

JOSE LLORED A CAMACHO & CO.

ABOGADOS

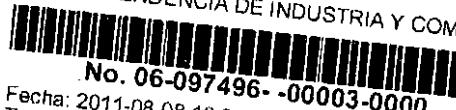
Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-097496- -00003-0000

Fecha: 2011-08-08 16:34:58
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 523 RESPUESTA

Dep. 2020 DIR.NUEVASOR
Eve: 379 FASENACIONALII
Folios: 13

Re: P1.-F.HOFFMANN-LA ROCHE AG.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "ANTICUERPOS ANTI-P-SELECTINA".-Clase C07K 16/28.-Expediente número 06-097.496.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista de 13 de Mayo de 2011.

2. Con el fin de responder a las objeciones expuestas por el Señor Examinador en su Concepto Técnico No. **1062** bajo los acápites de claridad de las reivindicaciones, excepciones a la patentabilidad, reivindicaciones relativas a un uso o a un segundo uso, novedad y nivel inventivo, me permito presentar las siguientes modificaciones en la solicitud de patente en cuestión y los siguientes argumentos técnicos, por medio de los cuales se superan completamente dichas objeciones.

3. **MODIFICACIONES EN EL CAPÍTULO REIVINDICATORIO**

Inicialmente me permito manifestar ante ese Despacho que el solicitante ha decidido realizar las siguientes modificaciones en el capítulo reivindicatorio de la solicitud:

- En la reivindicación 1 se adicionaron nuevas características del anticuerpo reivindicado, tal y como se menciona en detalle en el numeral 4 del presente memorial;
- Las reivindicaciones 2 a 4 y 12 a 23 actualmente presentadas fueron eliminadas;
- La nueva reivindicación 2 encuentra pleno sustento en el segundo párrafo de la página 64 de la descripción;
- La nueva reivindicación 3 encuentra pleno sustento en las páginas 18 y 19 de la descripción, teniendo presente que la SEQ ID NO:3 corresponde al dominio variable de cadena ligera de HuMab 002, mientras que la SEQ ID NO:4 corresponde al dominio variable de cadena pesada de HybMab 002;

- La nueva reivindicación 4 encuentra pleno sustento en las páginas 34 y 37 de la descripción;
- La nueva reivindicación 5 se encuentra dirigida a proteger de manera específica una de las posibles alternativas mencionadas en la reivindicación 1; y,
- Las nuevas reivindicaciones 6 a 12 corresponden a las reivindicaciones 5 a 11 actualmente presentadas.

De lo anterior es claro que las modificaciones realizadas en el capítulo reivindicatorio de la solicitud en cuestión no representan de manera alguna una ampliación del alcance de la solicitud presentada originalmente, cumpliendo por lo tanto a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en el artículo 34 de la Decisión 486 de 2000.

4. **CLARIDAD DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO**

El señor Examinador ha objetado la claridad del capítulo reivindicatorio aduciendo lo siguiente:

- ***"La reivindicación principal define un anticuerpo que se fija sobre la P-selectina caracterizado porque no se fija a C1q, porque la parte Fc es derivada de humano y por las mutaciones que presenta en algunos amino ácidos. Sin embargo, tales características no permiten establecer cuál es el anticuerpo de interés puesto que no se menciona la secuencia que presentan sus 6 CDRs (y sobre la cual se hacen las modificaciones mencionadas), o las regiones Fab de cadena pesada y ligera que permiten establecer su estructura"***

Atendiendo a lo anterior y de conformidad con lo mencionado en el punto 3 del presente memorial, me permito señalar que el solicitante ha decidido incluir en la reivindicación 1 las siguientes características adicionales del anticuerpo reivindicado:

- i. El anticuerpo tampoco se fija a receptores FC γ , lo cual encuentra pleno sustento en la página 27 de la descripción, toda vez que allí se establece que los anticuerpos de la invención en cuestión no despliegan con preferencia función efectora alguna y no se fijan sobre el FC γ R existente en las células NK; y,

- ii. El anticuerpo consta de una región pesada y una región ligera variables, las cuales, con independencia entre sí, se eligen entre el grupo conformado por:
- a) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:2 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:1;
 - b) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:4 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:3;
 - c) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:6 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:5;
 - d) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:8 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:7;
 - e) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:10 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:9;
 - f) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:12 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:11;
 - g) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:14 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:13;
 - h) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:16 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:15;
 - i) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:18 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:17;
 - j) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:20 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:19; y,
 - k) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:22 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:21.

