



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-263188-00000-0000

Fecha: 2013-11-07 15:15:11

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 73

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO Metodo para la produccion de formulacio-
nes inyectables de productos proteicos hemoderiva-
dos y productos obtenidos utilizando dicho
metodo.

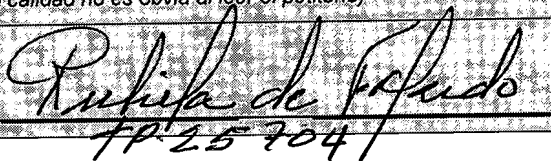
51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C07K 1/14 (2006.01), A61K 38/38 (2006.01),
A61K 39/395 (2006.01), AG1P 7/00 (2006.01),
C07K 14/76 (2006.01), C07K 16/18 (2006.01).

71. SOLICITANTE Universidad de Costa Rica.

DOMICILIO San-José - Costa Rica

74. APODERADO Rubiala Arias de Fajardo

22. BOGOTÁ, D. C., Noxiambra de 2013.

10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD	SI	X NO
1.	(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO
2.			(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
3.			2011/04/08
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>			
☐ SI ☒ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA X SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 13-113248 / 13-113249	Fecha 7-11-13
16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL		
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)			
RUBIELA ARIAS DE FAJARDO (APODERADA)  FP 25704			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. X Descripción N° de folios: 27 a 52		9. X Poderes, si fuera el caso.	
2. X Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 36		10. X Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.	
3. X Dibujos y/o figuras N° folios: 21 a 26		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. X Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☐ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. X Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. X Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

1	(12) TIPO DE SOLICITUD		NUMERO DE RADICACIÓN PCT /CR2011/00001	
	X Patente de invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad		FECHA DE PRESENTACIÓN 08/04/2011	
4	(71) SOLICITANTE (S)			
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
2. Segura Ruiz 3. Vargas Arroyo 4. Leon Montero 5. Villalta Arrieta 6. Herrera Vega 7. Angulo Ugalde		Alvaro Mariangela Guillermo Mauren Maria Yamileth		
5	DATOS DEL SOLICITANTE			
PAÍS DE RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
2. Costa Rica		San Jose	Piedades de Santa Ana	Del Cementerio de Piedades, 200 m oeste. C.Postal 10905
3. Costa Rica		San Jose	Dulce Nombre de Vasquez de Coronado	De la antigua Academia de Policías, 50 m oeste y 50 m sur..C.P.20110
4. Costa Rica		Alajuela	Desamparados de Alajuela	Calle la Claudia, casa No.17 C.P.20110
5. Costa Rica		San Jose	Sabanilla de Montes de Oca	Del Supermercado La Cosecha, 300 m norte y 100 oeste. C.P.11502.
6. Costa Rica		Cartago	Tres Rios de La Union	De la Iglesia de Concepcion, 500 m este. C.P.30301.
7. Costa Rica		San Jose	Desamparados	De Mosaicos Doninelli,50m este, contiguo Autos Coreanos. CP10301
TELÉFONO		FAX	E-MAIL	NACIONALIDAD
		506-2283-4226		Costaricenses
6	(72) INVENTOR (ES)			
APELLIDOS		NOMBRE	NACIONALIDAD	
6. ANGULO UGALDE		YAMILETH	COSTARICENSE	
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
7	DATOS INVENTOR (ES)			
DIRECCIÓN		CIUDAD	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS RESIDENCIA
6. De Mosaicos Doninelli, 50m este, Contiguo Autos Coreanos C.P.10301		Desamparados	San Jose	Costa Rica
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
9	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD			

PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	NÚMERO	FECHA (AAAA/MM/DD)
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

CÓMO DILIGENCIAR EL PETITORIO PCT

Este formulario debe ser diligenciado únicamente por el (los) solicitante(s) que desea entrar en Colombia a la Fase Nacional en virtud del Tratado de Cooperación en materia de Patentes (PCT).

1. TIPO DE SOLICITUD

Marcar en la casilla correspondiente si se trata de una solicitud internacional de Patente de Invención o de Patente de Modelo de Utilidad. Únicamente se acepta una opción por cada solicitud. Indique si la solicitud se tramitó bajo el Capítulo I o el Capítulo II

2. DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT

Indique el número asignado como Solicitud Internacional por la Oficina receptora y la fecha de presentación de la solicitud. Además, indique el número y la fecha de la publicación internacional.

3. TÍTULO DE LA INVENCION

Defina en forma breve y precisa el nombre técnico de la invención que deberá ser congruente con las reivindicaciones y la descripción. El título no debe referirse a marcas ni nombres comerciales. Máximo 200 caracteres.

4. CIP (Clasificación Internacional de Patentes)

Indique las clasificaciones que aparecen en la publicación internacional.

5. SOLICITANTE (S)

Si existieran más solicitantes, utilícese las hojas de información complementaria.

- Apellidos o Razón Social.

En el caso de ser el solicitante una persona natural, indíquese los dos apellidos.

En el caso de ser el solicitante una persona jurídica indíquese la razón social completa de ésta.

- Nombre.

Liénesse únicamente para personas naturales.

- Identificación.

Solo para solicitantes nacionales: Las personas naturales indicarán su C.C. (cédula de ciudadanía) y las personas jurídicas indicarán el NIT (Número de Identificación Tributaria).

- Tipo de solicitante.

Las personas jurídicas habrán de contestar con un dígito: [1] Microempresa: menos de 10 trabajadores, activos totales inferiores a 501 salarios mínimos legales vigentes. [2] Pequeña empresa. Entre 11 y 50 trabajadores, activos totales mayores a 501 y menores a 5.001 salarios mínimos mensuales vigentes. [3] Mediana empresa: personal entre 51 y 200 trabajadores, activos totales entre 5.001 y 15.000 salarios mínimos mensuales legales vigentes. [4] La empresa no es PYME. Si la persona jurídica no es empresa, indicar [5] Institución educativa (universidad, colegio, instituto, etc.). [6] Centro de investigación. [7] Si es persona natural.

6. DATOS DEL SOLICITANTE

Los datos indicados en esta sección, servirán para las posibles comunicaciones que la SIC realice, en caso de que la tramitación no se haga por intermedio de un representante o apoderado.

- Dirección, ciudad, departamento/estado/provincia y país de residencia.

Indíquese los datos completos de localización. Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI). En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.

- Nacionalidad.

Indíquese la nacionalidad del solicitante. En caso de ser una persona jurídica, indíquese el lugar de constitución. Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI).

En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.

e-mail: Indicar claramente el correo electrónico con el fin de establecer comunicación.

7. INVENTORES

Indicar Apellidos, nombre y nacionalidad del inventor o inventores (deben ser personas naturales) en las casillas correspondientes. En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.

8. DATOS DE LOS INVENTORES

- Dirección, ciudad, departamento/estado/provincia y país de residencia.

Indicar los datos completos de localización. Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI).

9. REPRESENTANTE O APODERADO

Si la solicitud la presenta una persona natural sin apoderado, no debe diligenciarse esta sección.

Si la solicitud la presenta una persona jurídica sin apoderado, debe diligenciarse esta sección indicando el nombre del representante legal. Deberá anexarse el documento que acredite la existencia y representación legal

Si la solicitud se presenta a través de apoderado, debe diligenciarse esta sección indicando el nombre del abogado que adelantará la actuación administrativa. Deberá anexarse el poder.

Número de Protocolo: En caso de haber presentado poder general y tiene un número de protocolo asignado por favor escribirlo.

10. DECLARACIÓN DE PRIORIDAD

Si el solicitante reclamó prioridad en la Solicitud Internacional indicar: - País de origen.

Indique el país donde se presentó por primera vez la solicitud.

Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI).

- Número.

Indique el número asignado a la solicitud en el país del que se reivindica prioridad.

- Fecha (AAAA/MM/DD).

Indique la fecha de solicitud en el país del que se reivindica prioridad.

En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.

11. DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS

Marcar "SI" cuando la invención fue desarrollada a partir de recursos genéticos o recursos biológicos de los que cualesquiera de los países miembros de la Comunidad Andina (Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú) es país de origen y anexar el contrato de acceso emitido por la Autoridad Nacional Competente (Ministerio del Medio Ambiente para Colombia).

12. DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES

Si la invención fue desarrollada usando conocimiento tradicional asociado a recursos genéticos o recursos biológicos de comunidades indígenas, afrodescendientes o locales de países miembros de la Comunidad Andina, debe anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional emitido por la comunidad.

14. COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO

Indique el número y fecha del recibo de pago de la tasa establecida o del pago electrónico. El comprobante de pago deberá anexarse.

15. FIRMA

Escribir el nombre completo y la firma de la persona que solicita la concesión de la patente.

Si se actúa a través de abogado la firma deberá ser la del apoderado; si actúa directamente una persona jurídica la firma deberá ser la del representante legal y si actúa directamente una persona natural ésta deberá firmar la solicitud.

16. RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD

La documentación de la solicitud deberá presentarse en el orden que viene la relación de documentos, primero la documentación técnica y luego la documentación jurídica.

