immune response typically have moderate binding affinities, but these are improved (affinity matured)

in later responses through a process of hypermutation (Kocks & Rajewsky, 1988). It has been postulated that hypermutation might proceed through the action of an error-prone polymerase, as part of error-prone DNA repair (Brenner & Milstein, 1966; Neuberger & Milstein, 1995). Hypermutation operates iteratively on the antibody V-genes of B-cells in germinal centres, with successive rounds of mutation and expansion of antigen-selected clones (Berek *et al.*, 1991; Jacob *et al.*, 1991). Although antibodies may thereby acquire many mutations, most of the improvement in binding affinity is effected by the mutation of a few residues; these residues may occur within the antigen binding site (Berek & Milstein, 1987), or even outside it, presumably modulating the contact residues indirectly (Sharon, 1990; Hawkins *et al.*, 1993).

The strategy of the immune system suggests a powerful means for creating antibodies (and other proteins) with binding activities *de novo* (Winter & Milstein, 1991). Indeed it is possible to make human antibodies in bacteria, by display of repertoires of antibody fragments on the surface of filamentous

Abbreviations used: phOx, 2-phenyloxazol-5-one; scFv, single chain Fv antibody fragment; MuM, mutation media (2 × TY, 20 μM thymidine); Tet, tetracycline; t.u., transducing unit(s); CDR, complementarity determining region; phOxBSA, phOx conjugated to BSA; phOx-GABA, 4-γ-aminobutyric acid methylene 2-phenyl-oxazol-5-one; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; PCR, polymerase chain reaction.

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

Abogada
Alicia Lloreda Ricaurte

ASUNTO	Radicación	04-109443
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio	2164
	Folios	004

Patente de Invención	☒	Patente de Modelo de Utilidad	☐
Vía Nacional	☐		
Vía PCT (fase nacional)	☒	Cap. I	☐
		Cap. II	☒
No. Sol. Internacional	PCT/US03/13910		
Fecha de Presentación Internal.	02/05/2003		

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

1. Documentos estudiados

- 1.1. Descripción: Folios: 29 a 149 como se radicó inicialmente.
- 1.2. Reivindicaciones: Folios: 150 a 206 como se radicó inicialmente.
Folios: 393 a 407 modificadas
- 1.3. Figuras: Folios: 207 a 273 como se radicó inicialmente.
- 1.4. Prioridad: 02/05/2002, Estados Unidos, US60/377,440.

2. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Conjugados portadores de derivados de caliqueamicina."

El objeto de la presente solicitud de patente de invención consiste en un método de preparación de conjugados de drogas monoméricos citotóxicos con portadores que presentan liberación mejorada de las mismas, agregación reducida y baja fracción de conjugación (LCF). Se describe igualmente un conjugado de un derivado monomérico de caliqueamicina con un anticuerpo anti-CD22 y composiciones que lo contienen.

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad de un proceso de conjugación de moléculas mejorado que produzca conjugados con bajos niveles de LFC y niveles aceptables de agregación, al tiempo que no influya en las propiedades físicas de los mismos.

Para solucionar este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un método de conjugación de derivados de drogas citotóxicas con portadores, específicamente conjugados de derivados monoméricos de caliqueamicina con portadores, composiciones que los contienen y usos de los mismos; y muy particularmente se presenta un método de producción de un conjugado de un derivado de caliqueamicina con el anticuerpo anti-CD22 (CMC-544).

IPC: A61K 39/395.

3. De la solicitud de Patente (según el caso)

3.1. Reivindicaciones (artículo 30 D 486)

El capítulo reivindicatorio en general carece de claridad por cuánto:

- 1) Algunas reivindicaciones que se refieren al anticuerpo, lo caracterizan a partir de una(s) secuencias determinadas. Sin embargo, para algunas de estas secuencias se menciona que utilizan 50 a 66 residuos sin especificar la posición de tales residuos, esta definición da lugar a numerosas posibilidades en la estructura del anticuerpo. Esto es relevante para las reivindicaciones 6,7,22,23, 56 y 57.
- 2) La reivindicación 64 hace referencia a un método caracterizado opcionalmente porque comprende un agente bioactivo a una concentración terapéuticamente efectiva, tal definición no permite establecer el contenido de este elemento y por tanto no aporta una característica técnica al mismo.

De esta manera, el capítulo reivindicatorio presentado no cumple con los requisitos establecidos en el art. 30 de la Decisión 486.