Lo anterior encuentra pleno sustento en la página 20 de la descripción.

- ***"Igualmente, el anticuerpo definido en la reivindicación 4 está caracterizado por resultados a alcanzar con el mismo, como son que es un anticuerpo humanizado y que se une con una especificidad 1000 veces mayor. Estas no corresponden a características esenciales de la invención que permitan determinar su estructura"***

En respuesta a lo anterior me permito manifestar ante ese Despacho que el solicitante ha decidido eliminar la reivindicación 4 actualmente presentada, con lo cual se supera la objeción realizada por el señor Examinador a éste respecto.

- ***"La reivindicación 16 reclama un kit que contiene el anticuerpo definido en las reivindicaciones precedentes, la molécula de ácido nucleico que lo transcribe, un vector que lo contiene o la célula que contiene el vector. Todas estas posibles conformaciones del kit se tratan en realidad es del uso que se le dará a cada uno de estos productos, pues el kit reclamado está conformado por los mismos elementos ya caracterizados"***

En respuesta a lo anterior me permito manifestar ante ese Despacho que el solicitante ha decidido eliminar la reivindicación 16 actualmente presentada, con lo cual se supera la objeción realizada por el señor Examinador a éste respecto.

- ***"La reivindicación 17 reclama una composición que contiene un anticuerpo, donde dicho anticuerpo solo es definido por su actividad. La composición debe contener el anticuerpo definido en las reivindicaciones precedentes (indicándolo así) o indicando la estructura del anticuerpo particular que contiene"***

En respuesta a lo anterior me permito manifestar ante ese Despacho que el solicitante ha decidido eliminar la reivindicación 17 actualmente presentada, con lo cual se supera la objeción realizada por el señor Examinador a éste respecto.

- ***"Las reivindicaciones 9 y 17 reclaman cada una composiciones farmacéuticas que contienen anticuerpos, lo cual da la impresión de una falta de unidad de invención de la solicitud. Se recomienda revisar estas dos reivindicaciones y dejar una única reivindicación independiente que reclame la composición"***

En respuesta a lo anterior y de conformidad con lo mencionado en el punto anterior me permito señalar ante ese Despacho que el solicitante ha decidido eliminar la reivindicación 17 actualmente presentada y mantener la

reivindicación 9, la cual sin embargo ha sido enumerada como nueva reivindicación XXXXXX.

- ***"La reivindicación 23 que reclama la invención como tal carece de claridad puesto que no aporta ninguna característica esencial de la invención divulgada"***

Atendiendo a lo anterior me permito señalar ante ese Despacho que el solicitante ha decidido eliminar la reivindicación 23 actualmente presentada, con lo cual se supera completamente la objeción realizada por el señor Examinador a éste respecto.

Visto lo anterior me permito señalar ante ese Despacho que el nuevo capítulo reivindicatorio de la solicitud de patente en cuestión cumple a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en el artículo 30 de la Decisión 486 de 2000, toda vez que es claro, conciso y presenta pleno sustento en la descripción de la solicitud.

5. **EXCEPCIÓN A LA PATENTABILIDAD**

De otro lado, el señor Examinador afirma en su Concepto Técnico que las reivindicaciones 12 y 19 se refieren a un método de tratamiento que comprende la administración de un anticuerpo a un paciente, pero que según la norma comunitaria los métodos de diagnóstico y tratamiento están excluidos de patentabilidad, por lo que la materia reclamada en dichas cláusulas no puede ser patentada.

Atendiendo a lo anterior me permito señalar que el solicitante ha decidido eliminar las reivindicaciones 12 y 19 actualmente presentadas, con lo cual se supera completamente la objeción realizada por el señor Examinador a éste respecto.

6. **REIVINDICACIONES RELATIVAS A UN USO O A UN SEGUNDO USO**

Así mismo, el señor Examinador afirma en su Concepto Técnico que las reivindicaciones 13 a 15, 18 y 20 a 22 reclaman el uso del anticuerpo definido en las cláusulas precedentes, pero que según la norma comunitaria los usos no son materia susceptible de patente.

