

Alexander Agudelo
Carlos A. Parra
Juan F. Acosta
Andrés Rincón
Mónica Guevara
Andrés Alvarado
María C. Calderón
Mauricio Ávila
José J. Dangond
Gina Cáceres
Isabella Herrera
Zaava Ravid
Alejandro Moure
Miguel F. Porras
Catalina Amaya
Laura M. Escobar
Lorena Andrade
Sergio Arboleda
Carolina Celis
Catalina Jiménez

Medellín

María C. Múnera
Eddie Manotas
Adrián Santamaría

Barranquilla

Gina De Echeona

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-020409-00009-0000

Fecha: 2014-04-23 16:31:04
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 523 RESPUESTA

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 10

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. 12-020.409

Solicitud de patente de invención titulada: "L-ASPARAGINASA TRATADA
CON PEG."

Solicitante: ALIZE PHARMA II.

Nuestra Ref.: P2012/000012

RESPUESTA AL OFICIO No. 23171, NOTIFICADO POR FIJACIÓN EN LISTA No. 051
DE FECHA 24 DE DICIEMBRE DE 2013
(PRIMER EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal de prórroga previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, en los siguientes términos:

1. En primer lugar, con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad al Capítulo Reivindicatorio presentado el 09 de Mayo de 2012.

Así entonces, el Capítulo Reivindicatorio Modificado contiene los siguientes cambios:

- se eliminaron las Reivindicaciones 2 y 5-12, 14, 17 y 22;

- la nueva Reivindicación 1 contiene las características esenciales de la antigua Reivindicación 4, se eliminó el porcentaje de identidad de secuencia y se definió cómo PEG se conecta a L-asparaginasa;
- la nueva Reivindicación 4 contiene las características esenciales de la antigua Reivindicación 3;
- las nuevas Reivindicaciones 5, 6, 7 y 14 corresponden a las antiguas Reivindicaciones 13, 15, 16 y 21, respectivamente, junto con sus dependencias;
- las nuevas Reivindicaciones 8, 11, 12, 13 y 14 contienen las características esenciales de las antiguas Reivindicaciones 14, 18, 19, 20 y 21, respectivamente.

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486, ya que éstas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud inicial, éstas por el contrario, corresponden a una drástica limitación de la materia reivindicada.

2. a- La Examinadora argumenta que el Capítulo Reivindicatorio no es claro ni conciso por lo siguiente:

- la Reivindicación 1 en cuanto el PEG supuestamente no está claramente definido y por la inclusión del porcentaje de identidad con la SEQ ID No: 1;
- la Reivindicación 2 en cuanto se definía por un porcentaje de identidad;
- las Reivindicaciones 5-14, en cuanto se refieren a expresiones que se consideran resultados a alcanzar;
- las Reivindicaciones 17-21 en cuanto éstas son reivindicaciones de proceso definidas en términos de su producto;
- la Reivindicación 22 en cuanto no define los ingredientes que conforman la composición;
- el término “aproximadamente” de las Reivindicaciones 1, 4, 15, 19 y 20.

b- Considero superadas las objeciones de claridad respecto a las Reivindicaciones 2, 5-14, 17-21 y 22, en cuanto estas fueron eliminadas e integradas a otras reivindicaciones, en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, tal y como se explicó en el punto 1 del presente memorial.

En particular, la Reivindicación 1 fue objetada porque PEG supuestamente no está claramente definido y por la inclusión del porcentaje de identidad con la secuencia SEQ ID N°: 1. Teniendo en cuenta esta observación, la Reivindicación 1 ha sido modificada para eliminar el porcentaje de identidad de secuencia y definir cómo PEG se conecta a L-asparaginasa.

La Reivindicación 2 fue rechazada por la inclusión del porcentaje de identidad. En consecuencia, esta reivindicación ha sido cancelada.

Las Reivindicaciones 5-14 fueron objetadas por referirse a las expresiones que se consideran resultados a ser alcanzados por la invención. Como consecuencia de tales observaciones, se eliminaron todos los términos que han sido objetados. Por tanto, las nuevas reivindicaciones sólo incluyen características estructurales y funcionales, lo cual se consideran absolutamente claras bajo la Decisión 486.

Las Reivindicaciones 17 a 21 fueron objetadas porque de acuerdo con la opinión de la Examinadora, no están claramente definidas. En particular, la Examinador indicó que una reivindicación de procedimiento debe ser definida por el conjunto de pasos y parámetros operativos. Por lo tanto, el método de las Reivindicaciones 8-12, corresponden a las Reivindicaciones originales 17 a 21, las cuales cumplen con los requisitos señalados por la Examinadora.

