

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-020409-00012-0000

Fecha: 2014-12-18 16:35:58

Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 523 RESPUESTA

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 12

Carlos R. Olarte
Juan G. Moure

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
Catalina Jiménez
Daniela González
Maritza Sierra
Gina A. Arias
Guillermo Parra

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente N° 12-020.409

Solicitud de Patente de Invención titulada: "CONJUGADO DE L-
ASPARAGINASA DE ERWINIA CHRYSANTHEMI CON PEG A TRAVÉS
DE LOS EXTREMOS NH DE LISINA Y ASPARAGINA"

Solicitante: ALIZE PHARMA II.

Nuestra Ref.: P2012/000012

Medellín
María C. Múnera
Eddie Manotas
Adrián Santamaría
Marilza P. Ruiz
Camilo A. Bernal

Barranquilla
Gina De Echeona

RESPUESTA AL OFICIO No. 9664, NOTIFICADO POR FIJACIÓN EN LISTA No. 032

DE FECHA 12 DE AGOSTO DE 2014

(SEGUNDO 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 el Capítulo Reivindicatorio presentado el 23 de abril de 2014.

Así las cosas, el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto contiene los siguientes cambios:

- se eliminaron las antiguas Reivindicaciones 2, 3, y 10-14;
- las nuevas Reivindicaciones 2-7 corresponden a las antiguas Reivindicaciones 4-9;
- la Reivindicación 1 ahora reclama "Un conjugado, caracterizado porque 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 de

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

5.000 Da o de 2000 Da y en donde dicho PEG está unido a los grupos amino accesibles en los residuos de aminoácidos de lisina y/o en los aminoácidos N-terminales en la L-asparaginasa y donde dicho conjugado tiene una actividad de agotamiento de L-asparagina *in vivo* que es al menos 50 veces más potente que la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* cuando no está conjugada con PEG”;

- se limitaron los pesos moleculares a específicamente 5000^e o 2000 Da en la Reivindicación 1;
- se modificó la Reivindicación 5 de acuerdo con las limitaciones incluidas en la Reivindicación 1;
- se limitó “x” como un número entero de 2 a 5 en la Reivindicación 6;
- se limitó a un rango de 40 a 90% de los grupos amino accesibles en la Reivindicación 8.

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. Por el contrario, éstas corresponden a una limitación de la materia reivindicada.

2. a- La Examinadora señala que el título no corresponde con el objeto de la solicitud porque es muy general.

b- Considero superada la anterior objeción en tanto que el título fue modificado de acuerdo con las sugerencias de la Examinadora, como se muestra a continuación:

“CONJUGADO DE L-ASPARAGINASA DE ERWINIA CHRYSANTHEMI CON PEG A TRAVÉS DE LOS EXTREMOS NH DE LISINA Y ASPARAGINA”

3. a- i) La Examinadora señala que el capítulo descriptivo no divulga la invención de manera completa, ni que la pegilación sea en cualquier aminoácido, ni tampoco que el PEG sea inferior o igual a 5000 Da. Adicionalmente, la Examinadora menciona que en el Capítulo Descriptivo se demuestra actividad únicamente para una pegilación de 40% o 100% de los grupos amino accesibles, mostrando los mejores resultados con un 100% de pegilación, así como solo se demuestra actividad *in vitro* del conjugado con PEG de 5000 Da, por lo que no se encuentra sustentada la actividad de los conjugados de asparaginasas con PEG de pesos moleculares inferiores a 5000 Da.

ii) La Examinadora argumenta que el Capítulo Reivindicatorio no es claro ni conciso por lo siguiente:

- la Reivindicación 1 caracteriza el polietilenglicol solamente por sus parámetros, el término “y/o” no permite saber si el péptido se pegila en todos los amino terminal de cualquier aminoácido que los tenga o si se pegila en todos los aminoácidos de lisina, y la caracterización del polietilenglicol no es concisa cuando se menciona que el peso molecular es inferior o igual a 5000 Da. La Examinadora sugiere definir el PEG por sus características estructurales, restringir la solicitud y definir con claridad la posición exacta en la secuencia en donde el PEG está unido a los grupos amino accesible, así como restringir la solicitud a los pesos moleculares de polietilenglicol que fueron probados y que tienen sustento en el Capítulo Descriptivo;
- el término “al menos” o “menos” de las Reivindicaciones 2 y 3 no permite distinguir la invención del estado de la técnica. La Examinadora sugiere sustituirlo por un término preciso o un rango concreto;
- la Reivindicación 5 no menciona la posición exacta en la secuencia de aminoácidos en donde el polietilenglicol está unido a los grupos amino por lo cual no permite distinguir la invención del estado de la técnica. La Examinadora sugiere sustituirlo por la posición exacta en la secuencia de aminoácidos;
- la Reivindicación 6 define “x” por un número que varía de 1 a 8 y NH por uno o más grupos de NH de los residuos de lisina, la referencia a porcentajes de identidad es imprecisa, por lo cual no permite distinguir la invención del estado de la técnica. La Examinadora recomienda eliminar la referencia a porcentajes de identidad y definir la posición exacta de los aminoácidos en donde se une el polietilenglicol;
- la Reivindicación 8 hace referencia a porcentajes de identidad, lo cual no permite distinguir la invención del estado de la técnica. La Examinadora recomienda eliminar los porcentajes de identidad;
- las Reivindicaciones 10-14 son reivindicaciones de proceso definidas en términos de su producto. La Examinadora sugiere definir la L-asparaginasa y el polietilenglicol por su estructura y definir las etapas en las que se realiza el método.

b- i) En primer lugar, llamo respetuosamente la atención de la Examinadora sobre las modificaciones realizadas al Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, tal como se explican en el punto 1 del presente memorial. Así, me permito señalar específicamente que se limitó el alcance de protección de dicho Capítulo Reivindicatorio mediante la definición de dos valores específicos de peso molecular de PEG: 5000 o 2000 Da, de acuerdo con los ejemplos aportados en el Capítulo Descriptivo.

De esta manera, y habiendo seguido las amables sugerencias de la Examinadora, considero que queda superada la objeción cuando se menciona que la caracterización del polietilenglicol no es concisa cuando el peso molecular es inferior o igual a 5000 Da.

ii) Con respecto a la claridad de la Reivindicación 1, me permito señalar que difiero de las afirmaciones hechas por la Examinadora como lo sustento a continuación:

En primer lugar, cuando la Examinadora sostiene que la única característica que define el PEG es el peso molecular, y que por lo tanto, esto no es suficiente para definir el PEG del conjugado reivindicado, sugiere entonces añadir otras propiedades para definir dicho componente, señalando que se deben establecer propiedades del material polimérico de interés. Sin embargo, como podrá apreciar la Examinadora, tales propiedades sugeridas (como el PM, la viscosidad y la resistencia) no se dan a conocer en las especificaciones originales. Pese a esto, resulta evidente que tales propiedades no son relevantes para las propiedades del conjugado aquí reclamado, porque las otras propiedades dependen en gran medida del peso molecular, las cuales son bien conocidas por la persona medianamente versada en la materia, por lo que a partir de la definición del peso molecular de PEG la persona medianamente versada en la materia, guiado por las especificaciones de la presente solicitud, sería capaz de llevar a la práctica y reproducir la presente invención en todo su alcance. Por lo tanto, sería innecesario añadir las otras limitaciones para definir el PEG, así como también limitaría innecesariamente el alcance reivindicado por la presente solicitud.

Por otro lado, me permito aclarar que el conector “y/o” utilizado en la Reivindicación 1, permite únicamente establecer que el PEG puede estar vinculado al aminoácido N-terminal, y no a cualquier aminoácido, y de acuerdo con lo definido en la nueva Reivindicación 1, el péptido L-asparaginasa puede estar pegilado en los grupos NH de los residuos de lisina y/o en el aminoácido N-terminal. Esto significa que hay tres posibilidades:

1. que la pegilación tenga lugar en los restos de lisina pero no en el aminoácido N-terminal amino,

2. que la pegilación tenga lugar en el aminoácido N-terminal, pero no en los residuos de lisina, y
3. que la pegilación tenga lugar en los residuos de lisina y en el aminoácido N-terminal.