En respuesta a lo anterior me permito señalar que el solicitante ha decidido eliminar las reivindicaciones 13 a 15, 18 y 20 a 22 actualmente presentadas, con lo cual se supera completamente la objeción realizada por el señor Examinador a éste respecto.

7. NOVEDAD DE LA SOLICITUD

Ahora bien, el señor Examinador ha objetado la novedad de las reivindicaciones 17 y 20 de la solicitud en cuestión con base en las enseñanzas del siguiente documento:

(D1) → WO 94/025067

En este sentido, el señor Examinador argumenta básicamente que, tal como lo mencionó la autoridad de búsqueda internacional, el documento D1 divulga anticuerpos anti-P-selectina murinos y humanizados, razón por la cual las reivindicaciones 17 y 20 de la presente invención no son novedosas.

En respuesta a lo anterior y de conformidad con lo mencionado en el punto 3 del presente memorial, atentamente me permito señalar ante ese Despacho que el solicitante ha decidido eliminar las reivindicaciones 17 y 20 actualmente presentadas, con lo cual se superan completamente las objeciones de novedad realizadas por el señor Examinador a éste respecto.

En consecuencia, es claro que el nuevo capítulo reivindicatorio de la solicitud de patente en cuestión cumple a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en el artículo 16 de la Decisión 486 de 2000.

8. NIVEL INVENTIVO DE LA SOLICITUD

Finalmente, el señor Examinador ha objetado el nivel inventivo de la materia técnica revelada en la presente invención con base en las enseñanzas de los siguientes documentos:

(D1) → WO 94/025067

(D2) → Idusogie E., et. al. Journal Immunol. 2000; vol 164; 4178-4184

En este sentido, el señor Examinador argumenta básicamente que el documento más cercano del estado de la técnica es D1, toda vez que divulga anticuerpos anti-P-selectina humanizados, así como también divulga el uso de dicho anticuerpo para tratar enfermedades inflamatorias y trombóticas.

De acuerdo con el señor Examinador, la diferencia entre D1 y la solicitud en estudio es que el anticuerpo de la solicitud no se fija sobre el factor del complemento C1q. Sin embargo, el señor Examinador afirma que la modificación necesaria para lograr que no haya unión al factor de complemento C1q había sido reportada previamente en el documento D2.

En consecuencia, el señor Examinador concluye que la formulación y el anticuerpo anti-P-selectina de la presente invención habrían podido obtenerse de manera evidente a partir del documento D1, y que con la modificación en la región de unión al complemento divulgada en D2 se habría podido obtener el anticuerpo tal como es desarrollado en la solicitud en estudio, razón por la cual esta última carece de nivel inventivo.

En respuesta a lo anterior atentamente me permito presentar ante ese Despacho las siguientes consideraciones técnicas:

- (a) El documento D1 divulga determinados anticuerpos monoclonales anti-P-selectina humanizados que se caracterizan porque se fijan a P-selectina y porque resultan ser útiles en el tratamiento de la inflamación debido a que inhiben la adhesión de leucocitos a plaquetas activas y/o a endotelio vascular activo. Uno de dichos anticuerpos divulgados en D1 es el anticuerpo de murino PB1.3, el cual es producido mediante una línea celular con número de acceso ATCC HB11041.

Con base en lo anterior me permito señalar ante ese Despacho que los anticuerpos anti-P-selectina revelados en la solicitud de patente en cuestión se diferencian de los anticuerpos divulgados en D1 no solamente porque poseen una actividad inflamatoria in vivo reducida (lo anterior debido a que no enlazan al factor de complemento C1q y tampoco a los receptores FC γ), **sino también porque enlazan a diferentes epítomos de la P-selectina, tal y como se demuestra a continuación:**

- i. De acuerdo con lo mencionado en la página 31 de la descripción (líneas 19 a 25):

"Los anticuerpos de la presente invención son capaces con preferencia de fijarse sobre la P-selectina en presencia del fragmento aa 60-75 de P-selectina (Swiss-Prot secuencia P16109) y/o no inhiben competitivamente la fijación de un anticuerpo secretado por una línea celular designada con el número de entrada (accession) ATCC HB11041 sobre la P-selectina."