Señale en las casillas correspondientes a los documentos que acompañarán la solicitud e indíquese los números de folios y el número de reivindicaciones que correspondan.

OTROS : LISTADO SE SECUENCIAS

Si la solicitud contiene listado de secuencias aminoácidos y/o secuencias nucleótidos, estas deben suministrarse también en formato digital (CD o DVD con listado de secuencias en archivo de texto alfanumérico)

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 113248
		Bogotá D.C., Noviembre 07 de 2013 - 14:31:41

RECIBIDO DE : RUBIELA ARIAS DE FAJARDO	CC 38.984.230
--	---------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	558589345	07/11/2013	1.605.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00 500.000.00
			\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-263188- -00000-0000
Fecha: 2013-11-07 15:15:11 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 72

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

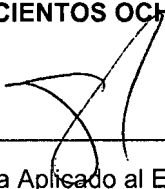
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 113249
		Bogotá D.C., Noviembre 07 de 2013 - 14:31:41

RECIBIDO DE : RUBIELA ARIAS DE FAJARDO CC 38.984.230

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	558589345	07/11/2013	1.605.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
26 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	780.000.00
			\$780.000.00

SON: **SETECIENTOS OCHENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-263188- -00000-0000
Fecha: 2013-11-07 15:15:11 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 72

PCT

PETITORIO

El abajo firmante pide que la presente solicitud internacional sea tramitada con arreglo al Tratado de Cooperación en materia de Patentes.

Para uso de la Oficina receptora únicamente

PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1
Solicitud internacional N°

(08-04-2011)

08 ABR. 2011

Fecha de presentación internacional

SOLICITUD INTERNACIONAL PCT OR/CR

Nombre de la Oficina receptora y "Solicitud internacional PCT"

Referencia al expediente del solicitante o del mandatario (si se desea)
(como máximo, 12 caracteres)

Recuadro N° I TÍTULO DE LA INVENCIÓN

MÉTODO PARA LA PRODUCCIÓN DE FORMULACIONES INYECTABLES DE PRODUCTOS PROTEICOS HEMODERIVADOS Y PRODUCTOS OBTENIDOS UTILIZANDO DICHO MÉTODO

Recuadro N° II SOLICITANTE

☐ Esta persona también es inventor.

Nombre y dirección: (apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
San Pedro de Montes de Oca
San José, Código Postal 11501
CR

N° de teléfono

(506) 2511-5835

N° de facsímil

(506) 2283-4226

N° de registro del solicitante en la Oficina

Autorización a utilizar el correo-e. Al marcar una de las casillas que figuran abajo se autoriza a la Oficina receptora, la Administración de búsqueda internacional, la Oficina Internacional y la Administración de examen preliminar internacional a utilizar la dirección de correo-e que se indica en este recuadro para enviar notificaciones relativas a la presente solicitud internacional, si dichas oficinas así lo desean

☒ como copias previas por vía electrónica seguidas de las notificaciones en papel o,☐ por correo electrónico exclusivamente (no se enviará ninguna notificación en papel)

Dirección de correo-e: silvias@racsa.co.cr

Estado de nacionalidad (nombre del Estado):

CR

Estado de domicilio (nombre del Estado):

CR

Esta persona es
solicitante para:☐ todos los Estados
designados☒ todos los Estados designados salvo
los Estados Unidos de América☐ los Estados Unidos de
América únicamente☐ los Estados indicados en
el recuadro suplementario

Recuadro N° III OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)

☒ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja de continuación.

Recuadro N° IV MANDATARIO O REPRESENTANTE COMÚN; O DIRECCIÓN PARA LA CORRESPONDENCIA

La persona abajo identificada se nombra/ha sido nombrada para actuar en nombre del/
de los solicitante(s) ante las administraciones internacionales competentes como:

☒ mandatario☐ representante común

Nombre y dirección: (apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país.)

SALAZAR FALLAS, Silvia
Santo Tomás de Santo Domingo de Heredia
Frente al Hotel Bougainvillea, tapia amarilla portón gris No 3
Código Postal 40305
CR

N° de teléfono

(506) 2244-2507

N° de facsímil

(506) 2244-2427

N° de registro del mandatario en la Oficina

Autorización a utilizar el correo-e. Al marcar una de las casillas que figuran abajo se autoriza a la Oficina receptora, la Administración de búsqueda internacional, la Oficina Internacional y la Administración de examen preliminar internacional a utilizar la dirección de correo-e que se indica en este recuadro para enviar notificaciones relativas a la presente solicitud internacional, si dichas oficinas así lo desean

☒ como copias previas por vía electrónica seguidas de las notificaciones en papel o,☐ por correo electrónico exclusivamente (no se enviará ninguna notificación en papel)

Dirección de correo-e: silvias@racsa.co.cr

☐ Dirección para la correspondencia: márquese esta casilla cuando no se nombre/se haya nombrado ningún mandatario o representante común y el espacio de arriba se utilice en su lugar para indicar una dirección especial a la que deba enviarse la correspondencia.

Recuadro N° III OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)	
Si no se ha de utilizar ninguno de estos subrecuadros, esta hoja no debe ser incluida en el petitorio.	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i> SEGURA RUIZ, Álvaro Piedades de Santa Ana de San José Del cementerio de Piedades, 200 m oeste Código Postal 10905 CR	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad (nombre del Estado): CR	Estado de domicilio (nombre del Estado): CR
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☒ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado (es decir, país) de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i> VARGAS ARROYO, Mariángela Dulce Nombre de Vásquez de Coronado de San José De la antigua Academia de Policías, 50 m oeste y 50 m sur Código Postal 20110 CR	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad (nombre del Estado): CR	Estado de domicilio (nombre del Estado): CR
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☒ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i> LEÓN MONTERO, Guillermo Desamparados de Alajuela de Alajuela Calle la Claudia, casa No 17 Código Postal 20110 CR	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad (nombre del Estado): CR	Estado de domicilio (nombre del Estado): CR
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☒ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i> VILLALTA ARRIETA, Mauren Sabanilla de Montes de Oca de San José Del Supermercado La Cosecha, 300 m norte y 100 oeste Código Postal 11502 CR	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad (nombre del Estado): CR	Estado de domicilio (nombre del Estado): CR
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☒ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
☒ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en otra hoja de continuación.	

Recuadro N° III OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)	
Si no se ha de utilizar ninguno de estos subrecuadros, esta hoja no debe ser incluida en el petitorio.	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i> HERRERA VEGA, María Tres Ríos de la Unión de Cartago De la Iglesia de Concepción, 500 m este Código Postal 30301 CR	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad <i>(nombre del Estado):</i> CR	Estado de domicilio <i>(nombre del Estado):</i> CR
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☒ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado (es decir, país) de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i> ANGULO UGALDE, Yamileth Desamparados de Desamparados de San José De Mosaicos Doninelli, 50 m este, contiguo Autos Coreanos Código Postal 10301 CR	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad <i>(nombre del Estado):</i> CR	Estado de domicilio <i>(nombre del Estado):</i> CR
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☒ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i>	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☐ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad <i>(nombre del Estado):</i>	Estado de domicilio <i>(nombre del Estado):</i>
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☐ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
Nombre y dirección: <i>(apellido seguido del nombre; si se trata de una persona jurídica, la designación oficial completa. En la dirección deben figurar el código postal y el nombre del país. El país de la dirección indicada en este recuadro es el Estado de domicilio del solicitante si no se indica más abajo el Estado de domicilio.)</i>	Esta persona es: ☐ solicitante únicamente ☐ solicitante e inventor ☐ inventor únicamente <i>(si se marca esta casilla, no se debe rellenar lo que sigue.)</i> N° de registro del solicitante en la Oficina
Estado de nacionalidad <i>(nombre del Estado):</i>	Estado de domicilio <i>(nombre del Estado):</i>
Esta persona es solicitante para: ☐ todos los Estados designados ☐ todos los Estados designados salvo los Estados Unidos de América ☐ los Estados Unidos de América únicamente ☐ los Estados indicados en el recuadro suplementario	
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en otra hoja de continuación.	

Recuadro N° V DESIGNACIONES

Según la Regla 4.9.a), la presentación de este petitorio constituye la designación de todos los Estados contratantes vinculados por el PCT en la fecha de presentación internacional a efectos de todo tipo de protección disponible y, cuando proceda, de la concesión tanto de patentes regionales como de patentes nacionales.

Sin embargo,

☐

DE Alemania no se designa para ningún tipo de protección nacional

☐

JP Japón no se designa para ningún tipo de protección nacional

☐

KR República de Corea no se designa para ningún tipo de protección nacional

(Se puede utilizar las casillas de arriba para excluir (de manera irrevocable) las designaciones en cuestión, a condición de que la solicitud internacional, en la fecha de presentación o ulteriormente según la Regla 26bis.1, reivindique en el Recuadro N° VI la prioridad de una solicitud nacional anterior presentada en el Estado en cuestión, para evitar que, en virtud de la ley nacional, cesen los efectos de esta solicitud anterior).

