



Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

06-50041

54. TÍTULO

PREPARACION FARMACEUTICA QUE COMPRENDE UN ANTICUERPO
CONTRA EL RECEPTOR EGF

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A61K47/18, 47/32, 47/30,
A61K47/02, 47/06, A61K39/395, 9/08, A61P35/00

71. SOLICITANTE

MERCK PATENT GMBH

DOMICILIO

DARMSTADT 64293, REPUBLICA FEDERAL DE ALEMANIA

74. APODERADO

EMILIO FERRERO
C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,


Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 06-050041-00000-0000

Fea: 2006-05-24 17:34:46 Dep. 2020 NUECREACIONE

Tra. 11 PATENTEMII

Bre: 376 FASENACIONAL

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL 24-05-06
SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

 Nombre: **MERCK PATENT GMBH**
sociedad constituida y existente bajo las
leyes de República Federal de Alemania.

 Dirección: Frankfurter Strasse 250
Darmstadt 64293
República Federal de Alemania

 Domicilio: Darmstadt 64293
República Federal de Alemania

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

 Nombre: **EMILIO FERRERO**
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 88 60
E-mail: clientes@camyp.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

 Número 438.019 T.P 31.929

4

INVENTOR (ES)
(72)

 1. **Hanns-Christian MAHLER**
Buschungstrasse 54a
Wiesbaden 65205
República Federal de Alemania

 2. **Robert MÜLLER**
Alte Bergstrasse 54
Alsbach-Hähnlein 64685
República Federal de Alemania

5

PCT (86)

 Solicitud Internacional No. PCT/EP2004/012044

 Fecha: 26 de octubre de 2004

 Publicación Internacional No. WO 2005/058365 A1

 Fecha: 30 de junio de 2005

6

Título (54)
PREPARACION FARMACEUTICA QUE COMPRENDE UN ANTICUERPO CONTRA EL RECEPTOR EGF

7

Clasificación Internacional (51) A61K 47/18, 47/32, 47/30, 47/02, 47/06,
A61K 39/395, 9/07, A61P 35/00

8

Prioridad

 SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

DE

(32) Fecha

26 de noviembre de 2003

(31) Número de Solicitud

103 55 251.0

9

 Comprobante de pago No.: 06-36.147

 Fecha: 15 de mayo de 2006

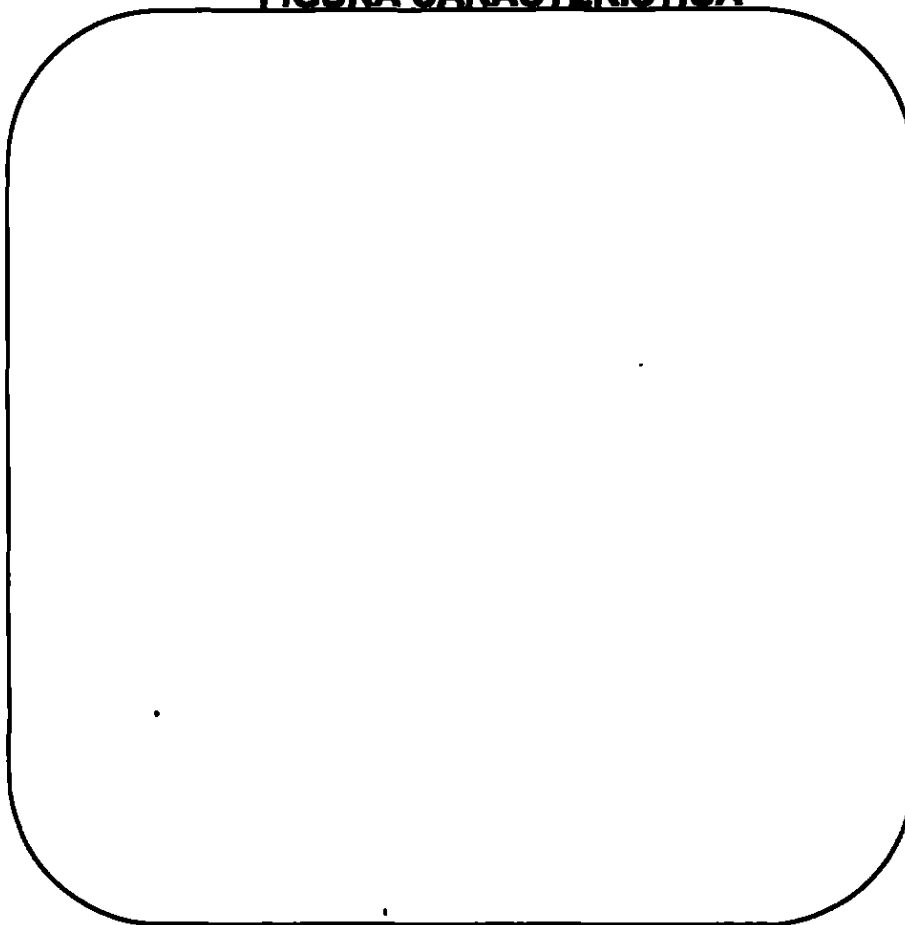
10

Anex s:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente.

NOMBRE:

EMILIO FERRERO

FIRMA:

Emilio Ferrero

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2004/087706 A1
2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.
3. ☒ Extracto de publicación.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER- F- ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

MERCK PATENT GMBH

domiciliado (s) en/of Frankfurter Strasse 250, 64293

Darmstadt, República Federal de Alemania

Hereby ratify the patent applications numbers 05.099.907 and 05.105.366 filed by Emilio Ferrero on October 3 and 14, 2005, respectively, and

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidad o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, encefías, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall declare their intention not to exercise representation through a declaration, before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official, or Consul abroad; and in case of impediment, the appointment certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate representative ceases, the representation can be taken again by their sequence by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters

estos derechos, acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, denegar, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, deny, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this _____
en/in _____
por/by _____

Firma

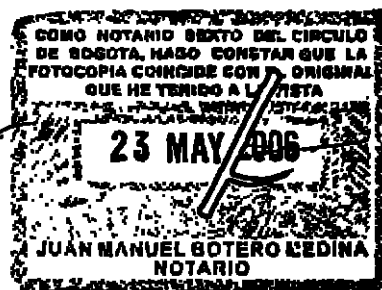
Signature

Merck Patent GmbH
i.V.

i.V.


Dr. Eiermann


Dr. Lang



CERTIFICACION NOTARIAL (SOCIEDAD)

El infrascrito Notario Certifica: Que la firma que antecede de Dr. Volker Eiermann y Dr. Ulrich Lang es auténtica; que el signatario desempeña actualmente el cargo de Representantes

de la compañía MERCK PATENT GMBH

sociedad que actualmente existe y está organizada de acuerdo a las leyes de la República Federal de Alemania

que la dirección de dicha compañía es Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt, República Federal de Alemania

y que el signatario tiene facultad para otorgar este documento.

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.

Dado y firmado en Darmstadt

El 14 noviembre 2005

NOTARIAL CERTIFICATION (COMPANY)

The undersigned Notary certifies: That the preceding signature of Dr. Volker Eiermann and Dr. Ulrich Lang is authentic, that the signatory currently acts in the position of Representatives

of the company MERCK PATENT GMBH

a company currently existing and organized under the laws of Germany

that the address is Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt, Germany

and that the signatory has the power to grant this document.

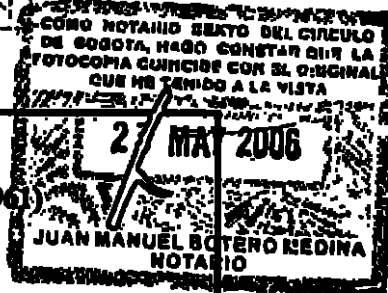
The Notary Public is aware and attests to the above facts upon examination of the corresponding documents.

Given and signed in Darmstadt

On 14. NOV. 2005

El Notario Público
(Firma-sello)

The Notary Public
(Signature-seal)



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country:
2. This public document
3. has been signed by
4. acting in the capacity of
5. bears the seal/stamp of

Certified

6. the :
7. by
8. No.
9. Seal/stamp
10. Signature

.....

.....

File No. 580/2005

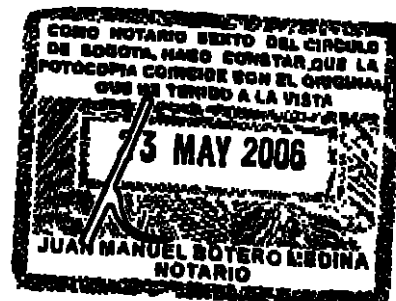
I hereby certify, that the above are the true signatures, subscribed today at
Frankfurter Straße 250 in Darmstadt in my presence, of

- 1) Mr. Dr. Volker E l e r m a n n
- 2) Mr. Dr. Ulrich L a n g

business address: D-64283 Darmstadt, Frankfurter Straße 250,
both identified by German identity card.

The notary public asked the appeared whether he or any member of his
firm hat acted in the matter which is the subject of this instrument, except in
a notarial matter. The appeared denied.

Darmstadt, the 14th day of November 2005



Alexander Pfeiffer
Pfeiffer -
notary Public

APOSTILLE (Convention de La Haye du 5 octobre 1961)	
1. Land: Bundesrepublik Deutschland	Diese öffentliche Urkunde
2. ist unterschrieben von	<i>Alexander Pfeiffer</i>
3. in seiner Eigenschaft als	Notar
4. sie ist versehen mit dem Siegel / Stempel des	Notars
<i>Alexander Pfeiffer in Darmstadt</i>	
Bestätigt	
5. in Darmstadt	0 371 11. 6. Nov. 2005
7. durch den Präsidenten des Landgerichts	
8. Land: 910 E 2/1 -	<i>19.30.105</i>
9. Siegel / Stempel	10. Unterschrift
	<i>In Vertretung</i>
	<i>Schichor</i>
	Vizepräsidentin



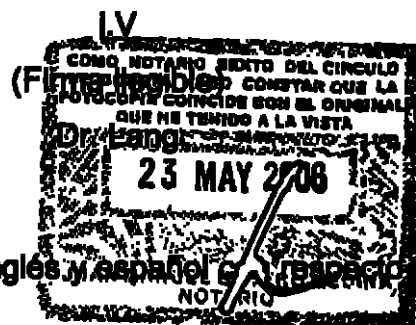
8

TRADUCCIÓN FICIAL N . 03.12/05 preparada por María Elvira Martelo, traductora oficial aprobada por el Ministerio de Justicia mediante resolución 2879 de 1999 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento de Representación y Poder escrito en Inglés y español, por el cual **MERCK PATENT GMBH**, domiciliada en Frankfurter Strasse 250, 64293, Darmstadt, República Federal de Alemania, ratifica las solicitudes de patente números 05.099.907 y 05.105.366 presentadas por Emilio FERRERO los días 3 y 14 de octubre, respectivamente, de 2005, y otorga poder a **EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ y GERMÁN CAVELIER**.

Merck Patent GmbH

I.V.
(Firma ilegible)
Dr. Eiernann



CERTIFICACIÓN NOTARIAL (SOCIEDAD) otorgada en Inglés y español, en presencia de la autenticidad de las firmas del Dr. Volker Eiernann y del Dr. Ulrich Lang y la existencia legal de **MERCK PATENT GMBH**.

Dado en Darmstadt el 14 de noviembre de 2005

Expediente No. 580/2005

Por el presente certifico que las anteriores son las firmas genuinas, otorgadas hoy en Frankfurter Strasse 250, Darmstadt, en presencia por

1. Sr. Dr. Volker Eiernann
2. Sr. Dr. Ulrich Lang

Dirección comercial: D-64293 Darmstadt, Frankfurter Strasse 250, ambos identificados con tarjeta de Identidad de Alemania.

9 -
El notario público preguntó a cada uno de los comparecientes si él o algún miembro de su firma había actuado en el asunto objeto de este Instrumento de alguna forma diferente a un asunto notarial. Los comparecientes respondieron que no.

Darmstadt, 14 de noviembre de 2005

(Firma ilegible)

(Sello del Sr. ALEXANDER PFEIFFER, Pfeiffer

NOTARIO DE DARMSTADT

Notario público

Apostilla otorgada en la República Federal de Alemania el 16 de noviembre de 2005
bajo el No. 910 E 2/1 - 1930/05.