- ii. De acuerdo con lo anterior, es claro que el péptido CQNRVTDLVAIQNKNE (correspondiente al fragmento aa 60-75 de la secuencia Swiss Prot P16109) no afecta el enlace del anticuerpo revelado en la presente invención a P-selectina, razón por la cual dicho novedoso anticuerpo puede ser claramente

distinguido de los anticuerpos de ratón descritos en el documento D1 y designados G1, G2 y G3, toda vez que de acuerdo con lo señalado en la página 18 (líneas 15 a 19) de dicha anterioridad, la unión de dichos anticuerpos a P-selectina es parcial o completamente bloqueada por el péptido CQNR YTDLVAIQNKNE (lo anterior tomando como referencia el documento Geng et. al., JBC, 266:22313-22318 (1991)).

- iii. Ahora bien, del punto i) arriba mencionado también es claro que el anticuerpo revelado en la presente invención no inhibe competitivamente la unión del anticuerpo PB1.3 de murino (el cual es producido a partir de la línea celular que tiene el número ATCC HB11041) a P-selectina. Pese a lo anterior, en las páginas 4 (líneas 4 y 5) y 17 (líneas 30 y 31) del documento D1 se menciona de manera clara que el anticuerpo PB1.3 de murino es capaz de enlazar al epítipo ubicado entre los amino ácidos 448 a 467 de P-selectina (humana).

De lo anterior se concluye que dicho anticuerpo PB1.3 de murino enlaza a un epítipo diferente al cual se enlaza el anticuerpo revelado en la solicitud de patente en cuestión, toda vez que si bien el anticuerpo PB1.3 tiene la capacidad de enlazarse a P-selectina, dicha capacidad no se ve inhibida por el anticuerpo anti-Pselectina revelado en la presente invención.

- (b) Las diferencias existentes entre el anticuerpo de la presente invención (IgG4v1) y el anticuerpo divulgado en el documento D1 (PB1.3), especialmente aquella referente al hecho de que dichos anticuerpos enlazan a un epítipo diferente, explican los resultados experimentales de acuerdo con los cuales el anticuerpo IgG4v1 (presente invención) permite lograr un mejor bloqueo de la actividad biológica de P-selectina con relación al bloqueo logrado mediante el anticuerpo PB1.3 (documento D1).

En efecto y tal como se describe en detalle en el **reporte experimental que se presenta ante ese Despacho como anexo b)** del presente memorial, el solicitante de la invención en cuestión llevó a cabo una serie de experimentos comparativos tendientes a demostrar que el anticuerpo anti-P-selectina IgG4v1 de la presente invención (*el cual es representativo del anticuerpo HuMab 002 que presenta un dominio variable de cadena ligera definido mediante la secuencia de amino ácidos SEQ ID NO:3, y un dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de amino ácidos SEQ ID NO:4*) inhibe la adhesión de células tipo leucocito a

P-selectina con mucho mayor potencia que la mostrada por el anticuerpo PB1.3 divulgado en el documento D1.

Así, por ejemplo, a partir de los datos divulgados en el reporte experimental previamente mencionado es claro que el solicitante obtuvo valores de IC50 para la inhibición del enlace de células HL60 a P-selectina significativamente menores con el anticuerpo IgG4v1 de la presente invención en comparación con los valores logrados empleando el anticuerpo PB1.3 divulgado en el documento D1, lo anterior a pesar de que dichos anticuerpos presentan una afinidad de enlace similar de acuerdo con los experimentos BIAcore llevados a cabo.

Lo anterior evidencia que el anticuerpo revelado en la presente invención se caracteriza de manera sorpresiva por tener la capacidad de enlazarse a un epítipo de P-selectina que es diferente a aquellos epítipos a los cuales se enlazan los anticuerpos anti-P-selectina conocidos en el arte previo, con lo cual se logra un aumento significativo en la potencia de bloqueo de la actividad biológica de P-selectina, hecho que indiscutiblemente representa una clara ventaja técnica y corresponde a un importante aporte al estado del arte.