Recuadro N° VI REIVINDICACIÓN DE PRIORIDAD

Se reivindica la prioridad de las siguientes solicitudes anteriores:

Fecha de presentación de la solicitud anterior (día/mes/año)	Número de la solicitud anterior	Si la solicitud anterior es:		
		solicitud nacional: país o miembro de la OMC	solicitud regional: Oficina regional	solicitud internacional: Oficina receptora
Punto (1)				
Punto (2)				
Punto (3)				

☐

En el recuadro suplementario se incluyen reivindicaciones de prioridad adicionales

☐

Se pide a la Oficina Internacional que se procure en una biblioteca digital una copia certificada de la o las solicitudes anteriores (si la Oficina Internacional tiene acceso a esta o estas solicitudes en una biblioteca digital) indicadas abajo como*

☐

todos los puntos

☐

Punto (1)

☐

Punto (2)

☐

Punto (3)

☐

otros, ver recuadro suplementario

☐

Se pide a la Oficina receptora que prepare y transmita a la Oficina Internacional una copia certificada de la o las solicitudes anteriores (si esta o estas solicitudes han sido presentadas en la Oficina que, a los fines de esta solicitud internacional, es la Oficina receptora) o que obtenga una copia certificada de la o las solicitudes anteriores en una biblioteca digital y la transmita a la Oficina Internacional (si la Oficina receptora tiene acceso a esta o estas solicitudes en una biblioteca digital), indicadas abajo, como*

☐

todos los puntos

☐

Punto (1)

☐

Punto (2)

☐

Punto (3)

☐

otros, ver recuadro suplementario

* si la copia certificada de la o las solicitudes anteriores no se halla en una biblioteca digital bajo el número de la solicitud anterior arriba indicada, sino bajo el número de otra solicitud que reivindica la misma prioridad, indicar ese número en la hoja suplementaria (Punto 4).

Restaurar el derecho de prioridad: se solicita a la Oficina receptora que restaure el derecho de prioridad respecto a la(s) solicitud(es) anterior(es) indicada(s) más arriba o en el recuadro suplementario como punto(s): (). *(Véanse también las Notas del Recuadro N° VI; se darán informaciones más amplias que apoyen la petición de restauración del derecho de prioridad).*

Incorporación por referencia: cuando un elemento de la solicitud internacional mencionado en el Artículo 11.1)iii)d) o e) o una parte de la descripción, de las reivindicaciones o de los dibujos mencionada en la Regla 20.5.a) no está contenido en otro lugar en esta solicitud internacional pero figura íntegramente en una solicitud anterior cuya prioridad se reivindica en la fecha en la que uno o varios elementos mencionados en el Artículo 11.1)iii) fueron recibidos inicialmente por la Oficina receptora, ese elemento o esa parte, a reserva de confirmación según la Regla 20.6, se incorporará por referencia en esta solicitud internacional a los efectos de la Regla 20.6.

Recuadro N° VII ADMINISTRACIÓN ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Elección de la Administración encargada de la búsqueda internacional (si más de una Administración encargada de la búsqueda internacional es competente para efectuar la búsqueda internacional, indíquese el nombre de la Administración elegida; se puede utilizar el código de dos letras):

ISA / ES

Formulario PCT/RO/101 (segunda hoja) (enero de 2010)

Ver las Notas al formulario del petitorio

Hoja N° ...5...

Continuación del Recuadro N° VII UTILIZACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA ANTERIOR, REFERENCIA A ESA BÚSQUEDA		
☐ Se pide a la ISA que se indica en el Recuadro N° VII que tenga en cuenta los resultados de las búsquedas anteriores que figuran a continuación (véanse también las notas relativas al Recuadro N° VII; utilización de los resultados de más de una búsqueda anterior)		
Fecha de presentación (día/mes/año)	Número de solicitud	País (u Oficina regional)
☐ Declaración (Regla 4.12.ii): la presente solicitud internacional es la misma, o esencialmente la misma, que la solicitud respecto de la cual se ha llevado a cabo la búsqueda anterior, con la salvedad de que, en su caso, se presenta en un idioma diferente.		
☐ Disponibilidad de documentos: la ISA puede obtener los siguientes documentos de una forma y manera que estime aceptables, por lo que no es necesario que el solicitante se los presente (Regla 12bis.1.f):		
☐ una copia de los resultados de la búsqueda anterior,*		
☐ una copia de la solicitud anterior,		
☐ una traducción de la solicitud anterior a un idioma aceptado por la ISA,		
☐ una traducción de los resultados de la búsqueda anterior a un idioma aceptado por la ISA,		
☐ una copia de los documentos mencionados en los resultados de la búsqueda anterior (si dispone de tal información, sírvase indicar a continuación los documentos que la ISA puede obtener)		
☐ Envío de una copia de los resultados de la búsqueda anterior y de otros documentos (cuando la búsqueda anterior no haya sido llevada a cabo por la ISA indicada anteriormente, sino por la misma Oficina que desempeña las funciones de Oficina receptora): se pide a la Oficina receptora que prepare y remita a la ISA los siguientes documentos (Regla 12bis.1.c):		
☐ una copia de los resultados de la búsqueda anterior,*		
☐ una copia de la solicitud anterior,		
☐ una copia de los documentos mencionados en los resultados de la búsqueda anterior		
* Cuando los resultados de la búsqueda anterior no puedan obtenerse de una biblioteca digital ni remitirse mediante la Oficina receptora, se pide al solicitante que los presente a la Oficina receptora (Regla 12bis.1.a)) (Véase el punto 11 de la lista de verificación y también las notas relativas al Recuadro N° VII)		
Fecha de presentación (día/mes/año)	Número de solicitud	País (u Oficina regional)
☐ Declaración (Regla 4.12.ii): la presente solicitud internacional es la misma, o esencialmente la misma, que la solicitud respecto de la cual se ha llevado a cabo la búsqueda anterior, con la salvedad de que, en su caso, se presenta en un idioma diferente.		
☐ Disponibilidad de documentos: la ISA puede obtener los siguientes documentos de una forma y manera que estime aceptables, por lo que no es necesario que el solicitante se los presente (Regla 12bis.1.f):		
☐ una copia de los resultados de la búsqueda anterior,*		
☐ una copia de la solicitud anterior,		
☐ una traducción de la solicitud anterior a un idioma aceptado por la ISA,		
☐ una traducción de los resultados de la búsqueda anterior a un idioma aceptado por la ISA,		
☐ una copia de los documentos mencionados en los resultados de la búsqueda anterior (si dispone de tal información, sírvase indicar a continuación los documentos que la ISA puede obtener)		
☐ Envío de una copia de los resultados de la búsqueda anterior y de otros documentos (cuando la búsqueda anterior no haya sido llevada a cabo por la ISA indicada anteriormente, sino por la misma Oficina que desempeña las funciones de Oficina receptora): se pide a la Oficina receptora que prepare y remita a la ISA los siguientes documentos (Regla 12bis.1.c):		
☐ una copia de los resultados de la búsqueda anterior,*		
☐ una copia de la solicitud anterior,		
☐ una copia de los documentos mencionados en los resultados de la búsqueda anterior		
* Cuando los resultados de la búsqueda anterior no puedan obtenerse de una biblioteca digital ni remitirse mediante la Oficina receptora, se pide al solicitante que los presente a la Oficina receptora (Regla 12bis.1.a)) (Véase el punto 11 de la lista de verificación y también las notas relativas al Recuadro N° VII)		
☐ Se indican otras búsquedas anteriores		
Recuadro N° VIII DECLARACIONES		
Las siguientes declaraciones se contienen en los Recuadros N° VIII.i) a v) (márquense las casillas indicadas abajo que correspondan, e indíquese el número de cada tipo de declaración en la columna de la derecha):		Número de declaraciones
☐ Recuadro N° VIII.i)	Declaración sobre la identidad del inventor	:
☒ Recuadro N° VIII.ii)	Declaración sobre el derecho del solicitante, en la fecha de presentación internacional, para solicitar y que le sea concedida una patente	1
☐ Recuadro N° VIII.iii)	Declaración sobre el derecho del solicitante, en la fecha de presentación internacional, a reivindicar la prioridad de la solicitud anterior	:
☒ Recuadro N° VIII.iv)	Declaración sobre la calidad de inventor (sólo para la designación de los Estados Unidos de América)	1
☐ Recuadro N° VIII.v)	Declaración sobre las divulgaciones no perjudiciales o las excepciones a la falta de novedad	:

Recuadro N° IX LISTA DE VERIFICACIÓN para las presentaciones en PAPEL - esta hoja se emplea exclusivamente para las solicitudes internacionales presentadas en PAPEL