Según lo anterior, el conector "y/o" permite definir claramente el alcance reivindicado.

iii) En cuanto al término "al menos" o "menos" de las Reivindicaciones 2 y 3, considero que las observaciones hechas por la Examinadora quedan superadas ya que dichas Reivindicaciones fueron eliminadas del Capítulo Reivindicatorio adjunto.

iv) En relación con la claridad de la Reivindicación 5, las posiciones de conexión PEG y L-asparaginasa se definen en la Reivindicación 1, la cual indica claramente donde PEG puede estar unido, por lo que considero superada la objeción hecha por la Examinadora.

v) Respecto a la Reivindicación 6, ésta ahora define "x" como un número entero entre 2 y 5, y además define NH claramente, debido a que el PEG se puede conectar a los grupos NH en los residuos de lisina y/o en los aminoácidos N-terminal.

vi) En cuanto a la supuesta falta de claridad de la Reivindicación 8, me permito aclarar que dicha reivindicación ahora reclama un rango entre el 40 y 90% de los grupos amino accesibles, y adicionalmente, esta no hace referencia alguna a porcentajes de identidad, por lo que objeción hecha por la Examinadora queda solventada.

vii) Finalmente, y como ya lo reseñaba en el primer punto del presente memorial, en el Capítulo Reivindicatorio Modificado se han eliminado las Reivindicaciones 10-14, por lo que las observaciones elevadas por la Examinadora sobre dichas reivindicaciones quedan superadas.

viii) Teniendo en cuenta todo lo anterior, considero respetuosamente que el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto cumple con los requisitos de claridad y concisión establecidos en la Decisión 486, y a la luz del Manual Andino de Patentes (MAP) y la Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad de la SIC, permitiéndole a la persona medianamente versada en la materia comprender inequívocamente el alcance de la materia reclamada.

4. a- La Examinadora señala que el artículo "Modification of recombinant asparaginase from *Erwinia carotovora* with polyethylene glycol 5000"¹ (D1) y la patente US 5310670 (D3) afectan el nivel inventivo de la presente invención definida en la Reivindicación 1.

i) La Examinadora considera que D1 es el estado de la técnica más cercano a la presente invención, ya que divulga un conjugado de L-asparaginasa de *Erwinia carotovora* con polietilenglicol, en aminoácidos de residuos de lisina usando mPEG-p-nitrofenil-carbonato; y un método para la obtención del conjugado que comprende conjugar PEG con L-asparaginasa (10mg) a PH 8.0-9.5.

La Examinadora sostiene que la diferencia entre la invención y D1 consiste en la SEQ ID NO: 1 de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*. Sin embargo, para la Examinadora no es claro el efecto técnico que logra el incluir la SEQ ID NO: 1 de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*. Por lo tanto, el problema técnico que pretende resolver esta invención se puede formular así: "cómo modificar el conjugado conocido en D1 para conseguir un conjugado alternativo de L-asparaginasa con polietilenglicol".

Sin embargo, la Examinadora señala que la utilización de asparaginastas de la especie *Erwinia chrysanthemi*, ya está divulgada en D3, el cual se refiere al uso de asparaginastas de *E. chrysanthemi* para el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda, en donde la asparaginasa tiene un 100% de identidad con la secuencia SEQ ID NO: 1 de la solicitud (Pág. 4, Col. 1). Adicionalmente, la Examinadora sostiene que el efecto técnico del aumento en la vida media es respuesta a la conjugación con el PEG como se encuentra divulgado en D1 (Resumen), y por tanto el efecto asociado a la conjugación es bien conocido por las personas versadas en la materia de acuerdo a lo reportado en la literatura.

En consecuencia, la Examinadora concluye que la persona medianamente versada en la materia, incluiría el uso de asparaginastas con SEQ ID NO: 1 de *E. chrysanthemi* de D3, en el conjugado divulgado en D1 para llegar así al objeto de la Reivindicación 1 de la presente solicitud. Por lo cual, la Examinadora considera obvia dicha reivindicación, así como las Reivindicaciones 2-14.

b- i) En primer lugar, agradezco la opinión favorable de la Examinadora puesto que ha reconocido el cumplimiento del requisito de novedad. Sin embargo, la Examinadora

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

sostiene que las Reivindicaciones originales 1 a 14 no son inventivas con respecto a las enseñanzas de D1 y D3.

No obstante ello, considero importante señalar lo siguiente:

En primer lugar, de acuerdo con la nueva Reivindicación 1, el conjugado pegilado tiene al menos cincuenta (50) veces más actividad L-asparaginasa in vivo en comparación con L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* no conjugada con PEG, lo cual encuentra soporte en la Figura 4, en el Ejemplo 5 y en el Ejemplo 7 del Capítulo Descriptivo.

Por su parte, D1 divulga un conjugado de L-asparaginasa de *Erwinia carotovora* con polietilenglicol, mientras que D3 describe el uso de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.