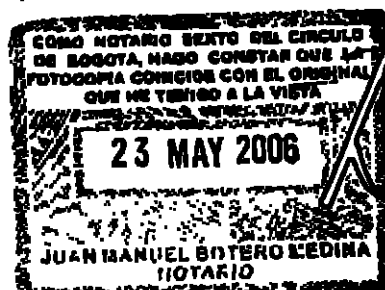
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en la oficina para su confrontación.

COLO 09266-841-011-8

WPCL 9266 - ID 405

DIC 07/05

Maria E. Martelo
TRADUCCION No. 03
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia



RECEIVED
FEB 23 2006
NOTARY PUBLIC
JUAN MANUEL BOTERO MEDINA

300312
RECEIVED
FEB 23 2006
NOTARY PUBLIC
JUAN MANUEL BOTERO MEDINA

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
 BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE
Maria Elvira Martelo
 COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
 EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
 SANTAFE DE BOGOTA, 12 DIC 2005

MARIA
 PABLO MENDEZ
 BARAHO

EN SE ASUME
 RESPONDE DEL VOTO
 23 DE 12 P. 45
 EFECTUANDO
 VOTABLE

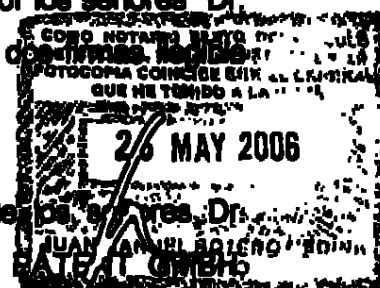
MINISTERIO DE
 RELACIONES EXTERIORES
 396378
 Maria Martelo
 COTA FIRMA ADELE EL EL
 MARCHED DE SEPTIMA
 LAS FUENTES MARCHEDAS

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO
 DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
 FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
 QUE HE TENIDO A VISTA
 23 MAY 2006
 JUAN MANUEL BOTERO MEDINA
 NOTARIO

TRADUCCION OFICIAL No. 11059

de un documento escrito en Alemán, efectuada por Luz Arriaga de Herber, resolución del Ministerio de Justicia 599 del 8 de marzo 1978.-

Traducción de la legalización y apostilla en alemán que se encuentran a continuación de un documento de ratificación, representación y poder, escrito en español e inglés, por medio del cual MERCK PATENT GMBH, domiciliada en Frankfurter Strasse 250, 64293, Darmstad, República Federal de Alemania, ratifica las solicitudes de patentes No. 05.099.907 y 05.105.366 presentadas por Emilio Ferrero el 3 y 14 de octubre 2005, respectivamente, y nombra como sus representantes a EMILIO FERRERO tpa 31929, GONZALO PERDOMO tpa 831, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa 832, domiciliados en la Carrera 4. No. 72-35, Bogotá. Dado y firmado por los señores Dr. Eiermann y Dr. Lang, representantes legales de dicha firma. Hay dos firmas ilegibles de los mencionados señores.



Sigue certificación notarial en español e inglés de las firmas de los señores Dr. Eiermann y Dr. Lang, como representantes legales de MERCK PATENT GMBH, domiciliada en Frankfurter Strasse 250, 64293, Darmstad, y de la existencia de la sociedad, por el notario de Darmstadt, Alexander Pfeiffer, el 14 de noviembre de 2005.- Fdo.: firma ilegible.- (sello redondo en tinta) Alexander Pfeiffer – notario de Darmstadt.

Sigue certificación solamente en inglés de las firmas de los señores Dr. Eiermann y Dr. Lang, como representantes legales de MERCK PATENT GMBH, por el notario de Darmstadt, Alexander Pfeiffer, el 14 de noviembre de 2005.- Fdo.: firma ilegible.- (sello redondo en tinta) Alexander Pfeiffer – notario de Darmstadt, bajo el No. 580/2005, del 14 de noviembre de 2005.

LUZ ARRIAGA DE HERBER
TRADUCCION E INTERPRETE OFICIAL
[Firma]
Resolución No 599 Ministerio de Justicia

— 11 —

- ## Certificado

- ## 10. Firma

Foto legible de Juan Manuel Boter, como militante sexto del círculo de Bogotá, luego con el que la Sincronía coincide con el original que he tenido a la vista

capresidencia

23 MAY 2006

JUAN MANUEL BOTER, PRESIDENTE

esta copia en los archivos de

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

Bogotá, 9 de diciembre de 2005

C. 2013

LUIZ ARRIAGA DE HEREDIA
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
[Signature]
 Resolución No. 589 Niglasda

LOS ANJALIA DE HERBER
TRANSLADOR E INTERPRETE OFICIAL
Herber Los Angeles
Registration No. 599 N. J. 10000

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE

Luiz Prieta de
Herber

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA SANTAFE DE BOGOTA. 13 DIC 2005



NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 DIC 13 P 2:00

OFF DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA B.C.

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

320632

COPIA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPLEA LAS FUNCIONES INDICADAS

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA

23 MAR 2006

JUAN MANUEL BOTERO MEDINA
NOTARIO

DECLARATION OF INVENTORSHIP

WITH ASSIGNMENT

We, the undersigned

Dr. Hanns-Christian Mahler
Mr. Robert Mueller

citizens of
Germany

residing at
Frankfurter Str. 250
64293 Darmstadt

by these presents declare under oath to be the
sole and true inventors of the invention titled:

and to transfer in full property without reservation
or limitation whatsoever all our rights on same to

Merck Patent GmbH
Darmstadt

residing at
Darmstadt

who may apply for and obtain its own name the
registration of the corresponding patent in the
Republic of Columbia, holding all the corres-
ponding rights.

Granted and signed at

on

INVENTORS:


Dr. Hanns-Christian Mahler

Mr. Robert Mueller

DECLARACION DE INVENTORES

CON TRANSFERENCIA

Nosotros,

Dr. Hanns-Christian Mahler
Mr. Robert Mueller

de nacionalidad

Alemania

domiciliados en

Frankfurter Str. 250
64293 Darmstadt

por el presente documento declaramos bajo jura-
mento ser los únicos y verdaderos inventores de la
invención titulada:

PREPARACION FARMACEUTICA QUE COMPRENDE UN
ANTICUERPO CONTRA EL RECEPTOR EGF

y que cedemos en plena propiedad y sin reserva ni
limitación alguna todos nuestros derechos sobre la
misma a

MERCK PATENT GmbH
Darmstadt

domiciliada en

Darmstadt

quien podrá solicitar y obtener a su nombre el re-
gistro de la patente correspondiente en la Repúbl-
ca de Columbia ejerciendo todos los derechos
que a ello correspondan.

Dado y firmado en

a los días del mes de de 20

INVENTORES:

No. 584 of the document scroll for 2004 (E)

I hereby certify that the foregoing document was signed in my presence by

1. Mr. Hanne-Christian Mahler, identified by German identity card,
2. Mr. Robert Müller, personally known to me,

business address of both: D-64283 Darmstadt, Frankfurter Straße 250.

The notary public asked the appeared whether he or any member of his firm had acted in the matter which is the subject of this instrument, except in a notarial matter. Both of the appeared denied.

Darmstadt, this 16th day of August 2004




(Dr. Ebner, notary public)

Kostenberechnung

Geschäftswert € 1.470,00

Gebühr gem. §§ 32, 46 KostO

(Unterschriftbeglaubigung)

Auslagen gem. §§ 137, 152 KostO

16 % MwSt.

Gesamt

€ 10,00

€ 2,56

€ 2,01

€ 14,57


(Dr. Ebner, notary public)

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Land: Bundesrepublik Deutschland
Diese öffentliche Urkunde
2. ist unterschrieben von Dr. Wolfgang Ebner
3. in seiner Eigenschaft als Notar
4. sie ist versehen mit dem Siegel/Stempel des Notars
Dr. Wolfgang Ebner in Darmstadt

Bestätigt 18. Aug. 2004

5. in Darmstadt
6. am
7. durch den Präsidenten des Landgerichts
8. unter 910 E 2/1 - 23.07.04
9. Siegel/Stempel
10. Unterschrift

Im Auftrag

Wolfgangreuther
Vorsitzender Richter



TRADUCCION OFICIAL No. 11314

de un documento escrito en Alemán, efectuada por Luz Arriaga de Herber, resolución del Ministerio de Justicia 599 del 6 de marzo 1978.-

Traducción de los sellos y autenticaciones en alemán que aparecen a continuación de un documento de Ceslón, escrito en español e inglés, por medio del cual los señores Hanna-Christian Mahler y Robert Müller, inventores, domiciliados en Darmstadt, Alemania, ceden a MERCK PATENT GmbH, domiciliada en Darmstadt, Alemania los sobre la Invención PREPARACIÓN FARMACEUTICA QUE COMPRENDE UN ANTICUERPO CONTRA EL RECEPTOR EGF.

Sigue legalización en inglés de las firmas de los mencionados señores por el notario de Darmstadt, Dr. Ebner, el 16 de agosto de 2004 bajo el No. 584 de 2004 (E). Fdo.: firma ilegible.- Hilo y oblas notarial.

Costas

Valor del negocio: € 1.470.00

Derechos Art. 32, 45 KostO

€ 10,00

(legalización de firma)

Gastos seg. Art. 137, 152 KostO

€ 2,58

16% IVA

€ 2,01

Total

€ 14,57

Fdo.: firma ilegible

APOSTILLE

(Convention de La Haya du 5 octobre 1961)

1. País: República Federal de Alemania

Este documento público

2. Ha sido firmado por el Dr. Wolfgang Ebner

3. Actuando en calidad de notario

4. Lleva el sello oficial del notario de Darmstadt, Dr. Wolfgang Ebner

Luz Arriaga de Herber
TRADUCCION E INTERPRETE OFICIAL

Resolución No.599 Minjusticia

LS.

Certificado

5. en Darmstadt
7. por el Presidente del Tribunal Regional
8. bajo el No 910 E 2/1 2307/04
9. Sello
(sello redondo No.3, en tinta –)
El Presidente del Tribunal Regional
de Darmstadt)

6. el 18 de agosto de 2004

10. Firma

Fdo.: ilegible
Wellenreuther
Juez Presidente

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

Bogotá, 21 de abril de 2006.
C. 1382

LUZ ARRIAGA BERNER
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
Resolución No.598
[Firma]
01 MAY 2006 11:13 AM
CALLE 100 No. 100-100

20060421 10:30 AM
EX-FAVOR
881288
BOGOTÁ, D.C. 100-100

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO.

2006 APR 26 P 1:17

LOS
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

PROCESAMIENTO DE RELACIONES
EXTERIORES

887549
Luz Amieaga
COTÁ FORMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPLEA
LAS FUNCIONES INDICADAS

COMO NOTARIO TEXTO DEL CIRCULO DE
BOGOTA HAGO CONSTAR QUE LA(S)
Luz Amieaga
Los
COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA.
26 ABR 2006



TRADUCCIÓN OFICIAL 110/2006 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLÉS Y EN ESPAÑOL, REALIZADA POR EDUARDO CALADO NOGUERA, TRADUCTOR OFICIAL APROBADO POR RESOLUCIÓN 541 DEL 27 DE FEBRERO DE 1976 POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEBIDAMENTE REGISTRADO ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA Y MEDIANTE EL CUAL DR. HANNS-CHRISTIAN MAHLER Y ROBERT MUELLER, AMBOS DE NACIONALIDAD ALEMANA Y DOMICILIADOS EN FRANKFURTER STR. 250 64293 DARMSTADT, INVENTORES ÚNICOS Y VERDADEROS DE LA INVENCIÓN: PREPARACIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE UN ANTICUERPO CONTRA EL RECEPTOR EGF, DECLARAN POR EL PRESENTE QUE CEDEN DICHA INVENCIÓN A MERCK PATENT GMBH, DARMSTADT, EMPRESA DOMICILIADA EN DARMSTADT Y QUE DICHA COMPAÑÍA QUEDA FACULTADA PARA SOLICITAR EN SU NOMBRE LA PATENTE CORRESPONDIENTE EN LA REPÚBLICA DE COLOMBIA Y EJERCER TODOS LOS DERECHOS QUE A ELLO CORRESPONDE.

DADO Y FIRMADO HOY 14 DE ENERO DE 2002.