La presente solicitud internacional contiene lo siguiente:	Número de hojas	La presente solicitud internacional va acompañada del(los) siguiente(s) documento(s) (marcar las casillas que procedan e indicar en la columna de la derecha el número de cada documento):	Número de documentos
a) petitorio (PCT/RO/101) (incluidas las hojas de declaración y suplementarias)	9	1. ☒ hoja de cálculo de tasas	1
b) descripción (exceptuando la parte de la descripción reservada a la lista de secuencias (véase el punto f) infra)	16	2. ☒ poder separado original	1
c) reivindicaciones	4	3. ☐ poder general original	
d) resumen	1	4. ☐ copia del poder general; número de referencia:	
e) dibujos (en su caso)	6	5. ☐ declaración explicativa de la ausencia de firma	
f) parte de la descripción reservada a la lista de secuencias (en su caso)		6. ☐ documento(s) de prioridad identificado(s) en el Recuadro N° VI como punto o puntos	
Número total de hojas:	36	7. ☒ traducción de la solicitud internacional al (idioma):	
		8. ☐ indicaciones separadas relativas a microorganismos depositados o a otro material biológico	
		9. ☐ copia en formato electrónico (Anexo C/ST. 25, formato texto,) con soportes lógicos de la lista de secuencias que no forma parte de la solicitud internacional, entregada únicamente a los fines de la búsqueda internacional en virtud de la Regla 13ter (indicar el tipo y el número de soportes lógicos)	
		10. ☐ una declaración confirmando que "la información registrada en formato electrónico en virtud de la Regla 13ter es idéntica a la lista de secuencias tal como se presentó en papel en la solicitud internacional"	
		11. ☐ copia de los resultados de búsquedas anteriores (Regla 12bis.1.a))	
		12. ☒ otros (especifíquese): Certificación de personería	1
Figura de los dibujos que debe acompañar el resumen:		Idioma de presentación de la solicitud internacional:	Español

Recuadro N° X FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL MANDATARIO O DEL REPRESENTANTE COMÚN
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio).


SALAZAR FALLAS, Silvia
Mandataria

Para uso de la Oficina receptora únicamente		Para uso de la Oficina Internacional únicamente	
1. Fecha efectiva de recepción de la pretendida solicitud internacional: (08-04-2011)	08 ABR. 2011	2. Dibujos:	
3. Fecha efectiva de recepción, rectificada en razón de la recepción ulterior, pero dentro de plazo, de documentos o de dibujos que completen la pretendida solicitud internacional:		☒ recibidos:	
4. Fecha de recepción, dentro de plazo, de las correcciones requeridas según el Artículo 11.2) del PCT:		☐ no recibidos:	
5. Administración encargada de la búsqueda internacional especificada por el solicitante: ISA /	6. ☐ Transmisión de la copia para la búsqueda diferida hasta que se pague la tasa de búsqueda.		

Para uso de la Oficina Internacional únicamente
Fecha de recepción del ejemplar original por la Oficina Internacional:



Search International and National Patent Collections

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION

Search | Browse | Translate | Options | News | Login | Help

Home IP Services PATENTSCOPE

1. (WO2012136172) METHOD FOR PRODUCING INJECTABLE FORMULATIONS OF BLOOD-DERIVED PROTEIN MATERIALS, AND MATERIALS OBTAINED USING SAID METHOD

PCT Biblio. Data | Description | Claims | National Phase | Notices | Drawings | Documents

Note: Text based on automatic Optical Character Recognition processes. Please use the PDF version for legal matters Machine translation

Query
FP:(PCT/CR2011/00001)

METODO PARA LA PRODUCCION DE FORMULACIONES INYECTABLES DE PRODUCTOS PROTEICOS H EMODERIVADOS Y PRODUCTOS OBTENIDOS

UTILIZANDO DICHO MÉTODO

Campo técnico

La presente invención se relaciona con el campo de la purificación de proteínas terapéuticas, particularmente con un método para la producción de formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados, tales como inmunoglobulinas y/o albúmina.

Antecedentes de la invención

Los productos derivados de plasma sanguíneo tales como albúmina humana, inmunoglobulinas humanas y antivenenos heterólogos, son medicamentos importantes en el tratamiento de diversas enfermedades, accidentes y lesiones. Debido al aumento de la demanda actual de estos productos, es importante mejorar la eficiencia de los métodos de producción de los mismos, para poder abastecer adecuadamente dicha demanda, y de esta manera prevenir que a corto plazo se presente una escasez global de estos medicamentos.

Para la obtención de productos proteicos derivados de la sangre, y particularmente del plasma, existen vanos métodos bien conocidos en el estado de la técnica. Entre ellos se encuentran:

1. Fraccionamiento de plasma

El fraccionamiento de plasma por la técnica de Cohn (fraccionamiento alcohólico en frío) es el método más extendido y utilizado por la industria de los productos biológicos derivados del plasma (ver Cohn E.J., Strong L.E., Hughes W.L., Mulford D.J., Ashworth J.N., Melin M., Taylor H.L. 1946. "Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissue and fluids", Journal of the American Chemical Society, 68: 459-475). Para mejorar los aspectos relacionados con el costo de producción y el rendimiento de la técnica original, varios investigadores han propuesto modificaciones que emplean menos reactivos o suprimen etapas en el proceso (ver Hink J., Hidalgo J., Seeberg V., Johnson F.F. 1957. "Preparation and properties of a heat-treated human plasma protein fraction". Vox Sanguinis 2: 174-186; Kistler, P., Nitschmann, H. 1962. "Large Scale Production of Human Plasma Fractions", Vox Sanguinis 7: 414-424; Schneider, W., Wolter, D., McCarty, L. 1976. "Alternatives for Plasma Fractionation". Vox Sanguinis, (31) 2: 141-151). Por otra parte, otras modificaciones sugieren la incorporación de técnicas de purificación basadas en el uso de agentes precipitantes, uno o más pasos cromatográficos o una combinación de los mismos. Dentro de los agentes precipitantes comúnmente empleados se encuentran el sulfato de amonio, el polietilenglicol y el ácido caprílico.

2. Fraccionamiento de plasma mediante sistemas de dos fases acuosas (SDFA).

Se ha reportado el uso de los sistemas de dos fases acuosas (SDFA) para la recuperación primaria y fraccionamiento de compuestos de interés con alto valor comercial. Los SDFA se componen por mezclas de polímero-polímero, polímero-sal o alcohol-sal, y se han empleado en la recuperación primaria y purificación parcial de productos biológicos tales como proteínas, material genético, células u organelos de las mismas, compuestos orgánicos como aromas y colorantes, metales pesados y algunos fármacos (ver Benavides, J., Rito-Palomares, . 2008. "Review: Practical experiences from the development of aqueous two-phase processes for the recovery of high value biological products". J Chem Technol Biotechnol 3:133-142; Huddleston, J., A. Veide, K. Köhler, J. Flanagan, S-O. Enfors and A. Lyddiat. 991. "The molecular basis of partitioning in aqueous two-phase systems". Tibtech 9:381-388).

La patente US 4,684,723 presenta un método para separar el inhibidor de la alfa-1-proteínasa de otras proteínas y ácidos nucleicos presentes en el plasma o en medio de cultivo mediante el uso de SDFA. Asimismo, existe una solicitud de patente, publicación WO 2010/062244A1 , que propone la recuperación y purificación parcial de proteínas terapéuticas, específicamente anticuerpos monoclonales, en dos etapas de extracción en SDFA. En la primera etapa, los anticuerpos se particionan hacia la fase superior, y en la segunda se precipitan en dicha fase. Posteriormente, son recuperados y re-disueltos para su posterior purificación mediante cromatografía. En otra invención (solicitud número US 2010/0179252) se propone el uso de un sistema multifásico compuesto por dos tipos de polímeros, uno ácido y el otro etérico, y al menos una sal, para la separación de biomoléculas, células o partículas. Adicionalmente, en la solicitud de patente WO 2010/080062 se presenta un método para aislar biomoléculas en SDFA polímero-sal, donde la molécula de interés, por ejemplo un anticuerpo monoclonal, se particiona hacia la fase que no es rica en el polímero. Adicionalmente, existen estudios sobre las condiciones de partición, extracción y purificación de anticuerpos en SDFA (ver Andrews, B.A., Nielsen, S., Asenjo, J.A. 2007, "Partinoning and purification of monoclonal antibodies in aqueous two-phase systems", Bioseparation 6 (5): 303-313; Azevedo, A., Rosa, P., Ferreira, F. Aires-Barros, M. 2007, "Optimisation of aqueous two-phase extraction of human antibodies", J. Biotechnology 132(2): 209-217; y Rosa, P., Azevedo, A., Sommerfeld, S., Mutter, M., Aires-Barros, M., Bäcker, W. 2009, "Application of aqueous two-phase systems to antibody purification: A multi-phase approach", J. Biotechnology 139 (4):306-313).

Por otra parte, se han publicado trabajos sobre la partición de albúmina en este tipo de sistemas, con respecto a variables como pH

Por otra parte, se han publicado trabajos sobre la partición de albúmina en este tipo de sistemas, con respecto a variables como pH, temperatura, y tipo y concentración del polímero y las sales, (ver Gündüz, U. 2000. "Partitioning of bovine serum albumin in an aqueous two-phase system: optimization of partition coefficient", Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 743 (1-2): 259-262.; Farruggia, B., Nerli, B., Picó, G. 2003. "Study of the serum albumin-polyethyleneglycol interaction to predict the protein partitioning in aqueous two-phase systems". Journal of Chromatography B, 798 (1): 25-33; Lu, Y., Yang, Y., Zhao, X., Xia, C. 2010 "Bovine serum albumin partitioning in polyethylene glycol (PEG)/potassium citrate aqueous two-phase systems". Food and Bioproducts Processing. 88(1): 40-46; Garza, M., Rito, M., Serna, S., Benavides, J. 2010. "Potential of Aqueous Two-Phase Systems constructed on flexible devices: Human serum albumin as proof of concept". Process Biochemistry 45 (7): 1082-1087).