Finalmente, la Reivindicación 22, que se dirige a una composición fue cancelada de modo que las observaciones recaídas sobre la misma dejan de ser relevantes y se consideran superadas.

3. a- La Examinadora argumenta que los artículos “Modification of recombinant asparaginase from *Erwinia carotovora* with polyethylene glycol 5000”¹ (D1) y “Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of asparaginase formulations: the past, the present and recommendations for the future”² (D2) afectan el nivel inventivo de la presente invención.

La Examinadora afirma que D1 da a conocer un conjugado de L-asparaginasa de *Erwinia carotovora* con polietilenglicol. La Examinadora reconoce que la reivindicación 1 difiere de D1 porque define una L-asparaginasa tiene el aminoácido de SEQ ID NO: 1 y proviene de *Erwinia chrysanthemi*.

¹ A V Kuchumova et al., “[Modification of recombinant asparaginase from *Erwinia carotovora* with polyethylene glycol 5000],” *Biomeditsinskaia khimiia*, Vol 53, Ejemplar no. 1 (Febrero 2007): Páginas 107–111.

² Vassilios I Avramis and Eduard H Panosyan, “Pharmacokinetic/pharmacodynamic Relationships of Asparaginase Formulations: The Past, the Present and Recommendations for the Future,” *Clinical Pharmacokinetics* 44, no. 4 (2005): 367–93, doi:10.2165/00003088-200544040-00003.

Además, la Examinadora indica que el problema técnico objetivo que la presente invención trata de resolver refiere a cómo modificar el conjugado de D1 con el fin de obtener un conjugado alternativo de L-asparaginasa con PEG.

La Examinadora sostiene, además, que D2 resuelve las deficiencias de D1, ya que revela el uso de asparaginasa proveniente de *Erwinia chrysanthemi* en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda. Por lo tanto, la Examinadora concluye que una persona medianamente versada en la materia podría llegar a la materia definida en la Reivindicación 1 de manera obvia partiendo de las enseñanzas de D1 y D2. Del mismo modo, la Examinadora afirma que las reivindicaciones 2-22 carecen de nivel inventivo sobre las enseñanzas de D1 y D2.

b- En respuesta a lo anterior, me permito llamar respetuosamente la atención de la Examinadora sobre el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, en particular sobre la Reivindicación 1, la cual ha sido modificada para definir específicamente un conjugado que comprende una **L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*** que comprende la secuencia de aminoácidos de **SEQ ID NO: 1** y polietileno glicol (PEG), en el que el PEG tiene un peso molecular **inferior o igual a 5.000 Da** y el PEG está unido a los **grupos amino accesibles de los residuos de aminoácidos de lisina y/o N-terminal en la L-asparaginasa**. Ninguna de estas características técnicas (resaltadas en negrita) ha sido descrita o sugerida en los documentos citados.

Por otra parte, las diferencias entre la asparaginasa de diferentes especies hacen que sea poco probable que puedan combinarse las enseñanzas de estos dos documentos D1 y D2. D1 no enseña secuencia específica alguna de L-asparaginasa proveniente de *Erwinia chrysanthemi* o cualquier otra L-asparaginasa derivada de la especie *Erwinia chrysanthemi*.

Además, mientras que D1 indica que la L-asparaginasa de *Erwinia carotovora* puede ser "PEGilada", esta referencia no define la SEQ ID NO: 1 o el uso de PEG de 5000 Da. Por lo tanto, D1 no enseña adecuadamente la pegilación de la L-asparaginasa derivada de *Erwinia chrysanthemi*. La deficiencia de D1 no se subsana por medio de la divulgación de D2, que se limita a describir que la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* se puede utilizar para tratar la leucemia, pero no enseña secuencia específica alguna o la modulación de la capacidad inmunógena de la asparaginasa y la actividad enzimática por la conjugación con PEG.

Además, como se muestra en la Tabla 1 del Capítulo Descriptivo:

Tabla 1

Especies	No. de acceso a Genbank	% de identidad con <i>Erwinia chrysanthemi</i> NCPPB 1066
<i>Erwinia chrysanthemi</i> 3937	AAS67028	91%
<i>Erwinia chrysanthemi</i> NCPPB 1125	CAA31239	98%
<i>Erwinia carotovora</i> subesp. <i>Astroseptica</i>	AAS67027	75%
<i>Erwinia carotovora</i>	AAP92666	77%

existen múltiples especies de *Erwinia chrysanthemi* y sería difícil para una persona medianamente versada en la materia elegir la secuencia adecuada para ser conjugada.