DOS FIRMAS ILEGIBLES

DR. HANNS-CHRISTIAN MAHLER Y ROBERT MUELLER

NÚMERO 584 DEL REGISTRO DE DOCUMENTOS PARA 2004 (E)

Por el presente certifico que el documento precedente fue firmado en mi presencia por

1. el señor HANNS-CHRISTIAN MAHLER, identificado con tarjeta de identidad alemana y

2. el señor ROBERT MÜLLER, conocido personalmente por mi

ambos domiciliados en D-64293 Darmstadt, Frankfurter Strasse 250

El notario público preguntó a los comparecientes si él o algún miembro de su firma habían actuado en el asunto de que es tema este documento, excepto en asuntos notariales. Ambos comparecientes negaron esto.

Darmstad, 16 de agosto de 2004.

Firmado: DR. EBNER, notario público

Apostilla número 910 E 2/1 2307/04

COLO-9266-841-015-9

WPCL002G. ID 7725

Bogotá, 25 de abril de 2006.

Eduardo Calado N.
Eduardo Calado Noguera
"TRADUCTOR OFICIAL"
INGLÉS - ESPAÑOL
Doc. 541 Febrero de 1970

230704 132 30
CUBIERTA
P 1 1 9 45 PPA L...

230704 132 30
CUBIERTA
P 1 2 1 8 8

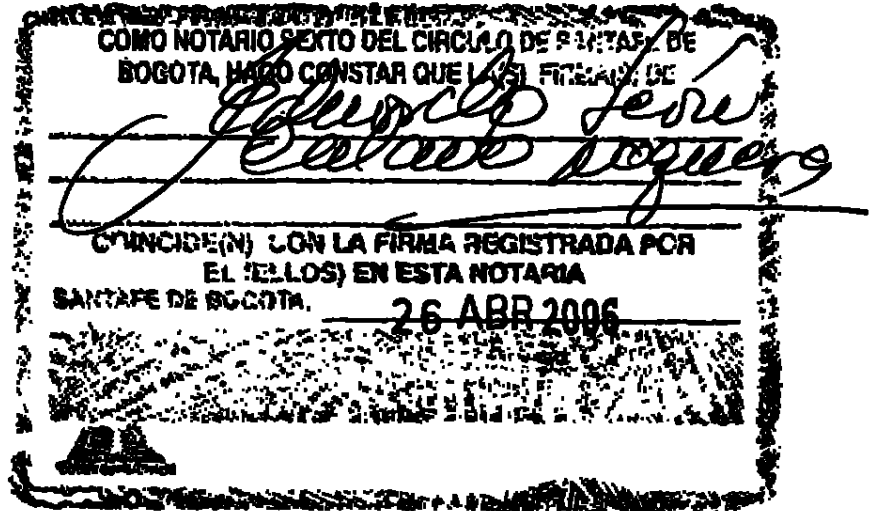
CO DE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 APR 26 P 1:17

2006
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

CELESTINO DE LOS AGUAS
EXTERIORES

887849-0000
Eduardo Galade
DARIA FERIA APARECE EN EL
BOLETIN DE SEPTIEMBRE
LAS FOTOCOPIAS INDICADAS



(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
30 June 2005 (30.06.2005)

PCT

(10) International Publication Number:
WO 2005/058365 A1

- (51) International Patent Classification: A61K 47/18, 47/32, 47/30, 47/02, 47/06, 39/395, 9/08
- (21) International Application Number: PCT/EP2004/012044
- (22) International Filing Date: 26 October 2004 (26.10.2004)
- (25) Filing Language: German
- (26) Publication Language: German
- (30) Priority Data: 103 55 251.0 26 November 2003 (26.11.2003) DE
- (71) Applicant (for all designated States except US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): MAHLER, Hanns-Christian [DE/DE]; Buschungsstrasse 54a, 65205 Wiesbaden (DE). MÜLLER, Robert [DE/DE]; Alte Bergstrasse 54, 64665 Alsbach-Hähnlein (DE).
- (74) Common Representative: MERCK PATENT GMBH; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).
- (81) Designated states (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated states (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PHARMACEUTICAL PREPARATION COMPRISING AN ANTIBODY AGAINST THE EGF RECEPTOR

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

Pharmazeutische Zubereitung enthaltend einen Antikörper gegen den EGF-Rezeptor

Die vorliegende Erfindung betrifft eine stabile pharmazeutische Zubereitung enthaltend einen Antikörper, der gegen den Rezeptor des epidermalen Wachstumsfaktors (EGFR) gerichtet ist, deren Herstellung und deren Verwendung.

In verschiedenen In vitro und In vivo Studien konnte gezeigt werden, dass die Blockade des EGFR durch Antikörper auf unterschiedlichen Ebenen gegen Tumore wirkt, beispielsweise durch Hemmung der Krebszellproliferation, Verringerung der tumorvermittelten Angiogenese, Induktion der Krebszellapoptose und Verstärkung der toxischen Wirkungen der Strahlentherapie und der herkömmlichen Chemotherapie.

MAB c225 (INN: Cetuximab) ist ein klinisch erprobter Antikörper, der an den EGF-Rezeptor bindet. Cetuximab ist ein chimärer Antikörper, dessen variable Regionen murinen und dessen konstante Regionen humanen Ursprungs sind. Cetuximab wurde erstmals von Naramura et al., Cancer Immunol Immunotherapy 1993, 37: 343-349 sowie in WO 96/40210 A1 beschrieben.

MAB 425 ist ein ursprünglich muriner Antikörper, der gegen den auf Tumorzellen, insbesondere auf A431 Carcinoma-Zellen, überexprimierten EGFR gerichtet ist. Seine humanisierten und chimären Formen sind z.B. aus EP 0 531 472 A1; Kettleborough et al., Protein Engineering 1991, 4: 773-783; Bler et al., Cancer Chemother Pharmacol 2001, 47: 519-524; Bier et al., Cancer Immunol Immunother 1998, 46: 167-173 bekannt. EMD 72000 (h425) ist eine in der klinischen Phase I/II befindliche Form von MAB 425, dessen konstanter Bereich sich aus einer κ und einer humanen γ -1-Kette zusammen setzt.

Humane anti-EGFR-Antikörper können nach der XenoMouse-Technologie bereitgestellt werden, wie beschrieben in WO 91/10741 A1, WO 94/02802 A1, WO 96/33735 A1. Ein gemäß dieser Technologie hergestellter
5 spezieller in der klinischen Erprobung befindlicher Antikörper ist ABX-EGF (Abgenix, Crit Rev Oncol Hematol 2001, 38: 17-23; Cancer Research 1999, 59: 1236-43).

Weitere gegen den EGFR gerichtete Antikörper sind z.B. beschrieben in
10 EP 0 586 002 B1 sowie in J Natl Cancer Inst 1993, 85: 27-33 (MAB 528).

Wie andere Antikörper werden auch die anti-EGFR-Antikörper zur therapeutischen Anwendung parenteral als Lösung appliziert. Ein
15 besonderes Problem von Lösungen mit diesen Antikörpern ist deren Neigung zur Aggregation und zur Bildung von Proteinmultimeren. Im Falle reduzierbarer Multimere kann dies auf nicht beabsichtigte intermolekulare Disulfidbrückenbildung durch eine Interaktion zwischen sich annähernden Molekülteilen zurückgeführt werden. Auch kommen hydrophobe Wechselwirkungen und die damit verbundene Bildung nichtreduzierbarer
20 Multimere in Betracht. Weiterhin kommt es zu Deamidierungsreaktionen, die nachfolgend zu Proteinabbaureaktionen führen. Die beschriebenen Denaturierungsreaktionen treten besonders bei Lagerung bei erhöhter Temperatur auf oder bei Scherbeanspruchung, wie sie beispielsweise beim Transport auftritt.

Infolge der genannten Aggregationsneigung kommt es bei Lagerung von Antikörperlösungen zu Produktausfällungen, so dass eine reproduzierbare
25 Entnahme aus dem die Lösung enthaltenden Behälter in Frage gestellt ist. Hinzu kommt, dass es bei parenteraler Applikation partikelhaltiger Lösung zu Embollen kommen kann. Dies hat zur Folge, dass die Verabreichung der anti-EGFR-Antikörper in der jeweils erforderlichen Dosis mittels
30 Antikörper-Lösungen an den Patienten nicht immer reproduzierbar

gewährleistet ist und die Applikation nicht mit der erforderlichen Sicherheit erfolgen kann.

5 Durch Filtration vor Injektion können die Aggregate zwar zurückgehalten werden. Dieses Verfahren beinhaltet aber einen zusätzlichen Schritt und ist daher aufwendig und für die klinische Praxis wenig geeignet. Auch verbleibt das Problem der Dosisreproduzierbarkeit ungelöst, da jeweils ein unbekannter Anteil an Antikörpern aus der Lösung abgetrennt wird und Partikelbildung nach Filtration weiterhin ein Sicherheitsrisiko darstellt.

10 Ein gebräuchliches Verfahren zur Stabilisierung von monoklonalen Antikörpern ist die Gefriertrocknung von Lösungen, die Antikörper sowie Hilfsstoffe enthalten. Lyophilisation ist jedoch sehr zeit- und energieaufwendig und damit teuer. Auch muss das Lyophilisat vor
15 Verabreichung erst rekonstituiert werden.

EP 0 073 371 beschreibt intravenös verabreichbare Zubereitungen mit Immunglobulinen, die zur Stabilisierung einen pH-Wert von 3,5 bis 5,0 aufweisen. Derart niedrige pH-Werte führen aber zu unerwünschten
20 Unverträglichkeitsreaktionen an der Injektionsstelle.

US 6,171,586 B1 offenbart die Verwendung von einem Acetatpuffer pH 4,48 bis 5,5, einem Surfactant und einem Polyol in einer wässrigen Formulierung von Antikörpern, wobei NaCl zur Isotonisierung
25 ausgeschlossen ist. Aufgrund der fehlenden Isotonisierung kann es ebenfalls zu Unverträglichkeitsreaktionen an der Injektionsstelle kommen.

Als Beispiele weiterer Formulierungen mit speziellen Antikörpern seien an dieser Stelle EP 0 280 358, EP 0 170 983 und US 5,945,098 genannt.
30

Hieron beschreibt EP 0 280 358 den Zusatz von Dextran zu einer Antikörperlösung zur Stabilisierung gegen bestimmte Hormone, wobei eine Stabilität über neun Monate erreicht wurde.

5 EP 0 170 983 beschreibt die Stabilisierung eines thermolabilen monoklonalen Antikörpers durch Erhitzen zusammen mit hydrolysiertem Ovalbumin, wodurch der Antikörper nach 7 Tagen Lagerung bei 45°C noch stabil war. Der Zusatz von Proteinen anderer Species zu verabreichbaren Formulierungen, die zur parenteralen Verabreichung vorgesehen sind, sind
10 aufgrund der hiermit verbundenen Problematik, insbesondere deren möglichen Antigenität, aber unerwünscht.

US 5,945,098 offenbart die Verwendung von Glycin, Polysorbat 80 und Polyethylenglycol zur Stabilisierung einer wässrigen Formulierung von
15 Immunglobulin G.

DE 10133394 A1 offenbart die Verwendung eines Phosphatpuffers im Bereich von pH 6 bis pH 8 und einem Polyoxyethylensorbitan-Fettsäureester zur Stabilisierung einer wässrigen Lösung des Antikörpers
20 Cetuximab. Obwohl die Bildung sichtbarer Aggregate hierdurch deutlich reduziert ist, wird die chemische Stabilität, insbesondere unter Stressbedingungen, deutlich beeinträchtigt. Ferner zeigt die Formulierung keine Stabilität gegen (extremen) thermischen Stress, z.B. Langzeitlagerung bei 40°C.

25 Es war Aufgabe der Erfindung speziell für die gegen den EGFR gerichtete Antikörper eine zur parenteralen Verabreichung geeignete wässrige Formulierung zu finden, die gut verträglich ist und bei Lagerung bei Raumtemperatur über mindestens 24 Monate stabil ist. Die Lagerstabilität
30 sollte auch durch beim Transport einwirkenden Scherkräften und bei veränderten Klimabedingungen, insbesondere bei erhöhter Temperatur und Luftfeuchtigkeit, erhalten bleiben. Weiterhin sollte die Formulierung

einfach aufgebaut sein und keine aus toxikologischer Sicht bedenklichen Hilfsstoffe enthalten.