3. Purificación de inmunoglobulinas mediante precipitación con ácido caprílico

La técnica de purificación de inmunoglobulinas por precipitación con ácido caprílico fue introducida por primera vez por Steinbuch, M., Audran, R., 1969. "The isolation of IgG from mammalian sera with the aid of caprylic acid". Arch. Biochem. Biophysics 134, 279-284. Posteriormente, surgieron varias metodologías basadas en este principio. Por ejemplo, la patente US 4,164,495 (Hansen, 1979) emplea la precipitación de proteínas con 1-8% v/v de PEG y 0.1-5% v/v de ácido caprílico. En la patente US 5,075,425 (Kotitschke et al., 1991) se precipitan proteínas contaminantes con ácido caprílico al 2.5%, seguido por una adsorción en DEAE-Sephadex. De manera similar, la solicitud de patente WO2006064373 (Bloy et al., 2006) propone el uso de ácido caprílico al 2.5% para precipitar proteínas contaminantes. Asimismo, la patente US6955917 (Ared, et al., 2003) propone el uso de una solución de caprilato al 40% (15-50 mM, preferiblemente 20 mM) para la eliminación de proteínas contaminantes e inactivación viral del producto, seguido por una cromatografía de intercambio iónico. Dicho proceso, es similar al presentado por la solicitud de patente WO200508293 (Romisch, et al., 2005), en la que una solución de caprilato o de heptanoato se aplica con el mismo fin.

Finalmente, existen patentes que proponen el uso del ácido caprílico con otras finalidades. La patente US 5,164,487 (Kothe, et al., 1992), en la cual el ácido caprílico, a una concentración entre 0.4 y 1.5%, se emplea para eliminar sustancias vasoactivas y

enzimas proteolíticas, seguido por una cromatografía de intercambio iónico; y la patente US 20070244305 (Parkinnen, 2007) que presenta la precipitación de proteínas contaminantes con PEG, y utiliza el ácido caprílico como un paso para la inactivación de los virus.

La mayoría de las metodologías propuestas en dichas patentes poseen rendimientos alrededor del 60%, y parten de una etapa inicial de fraccionamiento alcohólico en frío.

4. Purificación de Albúmina

En el caso de la albúmina, la desnaturalización térmica diferencial o termocoagulación selectiva es un método empleado para su purificación a partir del plasma o una mezcla de proteínas que la contenga. La patente US 4,156,681 propone el calentamiento del plasma a 68 °C en presencia de etanol y caprilato de sodio, seguido por la adición de PEG para recuperar la albúmina precipitada. De manera similar, en la patente US 3,992,367 se calienta el plasma a 60 °C, y posteriormente se precipita la albúmina con etanol. En otra invención (US 4,222, 934) el plasma se calienta a 60 °C, se adiciona PEG para eliminar el precipitado de proteínas desnaturalizadas, y la albúmina se recupera mediante precipitación isoeléctrica. Por otra parte, en la patente US 4,177,188 las inmunoglobulinas se recuperan previo al tratamiento térmico.

Por lo tanto, existen procesos que parten de plasma, suero, alguna fracción del método de Cohn u otro material de partida que contenga albúmina y/o inmunoglobulinas para la recuperación de las mismas, y que posteriormente emplean la termocoagulación selectiva y la precipitación con ácido caprílico para purificar albúmina e inmunoglobulinas, respectivamente. Sin embargo, hasta la fecha no se ha reportado el empleo de estas técnicas de purificación a partir de fracciones provenientes de un sistema de dos fases acuosas (SDFA).

La presente invención supera las limitaciones del estado de la técnica, ya que presenta una línea de producción para obtener formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados con carga viral reducida para uso humano, un aspecto de suma trascendencia que no ha sido descrito en el estado de la técnica con respecto a la obtención de inmunoglobulinas y albúmina empleando los SDFA.

Sumario de la Invención

Un objeto de la presente invención es un método para la producción de formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados con carga viral reducida, cuyo método comprende los pasos de (Figuras 1 y 4):

- a fraccionamiento del material de partida en un sistema de dos fases acuosas mediante la adición de un polímero y al menos una sal;
- b adición de fenol al sistema de dos fases acuosas como primer paso de inactivación viral;
- c. separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas; d purificación de los productos contenidos en la fase superior del sistema mediante precipitación con un ácido graso;
- e purificación de los productos contenidos en la fase inferior del sistema mediante termocoagulación;
- f. remoción del precipitado de proteínas desnaturalizadas formado durante los pasos de purificación de las fase superior e inferior del sistema de dos fases; g. aumento de la pureza de los productos purificados a partir de la fase superior e inferior mediante cromatografía;
- i. nanofiltración de los productos obtenidos en el paso anterior para remover partículas virales;
- h. formulación, estabilización y esterilización de los productos obtenidos.

El método de la invención puede llevarse a cabo partiendo de un material que puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de plasma sanguíneo, suero sanguíneo, una fracción obtenida por el método de Cohn u otro material cualquiera que contenga productos proteicos hemoderivados, particularmente albúmina y/o inmunoglobulinas.

Inicialmente, se lleva a cabo el fraccionamiento del material de partida en un sistema compuesto de dos fases acuosas. Para ello, se procede a la adición de un polímero y una sal, siendo el polímero de elección el polietilenglicol con peso molecular entre 1000-6000 Da, y preferiblemente polietilenglicol de 3350 Da, el cual se emplea a una concentración en el rango entre el 6 y el 15 % p/v, y preferiblemente entre el 6 y 9 % p/v.

La sal que se utiliza en el fraccionamiento puede ser fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico, sulfato de amonio y citrato de sodio, siendo utilizados de preferencia el fosfato de potasio monobásico y dibásico, a concentraciones entre el 10 y el 20% p/v, y preferiblemente entre 15 y 20% p/v.

Adicionalmente, se emplea una sal que no participa en la formación de las dos fases, pero que influye en la partición de los solutos en el

Adicionalmente, se emplea una sal que no participa en la formación de las dos fases, pero que interviene en la partición de los solutos en el sistema, preferiblemente se utiliza el cloruro de sodio, a una concentración entre el 5 y el 20% p/v, de forma preferida entre el 12 y 15% p/v.

Este paso de fraccionamiento se realiza a un pH entre 5.5 y 7.5, y de forma preferida a un pH de 6, y se realiza a temperatura ambiente (entre 20-25°C).

Como primer paso de inactivación viral, el método de la invención emplea fenol entre el 0.05 y 0.3% v/v, en una realización preferida utiliza el fenol al 0.25% v/v.

Luego de la inactivación viral, se procede a la separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas mediante una combinación de procesos seleccionada que puede ser: reposo y separación, reposo y filtración, reposo y decantación o simplemente centrifugación.

El siguiente paso es la purificación de los productos contenidos en la fase superior del SDFA obtenido. Esta fase es rica en inmunoglobulinas, y para su purificación se lleva a cabo una precipitación con ácido caprílico, este último a una concentración entre el 1 y 6% v/v, y de forma preferida a una concentración entre el 1.5 y el 2% v/v.

Asimismo, se realiza una termocoagulación para la purificación de los productos que se encuentran en la fase inferior del sistema, la cual es rica en albúmina. Este proceso se lleva a cabo a una temperatura entre 60 y 70°C, y preferiblemente a 65 °C. Esta operación se lleva a cabo en presencia de caprilato de sodio al 0.012 M y etanol al 9% v/v.

Para aumentar la pureza de los productos obtenidos en la fase superior del sistema, se emplea un paso cromatografía) que puede comprender una cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad o cromatografía de intercambio hidrofóbico. Por su parte, la etapa final de purificación de los productos obtenidos en la fase inferior del sistema, se lleva a cabo empleando cromatografía de intercambio iónico.

La remoción de las partículas virales de los productos obtenidos como resultado del proceso de la invención, se lleva a cabo mediante nanofiltración, empleando para ello un filtro con exclusión para 20 nm. Los productos se pueden estabilizar con agentes como sacarosa y caprilato de sodio para la solución de inmunoglobulinas y albúmina, respectivamente. La formulación de inmunoglobulinas puede mantenerse en solución o liofilizarse. En el caso de la albúmina se incluye un paso final de pasteurización durante 10 horas a 60 °C. Finalmente, los productos obtenidos se esterilizan a través de una membrana con exclusión para 0.22 µm.

Otros objetos de la presente invención son los productos obtenidos mediante el método previamente descrito. Tanto las inmunoglobulinas como la albúmina obtenidas en

realizaciones preferidas de la invención, son productos que muestran calidad de solución inyectable, y poseen la carga viral reducida acorde con las especificaciones establecidas (WHO, 2010. Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins; WHO, 2004. Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products).