4. Determinación del Estado de la Técnica

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

Fecha de presentación de la solicitud prioritaria: 02/05/2002

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

Nº	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	US5712374	"Method for the preparation of substantially monomeric calicheamicin derivative/carrier conjugates"	27/06/1998
D2	US6183744	"Immunotherapy of B-cell malignancies using anti-CD22 antibodies"	06/02/2001

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

5.1. Nivel inventivo (artículo18 D486)

La reivindicación 1 y dependientes reclaman:

Un método para preparar conjugados de portador/fármaco citotóxicos monoméricos con una fracción conjugada baja reducida (LCF) caracterizado porque comprende las etapas de:

- (1) agregar el derivado de caliqueamicina al anticuerpo en donde el derivado de caliqueamicina es 4.5-11% en peso del anticuerpo;
- (2) incubar el derivado de caliqueamicina y el anticuerpo en una solución amortiguadora, compatible con la proteína, no nucleofílica que tiene un pH en el rango desde alrededor de 7 hasta 9 para producir un conjugado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo, en donde la solución comprende además (a) un cosolvente orgánico, y (b) un aditivo que comprende al menos un ácido carboxílico C₆-C₁₈ o su sal, y en donde la incubación se conduce a una temperatura en el rango desde alrededor de 30°C hasta alrededor de 35°C durante un periodo de tiempo en el rango desde alrededor de 15 minutos hasta 24 horas; y
- (3) someter el conjugado producido en la etapa (2) a un proceso de separación cromatográfica para separar los conjugados de caliqueamicina monomérico/anticuerpo con una carga en el rango de 4-10% en peso de caliqueamicina y con una fracción de conjugado inferior (LCF) debajo de 10 por ciento del portador proteínico no conjugado, derivado de caliqueamicina, y conjugados agregados.

La reivindicación 18 y dependientes reclaman:

- Un conjugado derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo anti-CD22 que tiene la fórmula, Pr(-X-S-S-W)_m caracterizado porque:
Pr es un anticuerpo anti-CD22;
X es una ligadura hidrolizable que comprende un producto de cualquier grupo reactivo que puede hacerse reaccionar con un anticuerpo;
W es un radical de caliqueamicina;
m es la carga promedio para un producto de conjugación purificado de tal manera que la caliqueamicina constituye el 4-10% del conjugado por peso; y (-X-S-S-W)_m es un derivado de caliqueamicina.

La reivindicación 33 y dependientes reclaman:

- Un método de 5 etapas para la preparación de una composición liofilizada estable de un conjugado de derivado de caliqueamicina monomérico/anticuerpo.

Considerando: 1) que el documento de US5712374 (D1) divulga un método de preparación de conjugados de derivados monoméricos de caliqueamicina con portadores que comprende: la mezcla de los dos compuestos, su incubación a un pH de 7-9, en una solución que contiene un aditivo que comprende un ácido carboxílico C₆-C₈, a una temperatura de 25-37°C por un periodo de 2-18 horas y su posterior purificación (ver *Resumen y Ejemplos*);

2) que las únicas diferencias que presentan entre la solicitud en estudio y D1 es que se reclama específicamente un conjugado de un derivado monomérico de caliqueamicina con un anticuerpo anti-CD22;

4) y que con las enseñanzas de D1 es posible extrapolar el método de conjugación divulgado a otros anticuerpos (ver *Ejemplos*) y que el documento US6183744 (D2) divulga el anticuerpo anti-CD22 y sugiere su conjugación con portadores para fines

farmacéuticos (ver Resumen y Columna 2, Párrafo 20), los desarrollos reclamados se derivan evidentemente del estado de la técnica, a luz de las enseñanzas de D1 y D2.

Igualmente para la preparación de una composición liofilizada estable de un conjugado derivado de caliqueamicina monomérica/anticuerpo se realiza un procedimiento habitual para un técnico versado en la materia, sin requerir de experimentación minuciosa, luego de desarrollar un conjugado como el descrito.

Por lo anterior, los desarrollos reclamados se consideran carentes de actividad inventiva y por lo tanto no cumplen con el requisito de nivel inventivo establecido en el artículo 18 de la Decisión 486.

6. Respuestas al solicitante

El solicitante argumenta que D1 describe procesos de preparación de conjugados con una disminución en el contenido de agregados, donde dichos procesos dan como resultado conjugados que tienen unos altos e indeseables niveles (45 a 65% HPLC Area %) de fracción de conjugación inferior (LCF) (folio 386, párrafo 3).

Sin embargo, al revisar la anterioridad no se encontró ninguna referencia a valores de LCF que permita comparar el rendimiento de los conjugados obtenidos entre las dos solicitudes. La información suministrada por D1 hace referencia a que obtienen hasta al menos 90% de formas conjugadas no agregadas, que son las formas de interés farmacéutico (columna 6, línea 21 a 27). Por tanto, en términos de conjugados en forma monomérica obtenidos entre D1 y la solicitud puede ser equivalente.

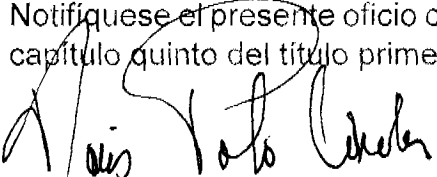
7. Conclusión:

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

N°	Documento N°	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	US5712374	1-64	Nivel Inventivo
D2	US6183744	1-64	Nivel Inventivo

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

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


DORIS ELENA POLO CÓRDOBA

Jefe de División de Nuevas Creaciones (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha _____

CONCEPTO TÉCNICO No. 367	EXAMINADOR TÉCNICO Código No.202052
------------------------------------	---