Überraschenderweise konnte eine diesen Anforderungen entsprechende Formulierung mit einer Lösung gefunden werden, die neben einem gegen den epidermalen Wachstumsfaktor gerichteten Antikörper (anti-EGFR-Antikörper) einen Puffer, eine Aminosäure und ein Tensid enthält. Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher eine wässrige pharmazeutische Zubereitung, die neben einem anti-EGFR-Antikörper einen Puffer, eine Aminosäure sowie ein Tensid enthält.

Eine wässrige Zubereitung im Sinne der Erfindung liegt vor, wenn zumindest einen Teil des enthaltenen Lösungsmittels aus Wasser besteht. Als weitere Lösungsmittelbestandteile können alle Lösungsmittel enthalten sein, die für die parenterale Anwendung geeignet sind, insbesondere Alkohole wie z. B. Ethanol, Propanol, Propandiol oder Glycerol. Bevorzugt enthält die wässrige Zubereitung als Lösungsmittel Wasser oder Ethanol-Wasser-Gemische, besonders bevorzugt besteht das Lösungsmittel aus Wasser.

Als Antikörper enthalten sein kann jeder anti-EGFR-Antikörper, insbesondere die eingangs genannten murinen, humanisierten und chimären Antikörper sowie die mittels der genannten XenoMouse-Technologie hergestellten und herstellbaren humanen anti-EGFR-Antikörper. Bevorzugt ist der anti-EGFR-Antikörper Cetuximab oder EMD 72000 bzw. eines der diesen entsprechenden murinen, humanisierten oder chimären Antikörperanaloge. Besonders bevorzugt sind wässrige Zubereitungen, die Cetuximab oder EMD 72000 als Antikörper enthalten.

Der anti-EGFR-Antikörper kann in der erfindungsgemäßen Formulierung in einer Konzentration von 0,1 mg/ml bis 50 mg/ml enthalten sein, bevorzugt

sind 2 mg/ml bis 10 mg/ml, besonders bevorzugt cirka 5 mg/ml anti-EGFR-Antikörper enthalten.

Als Puffer können grundsätzlich alle physiologisch verträglichen

5 Substanzen eingesetzt werden, die zur Einstellung des gewünschten pH-Wertes geeignet sind, wie z. B. Citrat-Salze, Acetat-Salze, Histidin-Salze, Succinat-Salze, Malat-Salze, Phosphat-Salze oder Lactat-Salze und/oder deren jeweilige freien Säuren bzw. Basen sowie Mischungen aus den verschiedenen Salzen und/oder deren Säuren bzw. Basen. Bevorzugt

10 besteht der Puffer aus einem oder mehreren Citrat-Salz/en, Acetat-Salz/en, Histidin-Salz/en, Succinat-Salz/en, Malat-Salz/en, Phosphat-Salz/en oder Lactat-Salz/en und/oder deren jeweilige/n freie/n Säure/n bzw. Base/n oder eine Mischung aus einem oder mehreren der verschiedenen Salze und/oder deren Säure/n bzw. Base/n. Der Ausdruck Mischung umfasst

15 hierbei sowohl Mischungen von verschiedenen Salzen derselben Säure wie z.B. Mischungen verschiedener Citratsalze als auch Mischungen von Salzen verschiedener Säuren wie z.B. Mischungen aus Citrat- und Acetat-Salzen. Bevorzugt besteht der Puffer aus einem oder mehreren Citrat-

20 Salz/en und/oder dessen freie Säure (z.B. Citronensäure, Citronensäure-Monohydrat, tri-Natriumcitrat-Dihydrat, tri-Kalciumcitrat-Monohydrat), Acetat-Salz/en und/oder dessen freie Säure (z.B. Essigsäure, Natriumacetat, Natriumacetat-Trihydrat) oder aus L-Histidin und/oder einem Säureadditionssalz hiervon wie z.B. L-Histidinmonohydrochlorid-Monohydrat. Zweckmäßigerweise enthält die erfindungsgemäße

25 Zubereitung den Puffer in einer Konzentration von 10 bis 100 mmol/l, bevorzugt sind 2 bis 20 mmol/l, besonders bevorzugt sind ca. 10 mmol/l enthalten.

30 Der pH-Wert der Zubereitung liegt im Bereich von 5,0 bis 6,0, bevorzugt ist ein pH-Wert von 5,2 bis 5,8, besonders bevorzugt ein pH-Wert von cirka 5,5.

Die erfindungsgemäße Zubereitung ist physiologisch gut verträglich, leicht herstellbar, exakt dosierbar und über die Dauer der Lagerung, bei mehrfachen Einfrier- und Auftaufvorgängen und mechanischer Streßbeanspruchung hinsichtlich Gehalt, Zersetzungsprodukten und Aggregaten stabil. Sie kann bei Kühlschranktemperatur (2-8°C) über einen Zeitraum von mindestens 3 Monate bis zu einem Zeitraum von 4 Jahren stabil gelagert werden. Überraschenderweise ist die erfindungsgemäße Zubereitung auch bei höheren Temperaturen und Luftfeuchtigkeiten, beispielsweise bei einer Temperatur von 25°C und 60% relativer Luftfeuchtigkeit über einen Zeitraum bis 2 Jahre, beziehungsweise bei einer Temperatur von 40°C und 75% relativer Luftfeuchtigkeit über einen Zeitraum von 3 Monaten stabil lagerbar.

Als Aminosäure kann die Zubereitung basische Aminosäuren, wie z.B. Arginin, Histidin, Ornithin, Lysin, oder neutrale Aminosäuren, wie z.B. Glycin, Methionin, Isoleucin, Leucin und Alanin, bzw. aromatische Aminosäuren, wie z.B. Phenylalanin, Tyrosin oder Tryptophan, enthalten. Basische Aminosäuren werden vorzugsweise in Form ihrer anorganischen Salze eingesetzt (vorteilhaft in Form der Salzsäuresalze, d.h. als Aminosäurehydrochloride). Als Aminosäure bevorzugt eingesetzt wird jeweils deren L-Form. Besonders bevorzugt enthält die erfindungsgemäße Zubereitung als Aminosäure L-Arginin, Glycin oder L-Methionin.

Die Zubereitung enthält die Aminosäure in einer Konzentration von 2 bis 200 mmol/l, bevorzugt 50 bis 150 mmol/l. Besonders bevorzugt sind ca. 100 mmol/l Aminosäure enthalten.

Als Tenside einsetzbar sind alle in pharmazeutischen Zubereitungen üblicherweise verwendeten Tenside, vorzugsweise Polyethylen-Sorbitan-Fettsäureester und Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymere. Polyethylen-Sorbitan-Fettsäureester sind auch unter dem Warenzeichen Tween bekannt. Geeignete Polyethylen-Sorbitan-Fettsäureester sind

insbesondere Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonolaurat, Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonopalmitat und Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonostearat.

Bevorzugt sind Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonolaurat und

Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat, hiervon besonders bevorzugt ist

5 Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat. Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymere sind auch unter dem Warenzeichen Poloxamer bekannt.

Als Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymer besonders bevorzugt ist Poloxamer 407 (CAS 9003-11-6).

10 Die Tenside können in der Formulierung in einer Konzentration von 0,001 % bis 1,0 Gew.-% enthalten sein. Sind Polyoxyethylensorbitan-

Fettsäureester als Tenside enthalten, sind diese bevorzugt in einer Menge von 0,005 bis 0,1 Gew.-% enthalten, besonders bevorzugt ist eine Menge von ca. 0,01 Gew.-%. Sind Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymere

15 enthalten, sind diese bevorzugt in einer Menge von 0,01 bis 0,5 Gew.-% enthalten, besonders bevorzugt sind ca. 0,1 Gew.-%.

Um die Verträglichkeit bei parenteraler Verabreichung zu erhöhen, liegt die Osmolalität vorzugsweise im isotonischen Bereich, d. h. bei einer

20 Osmolalität von ca. 250 bis 350 mOsmol/kg. Die Zubereitung kann dann weitgehend schmerzfrei intravenöse, intraarteriell und auch subkutan direkt verabreicht werden.

Nach einer vorteilhaften Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße

25 Zubereitung daher zusätzlich ein Isotonisierungsmittel, bevorzugt ein physiologisch verträgliches Salz, wie beispielsweise Natriumchlorid oder Kaliumchlorid, oder ein physiologisch verträgliches Polyol, wie beispielsweise Glucose oder Glycerin, in einer zur Isotonisierung erforderlichen Konzentration. Gegenstand der Erfindung ist daher weiterhin

30 eine wässrige Zubereitung enthaltend einen anti-EGFR-Antikörper, einen Puffer, eine Aminosäure, ein Tensid sowie ein Isotonisierungsmittel in einer

zur Isotonisierung erforderlichen Konzentration. Besonders bevorzugt ist Natriumchlorid als Isotonisierungsmittel enthalten.

Darüber hinaus können die erfindungsgemäßen Lösungen weitere physiologisch verträgliche Hilfsstoffe, wie z.B. Antioxidantien wie Ascorbinsäure oder Glutathion, Konservierungsmittel wie Phenol, m-Cresol, Methyl- oder Propylparaben, Chlorbutanol, Thiomersal oder Benzalkoniumchlorid, Polyethylenglykole (PEG) wie PEG 400, PEG 3000, 3350, 4000 oder 8000, Disaccharide wie Trehalose oder Saccharose, oder Cyclodextrine wie Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, Sulfobutylethyl- β -cyclodextrin, α -Cyclodextrin oder γ -Cyclodextrin, enthalten.

Nach einer besonders vorteilhaften Ausführungsform der Erfindung enthält die wässrige Zubereitung ca. 5 mg/ml Cetuximab oder EMD 72000, ca. 10 mmol/l Citrat- oder Histidinpuffer mit einem pH-Wert von ca. 5,5, ca. 100 mmol/l Glycin, Arginin oder L-Methionin, ca. 100 mmol/l Natriumchlorid sowie ca. 0,01 % Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat.

Die wässrige Zubereitung kann hergestellt werden, indem man einer den anti-EGFR-Antikörper enthaltenden Lösung die genannten Hilfsstoffe zugefügt werden. Zweckmäßigerweise wird hierzu einer Lösung mit einer definierten Konzentration an anti-EGFR-Antikörper, wie sie bei dessen Herstellung gewonnen wird, mit definierten Volumina an Stammlösungen, die die genannten weiteren Hilfsstoffe in definierter Konzentration enthalten, versetzt und gegebenenfalls mit Wasser oder Pufferlösung auf die vorberechnete Konzentration verdünnt. Alternativ können die Hilfsstoffe der den anti-EGFR-Antikörper enthaltenden Ausgangslösung auch als Feststoffe zugesetzt werden. Liegt der anti-EGFR-Antikörper als Feststoff, beispielsweise als Lyophilisat, vor, kann die erfindungsgemäße Zubereitung hergestellt werden, indem jeweilige Antikörper zunächst in Wasser oder einer einen oder mehrere der weiteren Hilfsstoffe

enthaltenden wässrigen Lösung gelöst und anschließend mit den jeweils erforderlichen Mengen an die weiteren Hilfsstoffe enthaltenden Stammlösungen, mit den weiteren Hilfsstoffen in fester Form und/oder Wasser versetzt werden. Zweckmäßigerweise kann der anti-EGFR-Antikörper auch direkt in einer alle weiteren Hilfsstoffe enthaltenden Lösung gelöst werden.

Vorteilhaft kann einer oder mehrere der in der erfindungsgemäßen Zubereitung enthaltenen Hilfsstoffe bereits während oder zum Schluss des Herstellungsverfahrens des jeweiligen EGFR-Antikörpers zugegeben werden. Bevorzugt kann dies dadurch erfolgen, indem dem anti-EGFR-Antikörper im letzten Schritt der nach seiner Herstellung erfolgenden Aufreinigung direkt in einer einen, mehrere oder alle weiteren Hilfsstoffe enthaltenden wässrigen Lösung gelöst wird. Dann müssen zur Herstellung der Zubereitung die jeweiligen weiteren Inhaltsstoff/e nur noch in jeweils geringerer Menge und/oder gar nicht zugesetzt werden. Besonders bevorzugt ist, wenn der jeweilige Inhaltsstoff im letzten Schritt der nach seiner Herstellung erfolgenden Aufreinigung direkt in einer alle weiteren Hilfsstoffe enthaltenden wässrigen Lösung gelöst wird.