La Examinadora argumenta que D1 revela los efectos técnicos de la pegilación, específicamente el aumento de la vida media, la reducción de la inmunogenicidad y la actividad enzimática residual. Sin embargo, D1 no revela ni sugiere estos efectos, ya que D1 se limita a mencionar la actividad in vitro de L-asparaginasa *Erwinia carotova* pegilada con **resultados muy inferiores en comparación con la presente invención.**

Por el contrario, la presente solicitud, da a conocer que la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* conjugada con PEG de 5.000 o 2.000 Da, tiene una mejor retención de la actividad in vitro y, mucho más importante, al menos 50 veces más actividad in vivo en comparación con la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* cuando no está conjugada con PEG (tal como se define en la nueva Reivindicación 1). Dicha característica no se describe ni se sugiere en ninguno de los documentos citados. Por lo tanto, el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto reviste nivel inventivo sobre las enseñanzas de D1 y D3.

De otra parte, D3 sugiere el uso de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*, pero no describe la pegilación y los efectos de la pegilación sobre la actividad de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*, tal como lo reconoce la Examinadora.

De hecho, es importante mencionar que los resultados de la pegilación pueden ser integrales y son un complejo equilibrio entre la actividad in vitro, la potencia in vivo, y la inmunogenicidad de L-asparaginasa de *E. chrysanthemi* pegilada. A lo que vale la pena agregar que los resultados

ventajosos se pueden lograr en relación con cada una de estas propiedades, (página 10, Tabla 2 página 67; párrafo [0116] página 71, párrafo [0129] página 80; y párrafo [0134] página 81).

Por lo tanto, los efectos técnicos beneficiosos de la presente invención son cruciales para resolver el problema técnico objetivo, por lo que una persona medianamente versada en la materia no podría predecir los beneficios de la conjugación de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* basado en la divulgación de *Erwinia carotovora*, a la luz del delicado equilibrio entre las diversas propiedades y la diferencia de L-asparaginasa de diferentes especies, especialmente para hacer una asparaginasa mejorada para uso clínico.

Adicionalmente, teniendo en cuenta la Tabla 1 del Capítulo Descriptivo, se puede observar que existen múltiples *Erwinia chrysanthemi* y, por lo tanto sería difícil para una persona medianamente versada en la materia elegir la secuencia adecuada para ser conjugada.

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 subesp. Astroseptica</i>	AAS67027	75%
<i>Erwinia carotovora</i>	AAP92666	77%

Es importante considerar también que la L-asparaginasa de diferentes especies puede tener características muy diferentes. Por ejemplo, los L-asparaginasas de *E. coli* y de *Erwinia chrysanthemi* pueden diferir en sus propiedades farmacocinéticas y tener perfiles inmunogénicos distintos.

En particular, el Ejemplo 9 del Capítulo Descriptivo describe los perfiles fármacocinéticos de pegaspargasa (Oncaspar®, una L-asparaginasa de *E.coli* conjugada con PEG 5000 Da) y de conjugados L-asparaginasas, en donde el conjugado PEG5000 Da-100 % de forma inesperada y ventajosamente demuestra una vida media más larga que Oncaspar®. Asimismo, los datos de la Tabla 5 del Capítulo Descriptivo demuestran que la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* conjugada con PEG Da 5000 tiene una acción más prolongada que Oncaspar®, lo cual 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+

Por lo tanto, la persona medianamente versada en la materia esperaría que Oncaspar® tuviera 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 totalmente sorprende e inesperado.

Por otro lado, la Examinadora indica que no se pueden proporcionar datos comparativos que muestren los efectos de la pegilación de L-asparaginasa de diferentes especies de Erwinia. Difiero respetuosamente de las afirmaciones hechas por la Examinadora, ya que considero estos datos innecesarios, porque la comparación entre L-asparaginasa de Erwinia chrysanthemi y de E. coli, ya indica claramente que una persona medianamente versada en la materia no tendría ninguna expectativa razonable de que al reemplazar una L-asparaginasa por otra pueda alcanzar resultados similares o incluso superiores a través de pegilación.