Breve descripción de las figuras

FIG. 1. Diagrama de flujo que representa el método de la invención para obtener productos proteicos derivados de plasma equino hiperinmune, libres de virus. Se presenta el valor de rendimiento y pureza de los productos obtenidos en cada etapa del proceso. Las operaciones con asterisco muestran pasos de inactivación o remoción viral. Clave: Igs = Inmunoglobulinas, AV = antiveneno.

FIG. 2. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de antiveneno a partir de plasma equino hiperinmune. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma equino hiperinmune. B. Fase superior del SDFA resuspendida. C. Filtrado obtenido a partir de precipitación con ácido caprílico.

FIG. 3. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de albúmina equina. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma equino hiperinmune. B. Fase inferior del SDFA. C. Cromatografía de intercambio catiónico de filtrado obtenido luego de la termocoagulación.

FIG. 4. Diagrama de flujo que representa el método de la invención para obtener productos proteicos derivados de plasma humano para uso intravenoso, libres de virus. Se presenta el valor de rendimiento y pureza obtenidos de los productos en cada etapa del proceso. Las operaciones con asterisco muestran pasos de inactivación o remoción viral. Clave: Igs = Inmunoglobulinas.

FIG. 5. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de gammaglobulinas a partir de plasma humano. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma humano. B. Fase superior del SDFA resuspendida. C. Cromatografía de intercambio aniónico de filtrado obtenido luego de la precipitación con ácido caprílico.

FIG. 6. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de albúmina humana. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la

elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma humano. B. Fase inferior del SDFA. C. Cromatografía de intercambio catiónico de fase inferior.

Descripción detallada de la invención

La presente invención trata de un método para la purificación de productos proteicos hemoderivados, y es particularmente útil para la obtención simultánea de inmunoglobulinas y albúmina con calidad inyectable, a partir de mezclas que pueden contener estas y otras proteínas. Este método se caracteriza por ser práctico y económico, ya que emplea reactivos de costo accesible, y a diferencia del método de Cohn, no necesita equipamiento específico para satisfacer requerimientos de temperatura estrictos. Los productos obtenidos (inmunoglobulinas y albúmina), presentan altos niveles de pureza (>90%) y rendimiento. El método se puede emplear para la recuperación de otros hemoderivados diferentes de las inmunoglobulinas y la albúmina, por ejemplo los factores de coagulación. Asimismo, puede emplearse para la purificación de fragmentos de inmunoglobulinas (F(ab')₂ o Fab) obtenidos por digestión enzimática del plasma o de las inmunoglobulinas purificadas. Además, el proceso de obtención de cada producto incluye 2 pasos de inactivación y 1 de remoción viral, los cuales generan una reducción de la carga viral del producto que garantiza su seguridad, según lo establecido en la normativa. Por otra parte, esta metodología puede ser empleada para la purificación de anticuerpos a partir de plasma hiperinmune, por ejemplo para la producción de antivenenos o antitoxinas.

El material de partida puede consistir en plasma o suero, digerido o no con enzimas proteolíticas, alguna fracción del plasma o suero, o alguna mezcla que contenga inmunoglobulinas y albúmina de origen humano o de cualquier otro animal.

El fraccionamiento del material de partida se realiza en un SDFA (Figuras 1 y 4). En este tipo de separación, el producto de interés posee afinidad hacia una de las dos fases acuosas que componen el sistema, diferente a la del resto de componentes de la mezcla en que se encuentra. Las fases se forman al mezclar dos o más sustancias hidrofílicas que en ciertas concentraciones se vuelven inmiscibles en agua, con base en fuerzas termodinámicas relacionadas con su hidratación. El agua del sistema corresponde al agua presente en el material de partida. El sistema comprende el uso de un polímero soluble en agua, una sal soluble en agua y una sal soluble en agua que está involucrada en la partición de los solutos, pero que no es parte de la formación de las dos fases. El polímero es polietilenglicol (PEG), con un rango de peso molecular de 1000-6000 Da, que se separa en su mayoría en la fase superior; la sal es fosfato de potasio, di y

monobásico, la cual se separa en su mayoría en la fase inferior, y la sal que no participa en la formación de las fases es cloruro de sodio. La relación entre el fosfato de potasio monobásico y dibásico determina el pH del sistema, a medida que aumenta el fosfato de potasio monobásico, disminuye el pH. La partición deseada de las proteínas se lleva a cabo en un rango de pH de 5.5-7.5 y a temperatura ambiente (20-25 °C). Por otra parte, la adición de fenol se realiza con el objetivo de inactivar partículas virales presentes en el material de partida durante el fraccionamiento. La capacidad antiviral del fenol radica en su habilidad para producir disrupción física de proteínas y estructuras lipídicas de los virus.

Los componentes del sistema se añaden al material de partida bajo condiciones de agitación constante en las siguientes concentraciones: fenol entre 0.05-0.3% v/v, PEG entre 6-15 p/v%, fosfato de potasio entre 10-20 p/v% y cloruro de sodio entre 5-20 %p/v; preferiblemente, 0.25% v/v de fenol, entre 6 y 9 % p/v de PEG, entre 15 y 20% p/v de fosfato de potasio y 15% p/v de NaCl. El orden de adición de los componentes puede variar, sin embargo es recomendable añadir el siguiente componente cuando el previo esté disuelto. Una vez adicionados los componentes, la mezcla se agita durante una hora. Posteriormente, se deja en reposo para favorecer la formación de las fases. Cabe mencionar que las concentraciones de los diferentes componentes se expresan en términos de p/v (peso/volumen), ya que como el material de partida aporta el agua que compone el SDFA, la adición de los mismos se realiza en su forma sólida y no en solución. Este hecho resulta en una ventaja al escalar el método, pues elimina la necesidad de manejar varios contenedores con las soluciones de los componentes.

Una vez que se forman las fases, diversas características del medio y de las proteínas determinan la partición de las mismas, tales como peso molecular y concentración de las proteínas, pH, fuerza iónica y concentración de los componentes del sistema. Bajo estas condiciones, la albúmina y otras proteínas contaminantes se particionan hacia la fase inferior rica en sales, y las inmunoglobulinas y otras proteínas contaminantes, se particionan hacia la fase superior. Las inmunoglobulinas, a diferencia de la albúmina que queda en suspensión, se precipitan en la fase superior, lo que permite su concentración en dicha fase en un solo paso. Esto representa una ventaja al integrar dos operaciones unitarias como lo son la purificación primaria y la concentración de estas proteínas.

La separación de las fases se realiza por filtración, centrifugación o decantación. A partir de este punto, cada fase se convierte en una línea paralela de purificación. Ambas líneas serán descritas por separado a continuación (Figuras 1 y 4):

Purificación de inmunoglobulinas a partir de la fase superior de SDFA

El precipitado recuperado de la fase superior al separar las fases, se resuspende en un volumen de agua que permita la redisolución total del precipitado; de preferencia en un volumen igual o menor al volumen de partida, para favorecer la concentración del producto. La suspensión se agita hasta lograr la total disolución de la pasta. Posteriormente, se adiciona un ácido graso, el cual precipita y desnatura a las proteínas contaminantes, y deja las inmunoglobulinas en suspensión. El ácido graso funciona en un rango de 1-6% v/v, preferiblemente entre 1.5 y 2 % v/v. El ácido graso puede ser de 6 a 8 carbonos, preferiblemente de 8 carbonos (ácido caprílico u octanoico). La precipitación puede llevarse a cabo en un rango de pH de 5 a 8 sin afectar el resultado obtenido. La agitación durante la precipitación debe ser vigorosa y se realiza en un rango de 30 a 60 minutos. El precipitado es eliminado mediante microfiltración o centrifugación. Además, este método funciona como un paso de inactivación de virus con envoltura lipídica. La forma no ionizada del ácido caprílico es lipofílica, y tiene la capacidad de penetrar y romper la bicapa lipídica del virus y las proteínas asociadas a ella.

Posteriormente, el filtrado o sobrenadante en el cual se encuentran las inmunoglobulinas, se pasa a través de una columna cromatográfica para incrementar su pureza, que puede seleccionarse del grupo que consiste en cromatografía de intercambio aniónico, cromatografía de afinidad y cromatografía de intercambio hidrofóbico.

Purificación de albúmina a partir de fase inferior de SDFA

La fase inferior enriquecida en albúmina (Figuras 1 y 4), se dializa o diafiltra para eliminar las sales provenientes del SDFA. Este proceso se lleva a cabo con una membrana de corte molecular menor o igual a 30 KDa. Posteriormente, la solución se somete al proceso de termocoagulación selectiva, en el cual esta se calienta en un rango de temperatura de 60-70 °C, preferiblemente 65 °C, durante 0.5-2 horas. Este paso precipita el resto de proteínas y deja en solución a la albúmina, ya que a esta temperatura las demás proteínas del plasma se desnaturizan. Se emplean agentes como el caprilato de sodio y el N- acetil triptofanato de sodio para mantener la estabilidad de la albúmina a dichas temperaturas, preferentemente caprilato de sodio en un rango de 0.02-0.1, preferiblemente 0.012 M. Este calentamiento se realiza en presencia de etanol en un rango de 5-15% v/v, preferiblemente 9% v/v con el fin de propiciar la precipitación del resto de proteínas. Luego de que la solución se calienta, se lleva a temperatura ambiente, y se baja el pH a 5. Seguidamente, el precipitado se separa por microfiltración o centrifugación, y se recupera la albúmina en suspensión. Como paso final de purificación del producto, esta solución se pasa a través de una columna cromatográfica, en una realización particular, a través de una resina de intercambio catiónico (ácido sulfónico o carboximetil).