La L-asparaginasa de diferentes especies puede tener características muy diferentes. Por ejemplo, las L-asparaginasa de *E. coli* y de *Erwinia chrysanthemi* pueden diferir en sus propiedades farmacocinéticas y tienen perfiles inmunogénicos distintos. En particular, el Ejemplo 9 del Capítulo Descriptivo describe los perfiles farmacocinéticos de pegaspargasa (Oncaspar®, una L-asparaginasa de *E.coli* conjugada con PEG 5000 Da) y de conjugados L-asparaginasa, en donde el conjugado PEG5000 Da - 100 % de forma inesperada y ventajosamente demuestra una vida media más larga que Oncaspar®.

Asimismo, me permito llamar la atención de la Examinadora sobre los datos de la Tabla 5 del Capítulo Descriptivo, los cuales demuestran que la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* conjugada con PEG Da 5000 muestra una acción más prolongada que Oncaspar ® como se comprueba por medio de una vida media más larga en todas las dosis probadas.

Tabla 5

	Erwinase®	2 kDa-100% mPEG-r-crisantaspasa	5kDa-100%mPEG-r-crisantaspasa	Oncaspar®
Dosis (µg/kg)	520	10 50	10 50	10 50

Dosis (U/kg)	5	5 25	5 25	1 5
T1/2 (h)	6	31 55	38 63	28 51
Duración de agotamiento de L-asparagina (días)	2	2-3 6	3-4 10+	3 8+

De esta manera, la persona medianamente versada en la materia esperaría que Oncaspar® tenga una vida media superior a la correspondiente L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* conjugada con PEG 5000 Da, dado que L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* nativa tiene una media vida más corta que la *E. coli* L-asparaginasa.

Sin embargo, como se demuestra en la Tabla 5, la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* conjugada con PEG 5000 Da mostró una vida media más larga que Oncaspar®, hecho que resulta inesperado. Ni D1 ni D2 describen tales efectos del conjugado de la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*. Por lo tanto, se entiende que la invención reivindicada no es obvia sobre las enseñanzas de D1 y D2.

Más aún, el conjugado reivindicado es distintivo con respecto a las enseñanzas de las referencias citadas en vista de su inesperada actividad *in vitro* después de la pegilación y una actividad enzimática residual en vivo, así como una inmunogenicidad reducida en sujetos humanos.

El conjugado de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* reivindicado tiene una mejor retención de la actividad *in vitro* de la asparaginasa en comparación con la L-asparaginasa de D1.

En particular, D1 describe la pegilación de asparaginasa de *E. carotovora*. Sin embargo, incluso los mejores resultados de D1 muestran que la asparaginasa conjugada retiene sólo el 57 % de la actividad *in vitro* original (véase resumen de D1).

En contraste, la presente invención, sin embargo, demuestra que la L-asparaginasa de *E. chrysanthemi* puede retener alrededor del 80 % (entre 78 % -87 %) de la actividad original (véase Tabla 2). Por lo tanto, los resultados alcanzados por la presente invención son muy superiores en comparación con D1. Es evidente que la presente invención demuestra sorprendentemente que con L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* conjugada con PEG de 5000 Da se incrementa la actividad enzimática residual *in vivo* en comparación con L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* conjugada con PEG de 10.000 Da.

Así mismo, hay que tener en cuenta que en la divulgación de la Figura 4 de la presente solicitud se demuestra que incrementando el tamaño de PEG a 10.000 Da no se detecta un aumento mayor de la actividad enzimática *in vivo* del conjugado, sino que más bien se observa una disminución de la actividad en comparación con el conjugado PEG 5000 Da.

Este resultado es inesperado porque una persona medianamente versada en la materia hubiese esperado que un conjugado de mayor tamaño, conjugado 10.000 Da, mejore la actividad en comparación con uno más pequeño, conjugado 5000 Da.

Ninguna de las referencias citadas describe que el tamaño del polietilenglicol sea crítico en la mejora de perfil fármaco-cinético, la potencia y la duración de la acción del conjugado, y la reducción de la inmunogenicidad.

Como se describe en los párrafos [0130]-[0133] del Capítulo Descriptivo, Ejemplo 10: Inmunogenicidad, el conjugado L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* reivindicado también demuestra una inmunogenicidad reducida cuando se compara con la L-asparaginasa no modificada. En particular, el Ejemplo 10 muestra que la producción de anticuerpos anti - conjugados se mantiene a baja intensidad y frecuencia en comparación con L-asparaginasa Erwinase® no pegilada. Ver también figuras 10 y 11.