- (c) Ahora bien, con respecto al documento D2 considero de gran importancia señalar que dicha anterioridad simplemente describe el mapeo de los sitios de unión de C1q sobre Rituxan, el cual es un anticuerpo quimérico con un IgG1 Fc humano. En este sentido, en D2 se divulga que las mutaciones en las posiciones D270, K322, P329 y P331 reducen la capacidad del rituximab para enlazar a C1q.

Sin embargo, es evidente que el objetivo técnico de la solicitud de patente en cuestión (desarrollo de un anticuerpo caracterizado por poseer una mayor potencia inhibitoria de P-selectina) es completamente diferente al propósito descrito por los autores del documento D2 (reducción de la capacidad de enlace al factor de complemento C1q).

En consecuencia, el hecho de que en el documento D2 se divulguen las mismas modificaciones Fc que han sido realizadas sobre los anticuerpos reivindicados en la presente invención para reducir la actividad anti-inflamatoria, de ninguna manera constituye una razón técnica válida para desvirtuar el nivel inventivo de los anticuerpos revelados por el solicitante, toda vez que, tal como se analizó previamente en el presente escrito, la mejorada potencia inhibitoria de P-selectina mostrada por dichos novedosos anticuerpos de ninguna manera habría podido ser sugerida por

la persona medianamente versada en la materia a partir de la combinación de las enseñanzas de los documentos D1 y D2 señalados por ese Despacho.

Visto lo anterior, me permito manifestar que los novedosos anticuerpos anti-P-selectina revelados en el capítulo reivindicatorio de la solicitud de patente en cuestión presentan un inequívoco carácter inventivo frente a las enseñanzas de los documentos D1 y D2, cumpliendo por lo tanto a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000.

9. **CONCLUSIÓN**

De conformidad con los argumentos técnicos expuestos y con las modificaciones realizadas en el capítulo reivindicatorio de la solicitud de patente en cuestión, es claro que dicho documento cumple a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en el artículo 30 de la Decisión 486 de 2000, toda vez que es claro, conciso y presenta pleno sustento en la descripción de la solicitud.

Así mismo, en el presente memorial se han planteado una serie de argumentos técnicos que demuestran que la presente solicitud de patente está dirigida a proteger anticuerpos anti-P-selectina cuyas características técnicas son inventivas frente a la combinación de las enseñanzas de los documentos D1 y D2, toda vez que tales anterioridades no enseñan y tampoco sugieren que dichos novedosos anticuerpos presenten una mayor potencia inhibitoria de P-selectina con respecto a los anticuerpos conocidos en el estado de la técnica anterior.

Por lo tanto, resulta completamente claro que se han superado las objeciones presentadas por el señor Examinador en su Concepto Técnico, y en consecuencia, dicha invención es merecedora del privilegio de patente solicitado.

10. Anexo al presente memorial me permito presentar:

(a) Copia del nuevo capítulo reivindicatorio, el cual está compuesto por doce (12) reivindicaciones y reemplaza al documento presentado originalmente; y

(b) Traducción al español del reporte experimental realizado por el solicitante en relación con las pruebas llevadas a cabo para demostrar la mayor potencia inhibitoria de P-selectina mostrada por el anticuerpo IgG4v1 con respecto al anticuerpo PB1.3.

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

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

11. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las modificaciones y los argumentos presentados y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T. P. 53.215

NOTARIA 41 DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.
DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA
REPÚBLICA DE COLOMBIA

El Notario 41 del círculo de Bogotá, da fe de que compareció personalmente: Alicia Lloreda Ricaurte
identificada (o) con: C.C. 39690713 y tarjeta profesional de abogado No. 53715 del Consejo Superior de la Judicatura, quien autentica la firma puesta por ella (el) mismo en este escrito.