Soweit die den jeweiligen Antikörper sowie die Hilfsstoffe enthaltende Lösung noch nicht den gewünschten pH-Wert aufweist, wird dieser durch Zugabe einer Säure bzw. Base eingestellt, wobei vorzugsweise die bereits im Puffer-System enthaltene Säure bzw. Base Verwendung findet. Anschließend wird sterilfiltriert.

Die erfindungsgemäße wässrige Zubereitung kann vorteilhaft zur Behandlung von Tumorerkrankungen eingesetzt werden.

Die Beispiele, ohne darauf beschränkt zu sein, erläutern die Erfindung.

Beispiel 1 (Vergleichsbeispiel 1)

Wässrige Lösung enthaltend:

2 mg/ml Cetuximab

5 10 mmol/l Natriumphosphatpuffer pH 7,2

145 mmol/l Natriumchlorid

Die Herstellung erfolgt durch Mischung definierter Volumina von die
jeweiligen Hilfstoffe in definierter Konzentration enthaltenden wässrigen
10 Lösungen. Folgende Lösungen werden verwendet:

Lösung A (Wirkstofflösung) enthaltend:

18 mg/ml Cetuximab

10 mmol/l Natriumphosphatpuffer pH 7,2

15 (bestehend aus 2,07 g/l Dinatriumhydrogenphosphat-7-hydrat und 0,31 g/l
Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat)

145 mmol/l Natriumchlorid

(Die Lösung wird erhalten, indem der Wirkstoff im letzten Schritt der nach
dessen Herstellung erfolgenden Wirkstoffaufreinigung gegen Lösung B mit
20 Hilfe der Tangentialflußfiltration umgepuffert wird.)

Lösung B (Puffer/Salz-Lösung)

entspricht Lösung A, enthält jedoch keinen Wirkstoff

25

Zur Herstellung der Vergleichslösung 1 werden 1,11 Volumenteile Lösung
A und 8,89 Volumenteile Lösung B miteinander vereinigt.

Die zubereitete Lösung wird vor der Abfüllung mit einem Sterilfilter filtriert
und in Injektionsgläser abgefüllt. Anschließend werden die Injektionsgläser
30 mit Stopfen verschlossen und gebördelt.

Beispiel 2 (Vergleichsbeispiel 2)

Wässrige Lösung enthaltend:

- 5 2 mg/ml Cetuximab
10 mmol/l Natriumphosphatpuffer pH 7,2
145 mmol/l Natriumchlorid
0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat

- 10 Die Herstellung erfolgt durch Mischung definierter Volumina von die jeweiligen Inhaltsstoffe in definierter Konzentration enthaltenden wässrigen Lösungen. Neben Lösung A wird folgende Lösung verwendet.

- 15 Lösung C (Puffer/Salz-Lösung enthaltend Polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat)
entspricht Lösung B, enthält jedoch zusätzlich
0,0125 Gew.-% Polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat.

- 20 Zur Herstellung der Vergleichslösung 2 werden 1,11 Volumenteile Lösung A mit 8,89 Volumenteile Lösung C miteinander vereinigt.

- 25 Die zubereitete Lösung wird vor der Abfüllung mit einem Sterilfilter filtriert und in Injektionsgläser abgefüllt. Anschließend werden die Injektionsgläser mit Stopfen verschlossen und gebördelt.

Beispiel 3 (erfindungsgemäße Formulierung)

- 30 5 mg/ml Cetuximab
10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5

100 mmol/l Glycin

100 mmol/l Natriumchlorid

0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat

5 Die Herstellung erfolgt durch Mischung definierter Volumina von die jeweiligen Inhaltsstoffe in definierter Konzentration enthaltenden wässrigen Lösungen.

Lösung D (Wirkstofflösung in einem Citrat-Puffer)

10 16 mg/ml Cetuximab

10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5

(bestehend aus 2,1014 g/l Citronensäure-Monohydrat)

(Die Lösung wird erhalten, indem der Wirkstoff im letzten Schritt der nach dessen Herstellung erfolgenden Wirkstoffaufreinigung gegen Lösung E mit Hilfe der Tangentialflußfiltration umgepuffert wird.)

Lösung E (Puffer-Lösung):

entspricht Lösung D, enthält jedoch keinen Wirkstoff.

20 Lösung F (Puffer/Salz-Lösung):

entspricht Lösung E, enthält jedoch

145,5 mmol/l Glycin,

145,5 mmol/l Natriumchlorid und

0,015 Gew.-% Polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat.

25 Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Formulierung werden 3,125 Volumenteile Lösung D und 6,875 Volumenteile Lösung F miteinander vereinigt.

30 Die zubereitete Lösung wird vor der Abfüllung mit einem Sterilfilter filtriert und in Injektionsgläser abgefüllt. Anschließend werden die Injektionsgläser mit Stopfen verschlossen und gebördelt.

Beispiel 4

Analog dem Verfahren der vorbeschriebene Beispiele werden folgende Lösungen hergestellt:

5

Beispiel 4.1, Lösung enthaltend:

5 mg/ml Cetuximab

100 mmol/l Glycin

0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat

10

10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5

(bestehend aus 2,9410 g/l tri-Natriumcitrat-Dihydrat)

Beispiel 4.2, Lösung enthaltend:

5 mg/ml Cetuximab

15

100 mmol/l Glycin

100 mmol/l Natriumchlorid

0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat

10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5

(bestehend aus 2,1014 g/l Citronensäure-Monohydrat)

20

Beispiel 4.3, Lösung enthaltend:

5 mg/ml EMD 72000

100 mmol/l Glycin

100 mmol/l Natriumchlorid

25

0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat

10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5

(bestehend aus 2,1014 g/l Citronensäure-Monohydrat)

Beispiel 4.4, Lösung enthaltend:

30

5 mg/ml Cetuximab

100 mmol/l L-Methionin

0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat
10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5
(bestehend aus 2,1014 g/l Citronensäure-Monohydrat)

5 Beispiel 4.5, Lösung enthaltend:

5 mg/ml Cetuximab
100 mmol/l Glycin
0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat
10 mmol/l Acetatpuffer pH 5,5
10 (bestehend aus 1,3608 g/l Natriumacetat-Trihydrat)

Beispiel 4.6, Lösung enthaltend:

5 mg/ml Cetuximab
100 mmol/l Glycin
15 0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat
10 mmol/l Histidinpuffer pH 5,5
(bestehend aus 2,069 g/l L-Histidinmonohydrochlorid-Monohydrat)

Beispiel 4.7, Lösung enthaltend:

20 5 mg/ml Cetuximab
100 mmol/l Glycin
0,01 Gew.-% Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonolaurat
10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5
(bestehend aus 2,1014 g/l Citronensäure-Monohydrat)

25

Beispiel 4.8, Lösung enthaltend:

5 mg/ml Cetuximab
100 mmol/l Glycin
0,1 Gew.-% Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymer 407 (Poloxamer
30 407)
10 mmol/l Citratpuffer pH 5,5
(bestehend aus 2,1014 g/l Citronensäure-Monohydrat)

Beispiel 5

5 Die Stabilität der erfindungsgemäßen Formulierung wurde in einem
Stresstest geprüft. Hierzu wurden Vials enthaltend die Lösung gemäß
Beispiel 3 sowie zu Vergleichszwecken Vials enthaltend Lösung gemäß
Beispiel 1 und 2 bei 25°C und 60% relativer Luftfeuchte und 40°C und
75% relativer Luftfeuchte eingelagert. Zusätzlich wurden Vials der Beispiele
10 1, 2 und 3 fünf Tage auf einer Schüttelapparatur mit einer Schüttelfrequenz
von 150 min⁻¹ bei Raumtemperatur geschüttelt, sowie dreimal in Folge bei -
20°C eingefroren und anschließend bei +5°C wieder aufgetaut. Vor
Einlagerung sowie nach definierten Lagerzeiten wurden die Vials visuell bei
direkter Anstrahlung mit einer Kaltlichtquelle beurteilt und die Absorption
15 der Lösungen bei 350 nm bestimmt, die ein Maß für die Trübung darstellt.
Um den Einfluss der Lagerung bzw. Behandlung zu verdeutlichen, wurde
jeweils die relative Trübung bezogen auf den Ausgangswert berechnet.
Weiterhin wurden die Vials hinsichtlich des Gehaltes an Cetuximab,
Aggregaten und Zersetzungsprodukten mittels HPLC-Gelfiltration
20 untersucht.

Die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchungen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Prüfungs- lösung	Lagerung [Zeit / Be- dingungen]	Cetux- mab [%]	Aggre- gate [%]	Zerset- zungs- produk- te [%]	Trübung bei $\lambda =$ 350 nm	relative Trübung bei $\lambda =$ 350 nm	visuelle Beurteil- ung
Bei- spiel 1	0 Wochen	99,67	0,12	0,22	0,005	1,00	kleine Partikel, geringe Anzahl, Klar
Bei- spiel 1	8 Wochen 25°C/60% r.F.	98,99	0,28	0,73	0,0081	1,62	große Partikel, große Anzahl, Klar
Bei- spiel 1	8 Wochen 40°C/75% r.F.	95,08	3,23	1,69	0,0235	4,70	große Partikel, große Anzahl, Klar
Bei- spiel 1	5 Tage Schütteln bei 150 Upm und RT	99,60	0,17	0,24	0,829	165,80	sehr große Partikel, sehr hohe Partikel- anzahl, Trübung
Bei- spiel 1	3 Frier- Tau- Zyklen zwischen -20°C und +5°C	99,68	0,14	0,18	0,0089	1,78	große Partikel, hoher Partikel- gehalt, leichte Trübung
Bei- spiel 2	0 Wochen	99,62	0,18	0,21	0,0048	1,00	keine Partikel, Klar

Bei- spiel 2	8 Wochen 25°C/60% r.F.	99,02	0,28	0,70	0,0071	1,48	kleine Partikel, geringe Anzahl, Klar
Bei- spiel 2	8 40°C/75% r.F.	93,95	4,34	1,72	0,0241	5,02	kleine Partikel, geringe Anzahl, Klar
Bei- spiel 2	5 Tage Schütteln bei 150 Upm und RT	99,51	0,26	0,23	0,0075	1,56	keine Partikel, Klar
Bei- spiel 2	3 Frier- Tau- Zyklen zwischen -20°C und +5°C	99,61	0,21	0,18	0,0064	1,48	keine Partikel, klar
Bei- spiel 3	0 Wochen	99,72	0,15	0,14	0,018	1,00	keine Partikel, Klar
Bei- spiel 3	8 Wochen 25°C/60% r.F.	99,38	0,18	0,44	0,020	1,08	kleine Partikel, geringe Anzahl, Klar
Bei- spiel 3	8 Wochen 40°C/75% r.F.	98,15	0,46	1,40	0,030	1,63	kleine Partikel, geringe Anzahl, Klar
Bei- spiel 3	5 Tage Schütteln bei 150 Upm und RT	99,15	0,70	0,15	0,019	1,04	keine Partikel, Klar

Beispiel 3	3 Frier-Tau-Zyklen zwischen -20°C und +5°C	99,75	0,14	0,12	0,018	1,00	keine Partikel, klar
------------	--	-------	------	------	-------	------	----------------------

Tabelle 1: Zusammenfassung der Stabilitätsdaten der erfindungsgemäßen Formulierung (Beispiel 3) und der beiden Vergleichslösungen (Beispiele 1 und 2)

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die erfindungsgemäße Formulierung gegenüber den Vergleichslösungen des Standes der Technik eine deutlich erhöhte Stabilität aufweist.