Nanofiltración, formulación, estabilización y envasado de las dos formulaciones farmacéuticas.

De manera paralela ambas soluciones, de albúmina y de inmunoglobulinas, se nanofiltran, formulan, estabilizan y envasan (Figuras 1 y 4). La nanofiltración es un paso de remoción viral basado en exclusión por tamaño, emplea un filtro de 20 nm. Las partículas virales pueden ser removidas como complejos anticuerpo-virus, debido a la presencia de anticuerpos antivirales en las soluciones de inmunoglobulinas, o como partículas virales en el caso de la formulación de albúmina. Después de nanofiltrar ambas soluciones, se formula cada medicamento. La formulación de inmunoglobulinas comprende la concentración del producto a 1.0 a 10.0 g/dL de proteína mediante ultrafiltración con una membrana con exclusión para 30 KD; el ajuste del pH en un rango de 5 a 7, preferiblemente 5; la adición de sacarosa al 5% como estabilizante y NaCl al 0.9%. El producto se esteriliza mediante filtración a través de una membrana con exclusión para 0.22 µm, y se envasa. El producto podría liofilizarse o mantenerse líquido.

En el caso de la albúmina, luego de la nanofiltración, la formulación del producto comprende la concentración a 20 g/dL de proteína mediante ultrafiltración con una membrana con exclusión para 10 KDa; el ajuste del pH en un rango de 6.5 a 7.5, preferiblemente 7; la adición de caprilato de sodio como estabilizante y NaCl al 0.9%. El medicamento se esteriliza, se envasa, y finalmente se pasteuriza a 60 °C por 10 horas. La pasteurización inactiva virus envueltos y sin envoltura por exposición a alta temperatura. Según Kempf, C, Stucki, M, Boschetti, N. 2007. "Pathogen inactivation and removal procedures used in the production of intravenous immunoglobulins", Biologicals 35: 35-42, la pasteurización

actúa sobre la bicapa lipídica de virus envueltos, e inestabiliza al virión al transformar los lípidos del estado sólido al líquido.

El método objeto de la invención será mejor comprendido a partir de los siguientes ejemplos de realización, los cuales se proporcionan con el único fin de ilustrar la invención, y en modo alguno se deben considerar para restringir su alcance.

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

Ejemplo 1. Producción de antivenenos y albúmina a partir de plasma equino hiperinmune

Con el fin de obtener inmunoglobulinas y albúmina a partir del mismo lote de plasma, 1 L de plasma equino hiperinmune, es decir de plasma rico en anticuerpos antiveneno de serpiente, fue fraccionado en un sistema de dos fases acuosas polímero-sal. El plasma se obtuvo a partir de caballos inmunizados con veneno de *Bothrops asper*, *Lachesis stenophrys* y *Crotalus simus*. El material de partida contenía 63% de inmunoglobulinas y 27% de albúmina (Figuras 1 y 2). Para formar el sistema de dos fases, se adicionó 150 g cloruro de sodio (15% p/v), 106 g de fosfato de potasio dibásico, 74 g de fosfato de potasio monobásico (18% p/v), 90 g de polietilenglicol (9% p/v) y como agente antiviral 2.5 ml de fenol (0.25% v/v). Se empleó una proporción de fosfato de potasio monobásico/dibásico de 0.7 para que el pH del sistema fuera de 6.1. Se agitó luego de la adición de cada componente para favorecer la disolución antes de añadir el siguiente. El sistema se agitó vigorosamente

durante 1 hora, y se dejó reposar por 1 hora para favorecer la formación de las fases, una superior en la cual se encuentran las inmunoglobulinas precipitadas, y una inferior en la que se encuentra la albúmina en suspensión. Posteriormente, se microfiltró la mezcla por gravedad; este paso también puede llevarse a cabo mediante centrifugación o decantación. Luego de la filtración, se continuó procesando el precipitado (inmunoglobulinas) y el filtrado (albúmina) por separado. Tal como lo muestra la figura 1, una vez separadas ambas fases, se recuperó el 68% de las inmunoglobulinas antiveneno del plasma en la fase superior (Figura 2.B), y el 100% de la albúmina del plasma en la fase inferior (Figura 3B). El valor de pureza de cada uno fue estimado por filtración en gel, y corresponde al 92% y 62% de pureza, respectivamente. El rendimiento proteico global entre las dos fases fue del 88%, el otro 12% corresponde a fibrina que se particiona hacia la fase superior (Figura 1).

Para la preparación del antiveneno, el precipitado se resuspendió en 1400 ml de agua desionizada con agitación constante durante 1 hora. Una vez que las inmunoglobulinas y resto de proteínas remanentes se disolvieron, se adicionó ácido caprílico. Normalmente, la cantidad de ácido caprílico que se utiliza para la producción de antivenenos es de 5-7% v/v. Sin embargo, debido a que en este caso la fracción de inmunoglobulinas proviene del SDFA, esta contiene menor cantidad de contaminantes. En consecuencia, se requiere menor cantidad de ácido caprílico (1.75 % v/v). Luego de la adición de ácido caprílico, la mezcla se agitó vigorosamente por 30 minutos para favorecer la precipitación. Este paso tiene doble propósito, ya que por una parte precipita las proteínas contaminantes y por otra, inactiva los virus envueltos. Posteriormente, las inmunoglobulinas en solución se recuperaron por microfiltración por gravedad. En este punto, se recuperó el 60% de las inmunoglobulinas antiveneno presentes originalmente en el plasma, con una pureza del 99% (Figuras 1 y 2). Debido a que el producto cumple con un nivel de pureza muy

elevado, no se realizó un paso cromatográfico adicional y se pasó a la etapa de formulación del producto.

Seguidamente, el filtrado se dializó contra agua desionizada con una membrana de exclusión de 15 KDa. La diálisis puede substituirse por diafiltración en un ultrafiltrador. Como tercer paso antiviral, el antiveneno se nanofiltró a través de un filtro con exclusión de 20 nm. Se concentró el producto mediante ultrafiltración con una membrana de exclusión de 30 KDa a la concentración de proteína requerida para alcanzar la especificación de actividad neutralizante (por ejemplo, 3 mg veneno/mL antiveneno para *Bothrops asper*, 3 mg veneno/mL antiveneno para *Lachesis stenophrys*, 2 mg veneno/mL antiveneno para *Crotalus simus* ó 0.5 mg veneno/mL antiveneno para *Micrurus nigrocinctus*). El producto fue formulado a pH 7 con NaCl 0.9 % p/v y fenol 0.25% v/v, y esterilizado mediante filtración con una membrana con exclusión para 0.22 µm (Figura 1). Se dispensó en frascos estériles con 10 mL cada uno.

Por otra parte, la fase inferior del SDFA rica en albúmina, se dializó contra agua con una membrana de exclusión de 15 KDa para eliminar sales provenientes del sistema. La diálisis puede substituirse por diafiltración en un ultrafiltrador. Para precipitar las proteínas contaminantes, la suspensión de albúmina se sometió a termocoagulación, para lo cual se le adicionó 2.4 g (0.012 M) de caprilato de sodio como estabilizante y 126 mL de etanol al 95% v/v (9% v/v). Luego, se calentó durante 1 h a 65 °C en un baño maría con temperatura regulada. Posteriormente, se llevó a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 5 con HCl 0.5 M. las proteínas precipitadas fueron removidas por microfiltración por gravedad. Como se muestra en las Figuras 1 y 3C, en esta etapa del proceso, se obtuvo un rendimiento del 94%, con una pureza del 91%.

Para pulir la pureza del filtrado rico en albúmina purificada, se le adicionó NaCl al 0.1 % y se le ajustó el pH a 8 con NaOH 0.5 M. Después, se pasó a través de una membrana de intercambio catiónico con una resina ácido sulfónico. Se recuperó la fracción no unida y se ajustó su pH a 7 con HCl 0.5 M. Como segundo paso antiviral la solución fue nanofiltrada a través de un filtro con exclusión de 20 nm. Se concentró el producto mediante ultrafiltración con una membrana de exclusión de 10 KDa a 20 g/dL, y se adicionó caprilato de sodio como estabilizante y el pH se ajustó a 7. Se esterilizó el producto mediante filtración con una membrana con exclusión para 0.22 µm y se dispensó en frascos estériles. El producto se pasteurizó durante 10 horas a 60 °C para garantizar su seguridad viral (Figura 1).

Ejemplo 2. Producción de inmunoglobulina y albúmina de calidad inyectable libre de virus a partir de plasma humano.