(Art. 84 C. P. C. Decreto. 2282/89 mod. 36)

Alicia Lloreda Ricaurte 01 AGO. 2011
Bogotá D.C.
ALICIA LLOREDA RICAURTE
C.C. No: 39690713 de Usaquén



Reivindicaciones

1. Un anticuerpo que se fija sobre la P-selectina, no se fija sobre el factor de complemento Clq y tampoco a receptores FC γ , que contiene una parte Fc derivada de un origen humano y está caracterizado porque dicho anticuerpo es un anticuerpo del subgrupo humano IgG1, que contiene por lo menos una mutación en L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 y/o P329 o es un anticuerpo del subgrupo humano IgG4, en el que S228 se reemplaza por P y L235 se reemplaza por E, y porque comprende una región ligera y pesada variables, independientemente seleccionada del grupo que consiste de:

- a) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:2 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:1;
- b) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:4 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:3;
- c) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:6 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:5;
- d) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:8 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:7;
- e) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:10 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:9;
- f) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:12 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:11;

- g) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:14 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:13;
- h) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:16 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:15;
- i) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:18 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:17;
- j) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:20 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:19; y,
- k) el dominio variable de cadena pesada definido mediante la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:22 y el dominio variable de cadena ligera definido mediante SEQ ID NO:21.

2. El anticuerpo anti-P-selectina de la reivindicación 1, caracterizado porque el anticuerpo inhibe la adhesión de células de leucocito tipo HL60 a P-selectina purificada con un valor de IC50 de 0,08 a 0,5 µg/ml.

3. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, el cual comprende las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 del dominio variable de cadena ligera que está definido mediante la secuencia SEQ ID NO:3 y las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 del dominio variable de cadena pesada que está definido mediante la SEQ ID NO: 4.

4. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la región constante de cadena pesada humana comprende la secuencia de amino ácidos de SEQ ID NO:28 y la región constante de cadena k-ligera es como está definida en SEQ ID NO:23.

5. El anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque es un anticuerpo de subclase humana IgG4, en donde S228 se reemplaza por P y L235 se reemplaza por E.

6. Una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula de anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

7. Un vector que contiene la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 6.

8. Una célula hospedante que contiene el vector de la reivindicación 7.

9. Un método para la obtención de una molécula de anticuerpo de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que consiste en cultivar la célula hospedante de la reivindicación 8 en condiciones que permitan la síntesis de dicha molécula de anticuerpo y en recuperar dicha molécula de anticuerpo de dicho cultivo.

10. Una composición que contiene una molécula de anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una molécula de anticuerpo producida por el método de la reivindicación 9.

11. La composición de la reivindicación 10, que es una composición farmacéutica o de diagnóstico.

12. Una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Anexo B

REPORTE EXPERIMENTAL

Experimentos de adhesión con los anticuerpos anti-P-selectina IgG4v1 y PB1.3 (D1)

Aspectos básicos del ensayo de adhesión:

El ensayo analiza la adhesión de células HL60 tipo leucocitos a P-selectina inmovilizada sobre platos de microtitulación en la presencia o ausencia de un anticuerpo anti-P-selectina.

Método:

Los detalles del método se describen en la presente solicitud de patente, es decir, en el documento WO 2005/100402 sección [00174]. En resumen, se colocó P-selectina purificada sobre platos de microtitulación. Después de un paso de bloqueo los pozos fueron pre-incubados con diluciones incrementadas de los anticuerpos anti P-selectina IgG4v1 o PB1.3 (un anticuerpo monoclonal de ratón reivindicado en la patente CYTEL/AERES WO 94/25067 (D1), producidas mediante una línea celular que tiene el número de acceso ATCC HB11041). Se adicionaron células HL60, las cuales fueron marcadas con una tinta fluorescente y se permitió que se unieran a P-selectina durante 45 minutos. Luego de remover las células HL60 no enlazadas mediante lavado abundante, las células adherentes fueron lizadas. Los sobrenadantes fueron transferidos a platos para medir la fluorescencia respectiva.

Se desarrollaron tres experimentos en los cuales se evaluó el efecto inhibitorio de IgG4v1 y PB1.3 sobre la adhesión de células HL60 mediante una comparación cabeza a cabeza.