Patentansprüche

1. **Wässrige Zubereitung enthaltend einen anti-EGFR-Antikörper, einen Puffer, eine Aminosäure sowie ein Tensid**
5
2. **Zubereitung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Antikörper Cetuximab oder EMD 72000 bzw. eines der diesen entsprechenden murinen, humanisierten oder chimären Antikörperanaloga ist**
10
3. **Zubereitung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Antikörper Cetuximab oder EMD 72000 ist**
4. **Zubereitung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Puffer aus einem oder mehreren Citrat-Salz/en, Acetat-Salz/en, Histidin-Salz/en, Succinat-Salz/en, Malat-Salz/en, Phosphat-Salz/en oder Lactat-Salz/en und/oder deren jeweilige/n freie/n Säure/n bzw. Base/n oder aus einer Mischung aus einem oder mehreren der verschiedenen Salze und/oder deren Säure/n bzw. Base/n besteht**
15
20
5. **Zubereitung gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Puffer aus einem oder mehreren Citrat-Salz/en und/oder dessen freie Säure, Acetat-Salz/en und/oder dessen freie Säure oder aus L-Histidin und/oder einem Säureadditionssalz hiervon besteht**
25
6. **Zubereitung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Aminosäure L-Arginin, Glycin oder L-Methionin ist**
7. **Zubereitung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Tensid ein Polyethylen-Sorbitan-Fettsäureester**
30

oder ein Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymer ist

- 5 8. Zubereitung gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dadurch gekennzeichnet, dass das Tensid Polyoxyethylensorbitan-Fettsäureester Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat oder Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonolaurat ist
- 10 9. Zubereitung gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Tensid Poloxamer 407 ist
- 10 10. Zubereitung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass weiterhin ein Isotonisierungsmittel in einer zur Isotonisierung erforderlichen Konzentration enthalten ist
- 15 11. Zubereitung gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass das Isotonisierungsmittel Natriumchlorid ist
- 20 12. Zubereitung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass diese einen pH-Wert von 5 - 7, vorzugsweise von pH 5,2 bis pH 6,0 aufweist
- 25 13. Zubereitung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass diese einen pH-Wert von circa 5,5 aufweist
- 30 14. Zubereitung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass diese ca. 5 mg/ml Cetuximab oder EMD 72000, ca. 10 mmol/l Citrat- oder Histidinpuffer, ca. 100 mmol/l Glycin, L-Arginin oder L-Methionin, ca. 100 mmol/l Natriumchlorid sowie ca. 0,01 % Polyoxyethylen(20)-sorbitanmonooleat enthält und einen pH-Wert von ca. 5,5 aufweist

15. Verfahren zur Herstellung pharmazeutischen Zubereitung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass man eine wässrige Zubereitung enthaltend den anti-EGFR-Antikörper einer die genannten Hilfstoffe zufügt

5

16. Verwendung der Zubereitung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 14 zur Behandlung von Tumorerkrankungen

Merck Patent Gesellschaft
mit beschränkter Haftung
64271 Darmstadt

5

10

PREPARACIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE UN ANTICUERPO
CONTRA EL RECEPTOR EGF

PREPARACIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE UN ANTICUERPO
CONTRA EL RECEPTOR EGF

La presente invención se refiere a una preparación farmacéutica estable que comprende un anticuerpo dirigido contra el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), y a su preparación y a su uso.

Diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que el bloqueo de EGFR por anticuerpos actúa contra los tumores a varios niveles, por ejemplo por inhibición de la proliferación de las células cancerosas, la reducción de la angiogénesis mediada por tumor, la inducción de la apoptosis de las células cancerosas y el aumento de los efectos tóxicos de la radioterapia y la quimioterapia convencionales.

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

MAB 425 es un anticuerpo originalmente murino que se dirige contra EGFR con expresión excesiva en células tumorales, en particular células A431 de carcinoma. Sus formas humanizada y quimérica se describen, por ejemplo, en el documento EP 0 531 472 A1; Kettleborough et al., Protein Engi-

neering 1991, 4: 773-783; Bier et al., Cancer Chemother. Pharmacol. 2001, 47: 519-524; Bier et al., Cancer Immunol. Immunother. 1998, 46: 167-173. EMD 72000 (h425) es una forma de MAB 425 que está en fase clínica I/II y cuya región cons-
5 tante se compone de una cadena K y una cadena humana γ -1.

Se pueden proveer anticuerpos anti-EGFR humanos mediante tecnología XenoMouse, como se describe en los documentos WO 91/10741 A1, WO 94/02602 A1 y WO 96/33735 A1. Un anti-
cuerpo específico producido mediante esta tecnología que en
10 la actualidad es sometido a estudios clínicos es ABX-EGF (Abgenix, Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2001, 38: 17-23; Cancer Research 1999, 59: 1236-43).

Otros anticuerpos dirigidos contra EGFR se describen, por ejemplo, en el documento EP 0 586 002 B1 y en J. Natl.
15 Cancer Inst. 1993, 85: 27-33 (MAB 528).

Al igual que otros anticuerpos, los anticuerpos anti-EGFR también se aplican por vía parenteral como una solución para uso terapéutico. Un problema particular de las soluciones que comprenden estos anticuerpos es su tendencia a la
20 agregación y la formación de multímeros de proteína. En el caso de multímeros reducibles, esto se puede atribuir a la formación no intencional de puentes de disulfuro intermoleculares debido a una interacción entre partes de moléculas cercanas. También son posibles las interacciones hidrofóbicas
25 cas y la consecuente formación de multímeros no reducibles.

Además, también se producen reacciones de desamidación, que luego dan por resultado reacciones de degradación de proteínas. Las reacciones de desnaturalización antes descritas tienen lugar, en particular, durante el almacenamiento a alta temperatura o durante el esfuerzo de cizallamiento, como ocurre, por ejemplo, durante el transporte.

Como consecuencia de dicha tendencia a la agregación, se forman productos de precipitación durante el almacenamiento de soluciones de anticuerpo, lo que implica que es dudosa la extracción reproducible del contenedor que contiene la solución. Además, se pueden producir embolias con la administración parenteral de la solución que contiene partículas. En consecuencia, no siempre se garantiza la administración de los anticuerpos anti-EGFR a un paciente en la dosis requerida en cada caso de una forma reproducible mediante las soluciones de anticuerpo, y la administración no se puede realizar con la confiabilidad exigida.

Aunque la filtración antes de la inyección permite retener los agregados, este método, sin embargo, comprende una etapa adicional y, por ello, es complejo y no muy adecuado para la práctica clínica. Además, el problema de la reproducibilidad de la dosis se mantiene sin resolución, dado que en cada caso una fracción desconocida de anticuerpos se separa de la solución, y la formación de partículas después de la filtración continúa representando un riesgo de seguridad.

Un método común para la estabilización de anticuerpos monoclonales es la liofilización de soluciones que comprenden anticuerpos y auxiliares. No obstante, la liofilización tiene alto consumo de tiempo y energía, por lo que tiene un alto costo. Además, primero se deben reconstituir los liofilizados, antes de la administración.

El documento EP 0 073 371 describe las preparaciones para la administración intravenosa que comprenden inmunoglobulinas que tienen un pH de 3,5 a 5,0 para la estabilización. No obstante, dichos valores de pH bajos dan por resultado reacciones de incompatibilidad no deseadas en el punto de inyección.

El documento US N° 6.171.586 B1 describe el uso de un buffer de acetato de pH 4,48 a 5,5, un tensioactivo y un poliol en una formulación acuosa de anticuerpos, donde se excluye la modificación con NaCl para isotonicidad. Debido a la falta de modificación de isotonicidad, es probable que se produzcan reacciones de incompatibilidad en el punto de inyección.

Como ejemplos de otras formulaciones que comprenden anticuerpos específicos se debe hacer referencia en este punto a los documentos EP 0 280 358, EP 0 170 983 y US 5.945.098.

De ellos, el documento EP 0 280 358 describe el agregado de dextrano a una solución de anticuerpo para la estabilización contra ciertas hormonas, en donde se logró la esta-

bilidad durante nueve meses.

El documento EP 0 170 983 describe la estabilización de un anticuerpo monoclonal termolábil por calentamiento conjunto con ovalbúmina hidrolizada, por lo cual el anticuerpo
5 aún era estable después de un almacenamiento durante 7 días a 45° C. No obstante, no se desea la adición de proteínas de otras especies a las formulaciones previstas para la administración parenteral, debido a los problemas asociados, en particular su posible antigenicidad.

10 El documento US 5.945.098 describe el uso de glicina, polisorbato 80 y polietilenglicol para la estabilización de una solución acuosa de inmunoglobulina G.

El documento DE 10133394 A1 describe el uso de un buffer de fosfato en el rango de pH 6 a pH 8 y un éster de ácido
15 do graso de polioxietilen-sorbitano para la estabilización de una solución acuosa del anticuerpo cetuximab. Si bien esto reduce significativamente la formación de agregados visibles, hay significativo deterioro de la estabilidad química, en particular bajo condiciones de estrés. Además, la formulación
20 lación no muestra estabilidad a estrés térmico (extremo), por ejemplo almacenamiento a largo plazo a 40° C.

El objeto de la invención era hallar una formulación acuosa específica para los anticuerpos dirigidos contra EGFR que son adecuados para la administración parenteral, que sea
25 bien tolerada y estable en almacenamiento a temperatura am-

biente durante al menos 24 meses. La estabilidad de almacenamiento también se debería retener en el caso de fuerzas de cizallamiento que actúan durante el transporte y bajo condiciones climáticas modificadas, en particular a temperatura elevada y con humedad atmosférica. Además, la formulación debería tener una estructura simple y no debería comprender ningún auxiliar dudoso desde un punto de vista toxicológico.

Sorprendentemente, se ha hallado una formulación que cumple con estos requerimientos en la forma de una solución que, además de un anticuerpo dirigido contra el factor de crecimiento epidérmico (anticuerpo anti-EGFR), comprende un buffer, un aminoácido y un tensioactivo. En consecuencia, la presente invención se refiere a una preparación farmacéutica acuosa que, además de un anticuerpo anti-EGFR, comprende un buffer, un aminoácido y un tensioactivo.

A los fines de la invención, una preparación acuosa es aquella en donde al menos parte del solvente presente está compuesta por agua. Otros solventes constituyentes que pueden estar presentes son todos solventes adecuados para uso parenteral, en particular alcoholes tales como, por ejemplo, etanol, propanol, propanodiol o glicerol. La preparación acuosa preferentemente comprende, como solvente, agua o mezclas de etanol/agua; el solvente de particular preferencia está compuesto por agua.

El anticuerpo presente puede ser cualquier anticuerpo

anti-EGFR, en particular los anticuerpos murino, humanizado o quimérico mencionados al inicio y los anticuerpos anti-EGFR humanos que se han preparado y se pueden preparar por medio de dicha tecnología Xenomouse. Se da preferencia al
5 anticuerpo anti-EGFR cetuximab o EMD 72000 o uno de los análogos de anticuerpos murinos, humanizados o quiméricos correspondientes. Se da particular preferencia a las preparaciones acuosas que comprenden cetuximab o EMD 72000 como anticuerpo.

10 El anticuerpo anti-EGFR puede estar presente en la formulación de acuerdo con la invención en una concentración de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml, preferentemente de 2 mg/ml a 10 mg/ml, con particular preferencia aproximadamente 5 mg/ml.

Los buffers que se pueden emplear son básicamente todas
15 las sustancias fisiológicamente toleradas adecuadas para ajustar el pH buscado, tales como, por ejemplo, sales de citrato, sales de acetato, sales de histidina, sales de succinato, sales de malato, sales de fosfato o sales de lactato, y/o sus respectivos ácidos o bases libres, así como mezclas
20 de las diversas sales y/o ácidos o bases de ellos. De preferencia, el buffer está compuesto por una o varias sales de citrato, sales de acetato, sales de histidina, sales de succinato, sales de malato, sales de fosfato o sales de lactato y/o sus respectivos ácidos o bases libres o una mezcla de
25 una o varias de las diversas sales y/o sus ácidos o bases.

Aquí, el término mezcla abarca las mezclas de distintas sales del mismo ácido, tales como, por ejemplo, mezclas diferentes sales de citrato, y mezclas de sales de distintos ácidos, tales como, p.ej., mezclas de sales de citrato y acetato. Preferentemente, el buffer está compuesto por una o varias sales de citrato y/o su ácido libre (p.ej. ácido cítrico, ácido cítrico monohidrato, citrato trisódico dihidrato, citrato tripotásico monohidrato), sales de acetato y/o su ácido libre (por ejemplo ácido acético, acetato de sodio, acetato de sodio trihidrato) o L-histidina y/o su sal por adición de ácidos, tales como, p.ej., monoclórhidrato de L-histidina monohidrato. La preparación de acuerdo con la invención comprende ventajosamente el buffer en una concentración de 10 a 100 mmol/l, preferentemente de 2 a 20 mmol/l, de particular preferencia de aproximadamente 10 mmol/l.

El pH de la preparación está en el rango de 5,0 a 6,0, preferentemente de 5,2 a 5,8, con particular preferencia de aproximadamente 5,5.