Además, la presente solicitud describe que hay un equilibrio complejo entre la actividad *in vitro*, la potencia *in vivo*, y la inmunogenicidad de conjugado L-asparaginasa de *E. chrysanthemi* pegilado, y que los resultados ventajosos puede ser logrados en relación con cada una de estas propiedades si el **PEG tiene un peso molecular de menos de o igual a aproximadamente 5000 Da**. Véase el párrafo [0014]; Tabla 2; párrafo [0116], párrafo [0129]; y el párrafo [0134].

Evidentemente, ninguno de estos efectos técnicos beneficiosos puede ser considerado como meros efectos adicionales obvios, ya que son cruciales para resolver el problema técnico que subyace en la invención, en el sentido de que hubieran sido considerados importantes por cualquier persona medianamente versada en la materia en este campo de la invención que se enfrenta a la tarea de busca una mejor asparaginasa para el uso clínico.

Dicha persona medianamente versada en la materia no hubiese tenido expectativa razonable alguna en vista de D1 y D2 de lograr buenos resultados en relación con estas propiedades del conjugado, como así tampoco hubiese sabido cómo alcanzar dichos resultados.

En particular, la persona medianamente versada en la materia no podría encontrar ni en D1 ni en D2 motivación alguna que la conduzca en dirección de la conjugación de asparaginasa de *E.*

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

chrysanthemi con un PEG que tiene un peso molecular de **menos de o igual a aproximadamente 5000 Da.**

En resumen, a la luz de las modificaciones realizadas al Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto y los argumentos alegados en la presente respuesta, considero respetuosamente que la materia definida en las actuales reivindicaciones demuestra actividad inventiva sobre las enseñanzas de D1 y D2.

4. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por el Examinadora en su primer examen de fondo, han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad y proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

Anexos:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado.

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

(Primer Examen de Fondo)

1. Un conjugado que comprende una L - asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 y polietileno glicol (PEG), en donde el PEG tiene un peso molecular inferior o igual a 5.000 Da y en donde dicho PEG está unido a los grupos amino accesibles en los residuos de aminoácidos de lisina y/o en los N-terminales en la L-asparaginasa.
2. El conjugado de la Reivindicación 1, en donde dicho PEG tiene un peso molecular dentro del intervalo de al menos 500 Da.
3. El conjugado de la Reivindicación 2, en donde dicho PEG tiene un peso molecular de 5000 Da, menos de 5,000 Da, menos de 4,000 Da, menos de 3000 Da, o menos de 2.500 Da.
4. El conjugado de la Reivindicación 1, en donde dicha L-asparaginasa es idéntica a la SEC ID NO: 1 y dicho PEG tiene un peso molecular de 5000 Da.
5. El conjugado de la Reivindicación 1, en donde el PEG está unida a dicho uno o más grupos amino mediante un enlace amida.
6. El conjugado de una de las Reivindicaciones 1 a 5, que tiene la fórmula:
$$\text{Asp} - [\text{NH} - \text{CO} - (\text{CH}_2)_x - \text{CO} - \text{NH} - \text{PEG}]_n$$
en el que Asp es L-asparaginasa, NH es uno o más de los grupos NH de los residuos de lisina y/o el extremo N-terminal en la Asp, PEG es un resto de polietilenglicol, n es un número que representa al menos el 40 % al 100% de los grupos amino accesibles de la Asp, y x es un número entero que varía de 1 a 8, como ser x es un número entero de 2 a 5.
7. El conjugado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, en donde dicho PEG es monometoxi - polietileno.
8. El conjugado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7, en donde el PEG está vinculado al 40 % a 100 %, preferiblemente de 40 % a 90 %, de grupos amino totales.
9. El conjugado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, en donde el PEG está unido a los grupos amino por enlaces amida.

10

10. Un método para obtener el conjugado de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 9, donde dicho método comprende combinar una cantidad de un reactivo de PEG con una cantidad de dicha L-asparaginasa en una solución tamponada que tiene un valor de pH de entre 7,0 y 9,0, en donde la cantidad de dicho L-asparaginasa está a una concentración de proteína de entre 0,5 mg / ml y 25 mg / ml.
11. El método de la Reivindicación 10, donde dicha solución tamponada tiene un valor de pH de entre 7,5 y 8,5.
12. El método de la Reivindicación 10, donde la cantidad de dicha L-asparaginasa está a una concentración de proteína de entre 2 mg/ml y 20 mg/ml, preferentemente, entre 3 mg/ml y 15 mg/ml.
13. El método de la Reivindicación 10, donde la cantidad de dicho PEG es en exceso molar de polímero sobre los grupos amino en dichas L-asparaginasa de menos de 20:1, preferiblemente de menos de 10:1, más preferiblemente de menos de 8:01.
14. El método de cualquiera de las Reivindicaciones 10 a 13, donde dicho PEG es monometoxi-polietileno.