Resultados:

El promedio de los valores IC50 de IgG4v1 para la inhibición de la adhesión de células HL60 a P-selectina fue de 0,17 µg/mL (Tabla 1). El efecto inhibitorio de PB1.3 sobre la adhesión de células HL60 fue claramente mucho menor en comparación a IgG4v1. En los dos primeros experimentos (03-12-02, 04-01-28) PB1.3 inhibió hasta un 20 % de la adhesión de células HL60 a una concentración de 10 µg/mL, mientras que IgG4v1 inhibió el 100% de la adhesión de células HL60 a la misma concentración (Figuras 1 y 2). En esos dos experimentos, los valores IC50 de PB1.3 únicamente pueden ser estimados a estar por encima de las concentraciones máximas probadas, las cuales fueron 10 y 30 µg/mL, respectivamente. En el tercer experimento (04-02-12), en el cual PB1.3 se probó a concentraciones por encima de 100 µg/mL, el valor IC50 de PB1.3 fue de 411,03 µg/mL, mientras que el valor IC50 de IgG4v1 fue de 0,15 µg/mL (Tabla 1, figura 3). El último experimento demuestra que IgG4v1 es cerca de 2700 veces más potente que PB1.3 cuando se comparan los valores IC50 para la inhibición de la adhesión de células HL60.

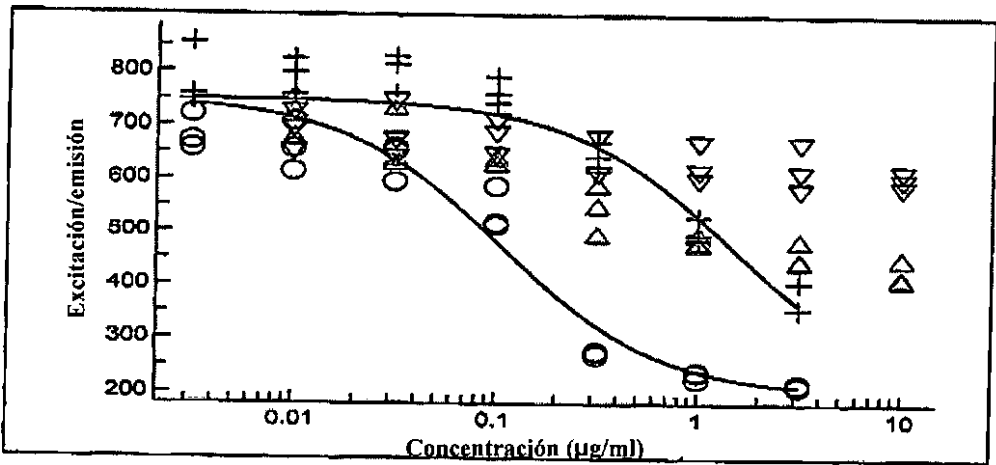
Tabla 1. Efecto inhibitorio de IgG4v1 y PB1.3 sobre la adhesión de células HL60 a P-selectina (Resumen de los tres experimentos)

Fecha del experimento	Valores IC50 de IgG4v1 µg/mL	Valores IC50 de PB1.3 µg/mL
02.12.2003	0,11	>10*
28.01.2004	0,25	>30**
12.02.2004	0,15	411,03
Promedio	0,17	

* La concentración más alta que se probó fue 10 µg/mL. Con base en la figura, el valor IC50 esperado estaría incluso por encima de 100 µg/mL.

** La concentración más alta que se probó fue 30 µg/mL. Con base en la figura, el valor IC50 esperado estaría incluso por encima de 100 µg/mL.

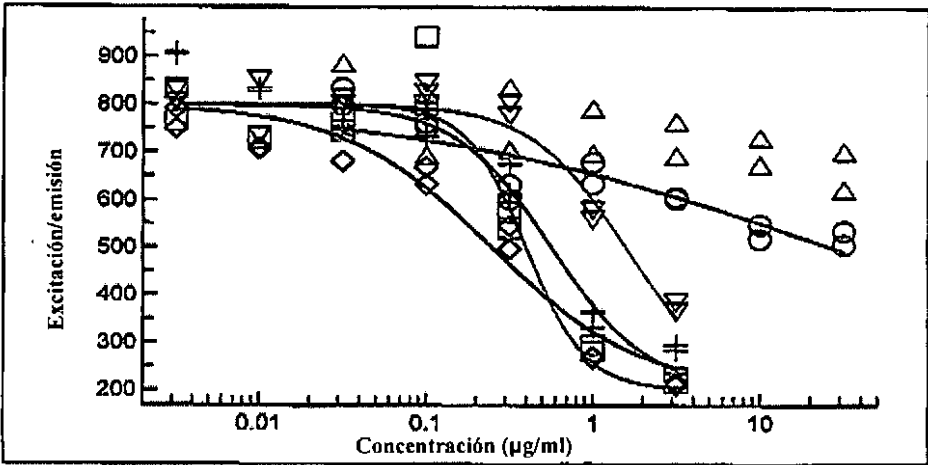
Figura 1. Efecto inhibitorio de IgG4v1 y PB1.3 sobre la adhesión de células HL60 a selectina-P en el experimento de 03-12-02