La preparación de acuerdo con la invención es fisiológicamente bien tolerada, se puede preparar con facilidad, se puede dispensar con precisión y es estable con respecto al ensayo, los productos de descomposición y los agregados durante el almacenamiento, durante repetidos procesos de congelación y descongelación, y el estrés mecánico. Es estable en almacenamiento durante un período de al menos 3 meses

hasta un período de 4 años a temperatura de refrigerador (2-8°C). Sorprendentemente, la preparación de acuerdo con la invención también es estable en almacenamiento durante un período de hasta 2 años a temperaturas elevadas y mayores niveles de humedad ambiente, p.ej. a una temperatura de 25°C y 60 % de humedad relativa ambiente, o durante un período de 3 meses a una temperatura de 40°C y 75 % de humedad relativa ambiente.

Los aminoácidos presentes en la preparación pueden ser aminoácidos básicos, tales como, p.ej., arginina, histidina, ornitina, lisina, o aminoácidos neutros tales como, p.ej., glicina, metionina, isoleucina, leucina y alanina, o aminoácidos aromáticos, tales como, p.ej., fenilalanina, tirosina o triptófano. Los aminoácidos básicos se emplean preferentemente en forma de sus sales inorgánicas (de preferencia en forma de las sales de ácido clorhídrico, es decir, como clorhidratos de aminoácido). Los aminoácidos empleados están preferentemente, en cada caso, en la forma L. El aminoácido presente en la preparación de acuerdo con la invención es, con particular preferencia, L-arginina, glicina o L-metionina.

La preparación comprende el aminoácido en una concentración de 2 a 200 mmol/l, preferentemente de 50 a 150 mmol/l, con particular preferencia de aproximadamente 100 mmol/l.

Los tensioactivos que se pueden usar son todos los tensioactivos usados habitualmente en preparaciones farmacéuticas, preferentemente ésteres de ácidos grasos de polietilén-sorbitano y copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno.

5 Los ésteres de ácidos grasos de polietilén-sorbitano también se conocen bajo el nombre de comercial Tween. Ésteres de ácidos grasos de polietilén-sorbitano adecuados son, en particular, monolaurato de polioxietilén (20)-sorbitano, mono-
10 palmitato de polioxietilén (20)-sorbitano y monoestearato de polioxietilén (20)-sorbitano. Se da preferencia al monolaurato de polioxietilén (20)-sorbitano y al monooleato de polioxietilén (20)-sorbitano, dando particular preferencia al monooleato de polioxietilén (20)-sorbitano. Los copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno también se conocen bajo
15 el nombre comercial de Poloxamer.

Un copolímero de particular preferencia de polioxietileno-polioxipropileno es Poloxamer 407 (CAS 9003-11-6).

Los tensioactivos pueden estar presentes en la formulación en una concentración de 0,001 % hasta 1,0 % en peso. Si
20 los ésteres de ácidos grasos de polioxietilén-sorbitano están presentes como tensioactivos, preferentemente están presentes en una cantidad de 0,005 a 0,1% en peso, con particular preferencia en una cantidad de aproximadamente 0,01% en peso. Si están presentes copolímeros de polioxietileno-
25 polioxipropileno, de preferencia están presentes en una

cantidad de 0,01 a 0,5 % en peso, con particular preferencia de aproximadamente 0,1 % en peso.

A fin de aumentar la tolerabilidad de la administración parenteral, de preferencia la osmolalidad está en el rango
5 isotónico, es decir, con una osmolalidad de aproximadamente 250 a 350 mOsmol/kg. Entonces, la preparación se puede administrar directamente por vía intravenosa, intraarterial y también subcutánea, substancialmente sin dolor.

En consecuencia, de acuerdo con una forma de realiza-
10 ción ventajosa, la preparación de acuerdo con la invención comprende, además, un modificador de la isotonicidad, preferentemente una sal fisiológicamente tolerada, tales como, por ejemplo, cloruro de sodio o cloruro de potasio, o un poliol fisiológicamente tolerado, tales como, por ejemplo,
15 glucosa o glicerol, en una concentración necesaria para la modificación de la isotonicidad. En consecuencia, la invención también se refiere a una preparación acuosa que comprende un anticuerpo anti-EGFR, un buffer, un aminoácido, un tensioactivo y un modificador de la isotonicidad en una con-
20 centración necesaria para modificar la isotonicidad. Con particular preferencia está presente el cloruro de sodio como modificador de la isotonicidad.

Además, las soluciones de acuerdo con la invención pueden comprender también auxiliares fisiológicamente tolera-
25 dos, tales como, por ejemplo, antioxidantes tales como ácido

ascórbico o glutatión, conservantes tales como fenol, m-cresol, metil- o propilparabeno, clorobutanol, tiomersal o cloruro de benzalconio, polietilenglicoles (PEG) tales como PEG 400, PEG 3000, 3350, 4000 o 6000, disacáridos tales como
5 trehalosa o sacarosa, o ciclodextrinas, tales como hidroxipropil- β -ciclodextrina, sulfobutiletíl- β -ciclodextrina, α -ciclodextrina o γ -ciclodextrina.

De acuerdo con una forma de realización particularmente ventajosa de la invención, la preparación acuosa comprende
10 aproximadamente 5 mg/ml de cetuximab o EMD 72000, aproximadamente 10 mmol/l de buffer de citrato o histidina con un pH de aproximadamente 5,5, aproximadamente 100 mmol/l de glicina, arginina o L-metionina, aproximadamente 100 mmol/l de cloruro de sodio y aproximadamente 0,01 % de monooleato de
15 polioxietilen (20)-sorbitano.

La preparación acuosa se puede preparar mediante la adición de dichos auxiliares a una solución que comprende el anticuerpo anti-EGFR. Con este fin, se pueden agregar ventajosamente volúmenes definidos de soluciones madre que com-
20 prenden dichos otros auxiliares en una concentración definida a una solución con una concentración definida de un anticuerpo anti-EGFR, como la obtenida a partir de su preparación, y si se desea, la mezcla se diluye a la concentración antes calculada con agua o solución buffer. Como alternati-
25 va, también se pueden agregar los auxiliares como sólidos a

la solución de inicio, que comprende el anticuerpo anti-EGFR. Si el anticuerpo anti-EGFR está en la forma de un sólido, p.ej. en forma de un liofilizado, la preparación de acuerdo con la invención se puede preparar mediante la disolución inicial de los respectivos anticuerpos en agua o una solución acuosa que comprende uno o varios de los otros auxiliares, y luego se agregan las cantidades requeridas en cada caso de soluciones madre que comprenden los demás auxiliares, con los demás auxiliares en forma sólida y/o agua.

5 El anticuerpo anti-EGFR se puede disolver ventajosamente de manera directa en una solución que comprende todos los demás auxiliares.

10

Uno o varios de los auxiliares presentes en la preparación de acuerdo con la invención se puede haber agregado ya ventajosamente durante o al final del procedimiento para la preparación del anticuerpo anti-EGFR en particular. Con preferencia, esto se realiza mediante la disolución del anticuerpo anti-EGFR directamente en una solución acuosa que comprende uno, más de uno o todos los demás auxiliares en la etapa final de la purificación que se realiza después de la preparación. A fin de producir la preparación, sólo se requiere entonces que los demás ingredientes respectivos se agreguen en una cantidad menor en cada caso y/o no se agreguen. Particularmente, se prefiere que los respectivos ingredientes se disuelvan directamente en una solución acuosa

15

20

25

que comprende todos los demás auxiliares en la etapa final de la purificación que se lleva a cabo después de su preparación. Si la solución que comprende el respectivo anticuerpo y los auxiliares todavía no presenta el pH deseado, éste
5 se ajusta con la adición de un ácido o una base, preferentemente usando el ácido o la base ya presente en el sistema buffer. A continuación se filtra bajo esterilidad.

La preparación acuosa de acuerdo con la invención se puede emplear ventajosamente para el tratamiento de enfermedades tumorales.
10

Los ejemplos explican la invención sin estar limitada a ellos.

Ejemplo 1 (Ejemplo comparativo 1)

Solución acuosa que comprende:

- 15 2 mg/ml de cetuximab
10 mmol/l de buffer de fosfato de sodio pH 7,2
145 mmol/l de cloruro de sodio

La preparación se lleva a cabo mezclando volúmenes definidos de soluciones acuosas que comprenden los respectivos
20 auxiliares en una concentración definida. Se utilizan las siguientes soluciones:

Solución A (solución con ingrediente activo) que comprende:

- 18 mg/ml de cetuximab
10 mmol/l de buffer de fosfato de sodio pH 7,2
25 (compuesto por 2,07 g/l de hidrógeno-fosfato disódico 7-

hidrato y 0,31 g/l de dihidrógeno-fosfato de sodio monohidrato)

145 mmol/l de cloruro de sodio

(La solución se obtiene reamortiguando el ingrediente activo respecto de la solución B con la ayuda de filtración de flujo tangencial en la etapa final de la purificación del ingrediente activo que tiene lugar después de su preparación.)

Solución B (buffer/solución de sales)

10 Corresponde a la solución A, pero no contiene ingrediente activo.

Para preparar la Solución comparativa 1, se combinan 1,11 partes en volumen de solución A y 8,89 partes en volumen de solución B entre sí.

15 La solución preparada se filtra usando un filtro estéril antes de la transferencia y se transfiere a viales para inyección. Los viales para inyección se sellan posteriormente con tapones y reborde.

Ejemplo 2 (Ejemplo comparativo 2)

20 Solución acuosa que comprende:

2 mg/ml de cetuximab

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

145 mmol/l de cloruro de sodio

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

25 La preparación se lleva a cabo mezclando volúmenes de-

finidos de soluciones acuosas que comprenden los respectivos ingredientes en una concentración definida. Además de la solución A, se usa la siguiente solución.

Solución C (buffer/solución de sales que comprende monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano)

Corresponde a la solución B, pero adicionalmente comprende 0,0125 % en peso de monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano.

Para preparar la solución comparativa 2, se combinan 1,11 partes en volumen de solución A y 8,89 partes en volumen de solución C entre sí.

La solución preparada se filtra usando un filtro estéril antes de la transferencia y se transfiere a viales para inyección. Los viales para inyección se sellan posteriormente con tapones y reborde.

Ejemplo 3 (formulación de acuerdo con la invención)

5 mg/ml de cetuximab

10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5

100 mmol/l de glicina

100 mmol/l de cloruro de sodio

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

La preparación se lleva a cabo mezclando volúmenes definidos de soluciones acuosas que comprenden los respectivos ingredientes en concentraciones definidas.

Solución D (solución con ingrediente activo en un buffer de

citrato)

16 mg/ml de cetuximab

10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5

(compuesto por 2,1014 g/l de ácido cítrico monohidrato)

- 5 (La solución se obtiene reamortiguando el ingrediente activo respecto de la solución E con la ayuda de filtración de flujo tangencial en la etapa final de la purificación del ingrediente activo que tiene lugar después de su preparación.)

10 Solución E (solución buffer):

Corresponde a la solución D, pero no contiene ingrediente activo.

Solución F (buffer/solución de sales):

Corresponde a la solución E, pero comprende

- 15 145,5 mmol/l de glicina,
145,5 mmol/l de cloruro de sodio y
0,015 % en peso de monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano.

- Para la preparación de la fórmula de acuerdo con la invención, se combinan 3,125 partes en volumen de solución D y
20 6,875 partes en volumen de solución F entre sí.

- La solución preparada se filtra usando un filtro estéril antes de la transferencia y se transfiere a viales para inyección. Los viales para inyección se sellan posteriormente
25 te con tapones y reborde.