Sin embargo, la Examinadora desestimó los anteriores argumentos al afirmar que la retención del 78% en la actividad in vitro no es tan alta, comparado con una retención del 57% divulgada en D1. Me permito respetuosamente diferir de dicha afirmación, ya que los resultados alcanzados son drásticamente diferentes y demuestran una actividad in vivo 50 veces más potente, por lo que dichos resultados deberían cumplir los estándares exigidos por la Examinadora, especialmente en vista del hecho de que D1 no enseña ni sugiere cualquier aspecto de la actividad in vivo. Adicionalmente, la actividad in vivo alcanzada es sorprendente debido al aumento significativo, y la cual no ha sido descrita en el arte previo antes de la fecha efectiva de la presente solicitud. Es así como los resultados sorprendentes alcanzados con L-asparaginasa de Erwinia chrysanthemi de la SEQ ID NO: 1 conjugada con PEG de 5000 Da, demuestran que se ha incrementado la actividad enzimática residual in vivo en comparación con L-asparaginasa de Erwinia chrysanthemi conjugada con PEG de 10.000 Da.

Adicionalmente, a partir de la Figura 4 y los párrafos [0116] a [0118] del Capítulo Descriptivo, se demuestra que el aumento del tamaño de PEG a 10.000 Da, no produce un aumento mayor de la actividad enzimática *in vivo* del conjugado, por el contrario disminuye la actividad en comparación con la actividad alcanzada con el conjugado con PEG de 5000 Da. Dicho efecto es inesperado, ya que una persona medianamente versada en la materia hubiese esperado que un conjugado de mayor tamaño (10.000 Da) exhibiera una mejor actividad, en comparación con un conjugado más pequeño (5000 Da).

Asimismo, y como ya lo he mencionado anteriormente, ninguno de los documentos citados por la Examinadora enseña que el tamaño del polietilenglicol es crítico en la mejora de perfil fármaco-cinético, la potencia y duración de acción del conjugado, y la reducción de la inmunogenicidad.

Tal como se describe en los párrafos [0130]-[0133] y Ejemplo 10: Inmunogenicidad del Capítulo Descriptivo, 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** (párrafo [0014]; Tabla 2; párrafo [0116], párrafo [0129]; y párrafo [0134]).

Por lo tanto, ninguno de estos efectos técnicos beneficiosos pueden ser considerados 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 buscar una mejor asparaginasa para el uso clínico.

La persona medianamente versada en la materia no hubiese tenido expectativa razonable alguna en vista de D1 y D3 de lograr buenos resultados, en relación con estas propiedades del conjugado, así como tampoco hubiese sabido cómo alcanzar dichos resultados. En particular, la persona medianamente versada en la materia no podría encontrar en D1 ni D3, motivación

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

alguna que la conduzca en dirección de la conjugación de asparaginasa de *E. chrysanthemi* con un PEG que tiene un peso molecular de **5000 Da o 2000 Da**.

En resumen, a la luz de las modificaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio adjunto y los argumentos expuestos anteriormente, considero que la materia reclamada en la presente invención reviste nivel inventivo sobre las enseñanzas de D1 y D3.

5. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por la Examinadora en su segundo 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.

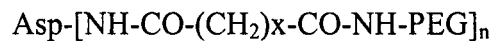
CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Segundo Examen de Fondo)

1. Un conjugado, caracterizado porque 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 de 5.000 Da o de 2000 Da y en donde dicho PEG está unido a los grupos amino accesibles en los residuos de aminoácidos de lisina y/o en los aminoácidos N-terminales en la L-asparaginasa y donde dicho conjugado tiene una actividad de agotamiento de L-asparagina *in vivo* que es al menos 50 veces más potente que la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* cuando no está conjugada con PEG.

2. El conjugado de la Reivindicación 1, caracterizado porque dicha L-asparaginasa es idéntica a la SEQ ID NO: 1 y dicho PEG tiene un peso molecular de 5000 Da.

3. El conjugado de la Reivindicación 1, caracterizado porque el PEG está unido a dichos grupos amino mediante un enlace amida.

4. El conjugado de una de las Reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque tiene la fórmula:



en la que Asp es L-asparaginasa, NH es uno o más de los grupos NH de los residuos de lisina y/o aminoácidos N-terminal en la Asp, PEG es un resto de polietilenglicol, n es un número que representa desde el 40% al 100% de los grupos amino accesibles de la Asp, y x es un número entero que varía de 2 a 5.

5. El conjugado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque dicho PEG es monometoxi-polietileno.

6. El conjugado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque el PEG está vinculado al 40 % a 90 % de grupos amino accesibles.

7. El conjugado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el PEG está unido a los grupos amino por enlaces amida.