o = IgG4v1; ▽ = PB1.3

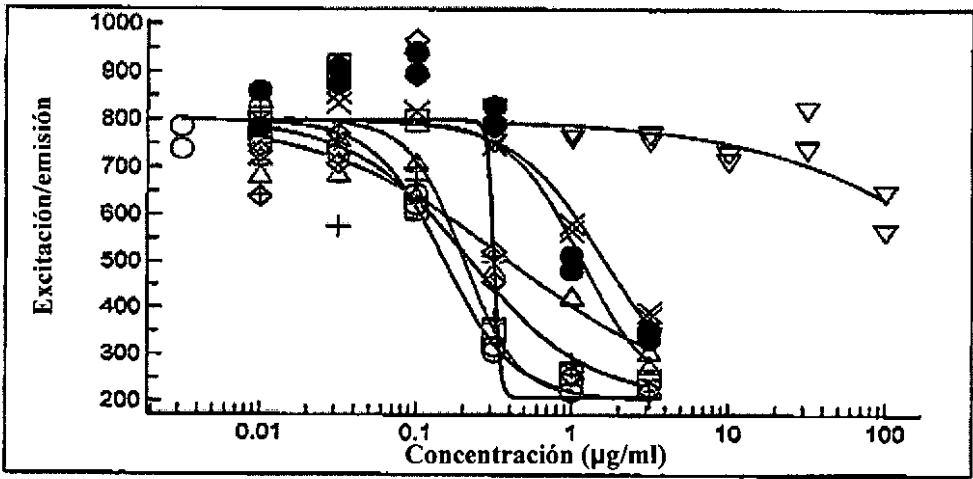
IgG4v1 inhibe la adhesión de células HL60 con un IG50 de 0,11 µg/mL. El valor IC50 de PB1.3 se estima a estar claramente por encima de 10 µg/mL (mayor concentración probada)

Figura 2. Efecto inhibitorio de IgG4v1 y PB1.3 sobre la adhesión de células HL60 a selectina-P en el experimento de 04-01-28



◊ = IgG4v1; Δ= PB1.3
 IgG4v1 inhibe la adhesión de células HL60 con un IG50 de 0,25 µg/mL. El valor IC50 de PB1.3 se estima a estar claramente por encima de 30 µg/mL (mayor concentración probada)

Figura 3. Efecto inhibitorio de IgG4v1 y PB1.3 sobre la adhesión de células HL60 a selectina-P en el experimento de 04-02-12



o = IgG4v1; ▽ = PB1.3
 IgG4v1 inhibe la adhesión de células HL60 con un IG50 de 0,15 µg/mL. El valor IC50 de PB1.3 es 411,03 µg/mL

Conclusiones:

El anticuerpo anti-P-selectina IgG4v1 completamente humano es más potente que el anticuerpo anti-P-selectina PB1.3 en la inhibición de la adhesión de células tipo leucocito a P-selectina. En uno de los experimentos, IgG4v1 es >2000 veces más potente que PB1.3 cuando se comparan los valores IC50 de la inhibición de adhesión de células de HL60. Este hallazgo se traduce en una mejor actividad anti-inflamatoria (un modo de acción) del anticuerpo IgG4v1 con respecto al anticuerpo PB1.3. Lo anterior sugiere que IgG4v1 inhibe la adhesión de leucocitos a las células endoteliales inflamadas y el enganche de leucocitos a los sitios de inflamación de manera más eficiente que el anticuerpo PB1.3.

A pesar de que IgG4v1 y PB1.3 tiene una afinidad de enlace más o menos similar (analizado en experimentos de BIACORE), IgG4v1 tiene una mayor actividad inhibitoria comparado con PB1.3.