Ejemplo 4

Las siguientes soluciones se preparan de modo análogo al método de los ejemplos descritos con anterioridad:

Ejemplo 4.1, solución que comprende:

- 5 5 mg/ml de cetuximab
- 100 mmol/l de glicina
- 0,01 % en peso de monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano
- 10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5
(compuesto por 2,9410 g/l de citrato trisódico dihidrato)

10 Ejemplo 4.2, solución que comprende:

- 5 mg/ml de cetuximab
- 100 mmol/l de glicina
- 100 mmol/l de cloruro de sodio
- 0,01 % en peso de monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano
- 15 10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5
(compuesto por 2,1014 g/l de ácido cítrico monohidrato)

Ejemplo 4.3, solución que comprende:

- 5 mg/ml de EMD 72000
- 100 mmol/l de glicina
- 20 100 mmol/l de cloruro de sodio
- 0,01 % en peso de monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano
- 10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5
(compuesto por 2,1014 g/l de ácido cítrico monohidrato)

Ejemplo 4.4, solución que comprende:

- 25 5 mg/ml de cetuximab

100 mmol/l de L-metionina

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

10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5

(compuesto por 2,1014 g/l de ácido cítrico monohidrato)

5 Ejemplo 4.5, solución que comprende:

5 mg/ml de cetuximab

100 mmol/l de glicina

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

10 mmol/l de buffer de acetato pH 5,5

10 (compuesto por 1,3608 g/l de acetato de sodio trihidrato)

Ejemplo 4.6, solución que comprende:

5 mg/ml de cetuximab

100 mmol/l de glicina

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

15 10 mmol/l de buffer de histidina pH 5,5

(compuesto por 2,069 g/l de monoclorhidrato de L-histidina monohidrato)

Ejemplo 4.7, solución que comprende:

5 mg/ml de cetuximab

20 100 mmol/l de glicina

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

10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5

(compuesto por 2,1014 g/l de ácido cítrico monohidrato)

25 Ejemplo 4.8, solución que comprende:

5 mg/ml de cetuximab

100 mmol/l de glicina

0,1 % en peso de copolímero de polioxietileno-polioxipropileno 407 (Poloxamer 407)

5 10 mmol/l de buffer de citrato pH 5,5

(compuesto por 2,1014 g/l de ácido cítrico monohidrato)

Ejemplo 5

La estabilidad de la formulación de acuerdo con la invención se ensayó en una prueba de estrés. Para ello, los

10 viales que contenían la solución de acuerdo con Ejemplo 3 y, con fines comparativos, viales que contenían la solución de acuerdo con Ejemplos 1 y 2, se almacenaron a 25° C y 60 % de humedad relativa ambiente y a 40° C y 75 % de humedad relativa ambiente. Además, los viales que contenían soluciones

15 de acuerdo con Ejemplos 1, 2 y 3 se agitaron durante cinco días en un equipo agitador a una frecuencia de agitación de 150 min⁻¹ a temperatura ambiente y se congelaron tres veces sucesivamente a -20° C y luego se volvieron a descongelar a +5° C. Antes de almacenar y después de tiempos de almacenam-

20 miento definidos, se evaluaron visualmente los viales con iluminación directa con una fuente de luz fría, y se determinó la absorción de las soluciones a 350 nm, lo cual representa una medida de turbidez. A fin de ilustrar la influencia del almacenamiento o tratamiento, se calculó en cada caso

25 la turbidez relativa respecto del valor inicial. Además,

se analizaron los viales por medio de filtración por HPLC en gel con respecto al contenido de cetuximab, agregados y productos de descomposición.

Los resultados de las investigaciones de estabilidad se

5 indican en la Tabla 1.

Solución de ensayo	Almacenamiento [tiempo / condiciones]	Cetuximab [%]	Agregados [%]	Productos de descomposición [%]	Turbidez a λ 350 nm	Turbidez relativa a λ = 350 nm	Evaluación visual
Ejemplo 1	0 semanas	99,67	0,12	0,22	0,005	1,00	Pequeñas partículas, baja cantidad, claro
Ejemplo 1	8 semanas 25° C/60 % h. r.	98,99	0,28	0,73	0,0081	1,62	Partículas grandes, gran cantidad, claro
Ejemplo 1	8 semanas 40° C/75 % h. r.	95,08	3,23	1,69	0,0235	4,70	Partículas grandes, gran cantidad, claro
Ejemplo 1	Agitación durante 5 días a 150 rpm y TA	99,60	0,17	0,24	0,829	165,80	Partículas muy grandes, muy alta cantidad de partículas, turbio
Ejemplo 1	3 ciclos de cong./	99,68	0,14	0,18	0,0089	1,78	Partículas grandes,

	descong. entre -20° C y +5° C						alto con- tenido de particu- las, lige- ramen-te turbio
Ejemplo 2	0 semanas	99,62	0,18	0,21	0,0048	1,00	Sin parti- culas, claro
Ejemplo 2	8 semanas 25° C / 60 % h. r.	99,02	0,28	0,70	0,0071	1,48	Pequeñas particu- las, baja cantidad, claro
Ejemplo 2	8 semanas 40° C / 75 % h. r.	93,95	4,34	1,72	0,0241	5,02	Pequeñas particu- las, baja cantidad, Claro
Ejemplo 2	Agitación durante 5 días a 150 rpm y TA	99,51	0,26	0,23	0,0075	1,56	Sin parti- culas, claro
Ejemplo 2	3 ciclos de cong./ des- cong. entre -20°C y +5° C	99,61	0,21	0,18	0,0064	1,48	Sin parti- culas, claro
Ejemplo 3	0 semanas	99,72	0,15	0,14	0,018	1,00	Sin parti- culas, claro
Ejemplo 3	8 semanas 25° C / 60 % h. r.	99,38	0,18	0,44	0,020	1,08	Pequeñas particu- las, baja

							cantidad, claro
Ejemplo 3	8 semanas 40°C/75% h. r.	98,15	0,46	1,40	0,030	1,63	Pequeñas partículas baja can- tidad, claro
Ejemplo 3	Agitación durante 5 días a 150 rpm y TA	99,15	0,70	0,15	0,019	1,04	Sin parti- culas, claro
Ejemplo 3	3 ciclos de cong./ descong. entre -20° C y +5° C	99,75	0,14	0,12	0,018	1,00	Sin parti- culas, claro

Tabla 1: Síntesis de los datos de estabilidad de la formula-
ción de acuerdo con la invención (Ejemplo 3) y las dos solu-
ciones comparativas (Ejemplos 1 y 2)

Los resultados muestran claramente que la formulación
5 de acuerdo con la invención tiene una estabilidad significa-
tivamente más elevada en comparación con las soluciones com-
parativas del arte previo.

REIVINDICACIONES

1. Preparación acuosa que comprende un anticuerpo anti-EGFR, un buffer, un aminoácido y un tensioactivo.

2. Preparación de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque el anticuerpo es cetuximab o EMD 72000 o uno de los análogos correspondientes de anticuerpo murino, humanizado o quimérico.

3. Preparación de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizada porque el anticuerpo es cetuximab o EMD 72000.

10 4. Preparación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque el buffer consiste en una o varias sales de citrato, sales de acetato, sales de histidina, sales de succinato, sales de malato, sales de fosfato o sales de lactato y/o sus respectivos ácidos o bases libres o una mezcla de una o varias de las diferentes sales y/o sus ácidos o bases.

5. Preparación de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada porque el buffer consiste en una o varias sales de citrato y/o su ácido libre, sales de acetato y/o su ácido libre o L-histidina y/o una de sus sales por adición de ácidos.

6. Preparación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada porque el aminoácido es L-arginina, glicina o L-metionina.

25 7. Preparación de acuerdo con una o varias de las rei-

vindicaciones 1 a 6, caracterizada porque el tensioactivo es un éster de ácido graso de polietilensorbitano o un copolímero de polioxietileno-polioxipropileno.

8. Preparación de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizada porque el tensioactivo de éster de ácido graso de polioxietilensorbitano es monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano o monolaurato de polioxietilen (20)-sorbitano.

9. Preparación de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizada porque el tensioactivo es Poloxamer 407.

10. Preparación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada porque también está presente un modificador de la isotonicidad en una concentración necesaria para una modificación de la isotonicidad.

11. Preparación de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizada porque el modificador de la isotonicidad es cloruro de sodio.

12. Preparación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada porque tiene un valor pH de 5 - 7, preferentemente de pH 5,2 a pH 6,0.

13. Preparación de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizada porque tiene un valor pH de aproximadamente 5,5.

14. Preparación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada porque comprende aproxi-

madamente 5 mg/ml de cetuximab o EMD 72000, aproximadamente 10 mmol/l de buffer de citrato o histidina, aproximadamente 100 mmol/l de glicina, L-arginina o L-metionina, aproximadamente 100 mmol/l de cloruro de sodio y aproximadamente 0,01 5 % de monooleato de polioxietilen (20)-sorbitano y tiene un valor pH de aproximadamente 5,5.

15. Procedimiento para la producción de una preparación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 14, caracterizado porque se añade una preparación 10 acuosa que comprende el anticuerpo anti-EGFR a uno de dichos auxiliares.

16. Uso de la preparación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 14 para el tratamiento de enfermedades tumorales.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/012044

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K47/18 A61K47/32 A61K47/30 A61K47/02 A61K47/06
A61K39/395 A61K9/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data bases consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 101 63 459 A1 (MERCK PATENT GMBH) 3 July 2003 (2003-07-03) paragraphs '0012! - '0017!, '0022! - '0032! examples 1-5 tables 1-3 claims 1-15	1-13,15, 16
P,X	WO 2004/060343 A (NEKTAR THERAPEUTICS; TZANNIS, STELIOS; PLATZ, ROBERT, A; DANI, BHAS, A) 22 July 2004 (2004-07-22) page 9, line 8 - page 10, line 29 page 15, line 19 - page 16, line 5 page 29, line 17 - page 30, line 9 claims 1-11,23-41,48-56 -/-	1-13,15, 16

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may show doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 March 2005

Date of mailing of the international search report

23/03/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. Box 1
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-0340, Tx. 31 681 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-0316

Authorized officer

Schifferer, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/012044

69

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02/072636 A (ALTUS BIOLOGICS INC; SHENOY, BHAMI; GOVARDHAN, CHANDRIKA, P; YANG, MA) 19 September 2002 (2002-09-19) example 31	1-16
A	EP 0 852 951 A (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH) 15 July 1998 (1998-07-15) claims 1-11 example 10	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2004/012044

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **16 (in part)**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 16 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged effects of the compound or composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(e).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP2004/012044

71

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10163459 A1	03-07-2003	AU 2002358533 A1	09-07-2003
		BR 0215266 A	07-12-2004
		CA 2470316 A1	03-07-2003
		WO 03053465 A2	03-07-2003
		EP 1455824 A2	15-09-2004
		HU 0402192 A2	28-01-2005
WO 2004060343 A	22-07-2004	WO 2004060343 A1	22-07-2004
WO 02072636 A	19-09-2002	CA 2433353 A1	19-09-2002
		EP 1345968 A2	24-09-2003
		JP 2005502589 T	27-01-2005
		WO 02072636 A2	19-09-2002
		US 2002136719 A1	26-09-2002
EP 0852951 A	15-07-1998	EP 0852951 A1	15-07-1998
		AT 276762 T	15-10-2004
		AU 735411 B2	05-07-2001
		AU 5484198 A	10-06-1998
		BR 9713521 A	21-03-2000
		CA 2272245 A1	28-05-1998
		CN 1244805 A	16-02-2000
		DE 59711959 D1	28-10-2004
		WO 9822136 A2	28-05-1998
		EP 0941121 A2	15-09-1999
		ID 19029 A	04-06-1998
		JP 2001503781 T	21-03-2001
		KR 2000053328 A	25-08-2000
		TR 9901696 T2	21-09-1999
		TW 520291 B	11-02-2003
		ZA 9710409 A	19-05-1999

Folio 72 Extraño

G

73
72

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 36,147
FECHA : MAYO 15 DE 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-050041- -00000-0000
Pag: 2006-05-24 17:34:46 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTE/VI
Eve: 376 FASENACIONALI
44411 CREACIONES/VI

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	54982575	15/05/2006	47,972,500.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRANITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
	TOTAL :	\$ 463,000.00

SDN: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE :  

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

06 09266 841 015 - 9



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

74 73

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Rad: 06-050041- -00000-0000

Fe: 2006-05-24 17:34:45 Dep. 2020 NUECREACIONE/

Tm. 11 PATENTEM/

Pr: 376 FASENACIONAL/

Delegatura de Propiedad Industrial División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL TRAMITE

PCT

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

DISEÑO INDUSTRIAL ()

-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
-Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

ESQUEMA DE TRAZADO ()

-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
-Representación gráfica del Esquema Trazado.	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable:

Fecha:

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

74
75
Folio 75

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
MERCK PATENT GMBH

REFERENCIA	Radicación No.	06 50041
	Solicitud internacional	EP2004/012044
	Fecha inicio fase nacional	27/06/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	1049
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC,

15 AGO. 2006

ALIX CARMEN CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

adpa1