Se fraccionó 1 L de plasma humano en un SDFA acuosas polímero-sal para la obtención de inmunoglobulinas y albúmina. Cabe mencionar que el plasma humano contiene una mayor proporción de albúmina (52%) con respecto a la de inmunoglobulinas (16%). Para formar el sistema de dos fases, se adicionó 150 g cloruro de sodio (15% p/v), 106 g de fosfato de potasio dibásico, 74 g de fosfato de potasio monobásico (18% p/v), 60 g de polietilenglicol (6% p/v) y como agente antiviral 2.5 ml de fenol (0.25% v/v). En este caso, se empleó una concentración menor de PEG que en el ejemplo 1, puesto que a diferencia del material de partida de dicho ejemplo, el plasma humano posee un porcentaje menor de inmunoglobulinas, por lo que se requiere una fase superior menor en la cual se particionan estas proteínas. El resto de operaciones relacionadas con esta etapa de fraccionamiento se llevaron a cabo de la misma manera que en el ejemplo 1. Tal como se muestra en la Figuras 4 y 5B, la recuperación de IgG en la fase superior fue de 85%, con una pureza del 42%; por su parte el rendimiento proteico de albúmina en la fase inferior fue de 91 %, con una pureza del 80% (Figuras 4 y 6B). El rendimiento proteico global del sistema fue del 91 %, el porcentaje restante corresponde a fibrina.

Una vez separadas las dos fases, la fase superior rica en inmunoglobulinas precipitadas, se resuspendió en 1400 ml de agua desionizada con agitación constante durante 1 hora. Una vez que las inmunoglobulinas y resto de proteínas remanentes se disolvieron, se adicionó ácido caprílico al 2% v/v. El filtrado recuperado presentó un rendimiento de IgG del 70%, con una pureza del 82% (Figura 4).

A diferencia del ejemplo 1, luego de recuperar el filtrado proveniente de la precipitación con el ácido caprílico, se realizó una cromatografía de intercambio aniónico para retinar la pureza de la solución de inmunoglobulinas (Figura 4). Para esto, a la solución se le adicionó NaCl al 0.1 % y se ajustó el pH a 5 con HCl 0.5 M, y se pasó a través de una membrana de intercambio aniónico con una resina de amonio cuaternario. Se recuperó la fracción no unida y se ajustó su pH a 7 con NaOH 0.5 M. En esta fracción se recuperó el 70% de la IgG presente originalmente en

recuperó la fracción no unida y se ajustó su pH a 7 con NaOH 0.5 M. En esta fracción se recuperó el 70% de las IgG presentes originalmente en el material de partida, con una pureza del 92% determinada por filtración en gel (Figuras 4 y 5C). Cabe mencionar que la precipitación con ácido caprílico y la cromatografía son procesos efectivos en la remoción de IgA e IgM. El producto obtenido se formuló, estabilizó y esterilizó de la manera descrita en el ejemplo 1 para la solución de antiveneno.

Con respecto a la fase inferior del SDFA rica en albúmina, la misma presentó un nivel de pureza del 80%, con un rendimiento de recuperación del 91% (Figura 6B), por lo que

luego de la diálisis, no se realizó termocoagulación selectiva de la solución. Por lo tanto, se incrementó la pureza de la albúmina mediante cromatografía de intercambio catiónico, la cual se realizó bajo las mismas condiciones descritas en el ejemplo 1 para la albúmina equina. Asimismo, el resto de operaciones se llevaron a cabo de la misma manera en la que se describió anteriormente en el caso de la albúmina equina. Finalmente se obtuvo un producto con un 90% de pureza y con un rendimiento de recuperación del 91% (Figuras 4 y 6C).

Ejemplo 3. Determinación de pureza y rendimiento de inmunoglobulinas antiveneno

Se realizó un análisis de la pureza del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación mediante filtración en gel en FPLC (Figuras 2 y 3). Se empleó una columna Superdex200 10/300 GL, y la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. Se calculó el porcentaje de pureza de inmunoglobulinas totales como la relación entre el área bajo la curva del pico con tiempo de retención de 25 ± 0.3 min (correspondiente al peso molecular de las inmunoglobulinas), y la suma del área bajo la curva de todos los picos del cromatograma.

Para la determinación del rendimiento proteico, se cuantificó la concentración de proteína total del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación, haciendo uso de una modificación del método de Biuret (ver Parvin, R., Pande, S.V., Venkatasubramanian, A. 1965. "On the colorimetric Biuret Method of Protein Determination". Analytical Biochemistry 12: 219-229). Con los datos obtenidos de la determinación proteica, de los porcentajes de pureza por FPLC y del volumen de cada muestra, se expresó la cantidad obtenida de inmunoglobulinas totales en término de gramos. Finalmente, se calculó el rendimiento proteico a partir de la relación de inmunoglobulinas totales en la muestra (g) y las inmunoglobulinas totales en el material de partida (g).

Asimismo, se realizó un ELISA del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación para la cuantificación de anticuerpos específicos antiveneno de *Bothrops asper*. Para esto, se recubrieron placas de 96 hoyos con 100 μ L/hoyo de una solución de veneno de *B. asper* en solución de fosfatos (3 μ g/hoyo), seguido por una incubación durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionaron por triplicado 100 μ L/hoyo de varias diluciones de las muestras, y se incubó por 1 hora a temperatura ambiente. Luego de realizar el lavado de la placa, se adicionaron 100 μ L/hoyo de una dilución de un conjugado anti-IgG de caballo unido a peroxidasa, y se realizó una incubación de una hora. Finalmente, luego de lavar la placa, se adicionó el sustrato (peróxido de hidrógeno y o-fenilendiamina) para desarrollar color. La

absorbancia se leyó en un lector de microplacas a 492 nm. La concentración de IgG equina antiveneno se expresó en términos de g/L, utilizando una curva de calibración estándar preparada con concentraciones conocidas de IgG antiveneno. Dicho estándar se obtuvo mediante cromatografía de afinidad, al pasar una muestra de plasma equino hiperinmune parcialmente purificado, a través de una columna de Sepharose unida a veneno de *B. asper*.

Posteriormente, con base en la concentración de inmunoglobulinas antiveneno obtenida en las muestras por ELISA y el volumen de cada una, se expresó la cantidad de inmunoglobulinas antiveneno en términos de gramos. Finalmente, se calculó el rendimiento proteico a partir de la relación de inmunoglobulinas antiveneno en la muestra (g) y las inmunoglobulinas antiveneno en el material de partida (g).

Ejemplo 4. Determinación de pureza y rendimiento de inmunoglobulinas humanas

La determinación del rendimiento proteico del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación se realizó de la manera descrita en el ejemplo 3.

Para la cuantificación de IgG, IgA e IgM se empleó un kit de inmunodifusión radial (IDR) (Cromatest; Linear Chemicals SL, Barcelona, España). Las muestras se aplicaron en pozos en un gel de agarosa y se dejaron difundir durante 48 horas. Con base en la concentración obtenida y el volumen de cada muestra, se expresó la cantidad de cada tipo de anticuerpo en gramos. A partir de los datos anteriores, se determinó la pureza de gammaglobulinas (IgG) en cada muestra, con base en la relación de la cantidad de gammaglobulinas obtenida por IDR y la proteína total de la muestra en cuestión. Asimismo, el rendimiento de gammaglobulinas se calculó a partir de la relación de gammaglobulinas en la muestra (g) y las gammaglobulinas en el material de partida (g).

Ejemplo 5. Determinación de pureza y rendimiento de albúmina

Esta determinación se llevó cabo de manera similar tanto para la albúmina equina, como para la humana. Con respecto a la pureza de la albúmina, esta se determinó mediante filtración en gel en FPLC (Figuras 3 y 6), tal como se describió para las inmunoglobulinas. La pureza se definió con base en la relación entre el área bajo la curva del pico con tiempo de retención de 28 ± 0.3 min (correspondiente al peso molecular de la albúmina), y la suma del área bajo la curva de todos los picos del cromatograma.

Por su parte, el rendimiento proteico se determinó tal como se especificó en el caso de las inmunoglobulinas, es decir, con base en la relación de albúmina en la muestra (g) y la albúmina en el material de partida (g).



1. (WO2012136172) METHOD FOR PRODUCING INJECTABLE FORMULATIONS OF BLOOD-DERIVED PROTEIN MATERIALS, AND MATERIALS OBTAINED USING SAID METHOD

PCT Biblio. Data	Description	Claims	National Phase	Notices	Drawings	Documents
------------------	-------------	--------	----------------	---------	----------	-----------

Note: Text based on automatic Optical Character Recognition processes. Please use the PDF version for legal matters



 Machine translation

Query

FP:(PCT/CR2011/00001)



REINDICACIONES

1. Un método para la producción de formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados con carga viral reducida, caracterizado porque comprende los pasos de: a. fraccionamiento del material de partida en un sistema de dos fases acuosas mediante la adición de un polímero y al menos una sal;

b. adición de fenol al sistema de dos fases como primer paso de inactivación viral; c. separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas; d. purificación de los productos de la fase superior del sistema mediante precipitación con un ácido graso;

e. purificación de la fase inferior de los productos del sistema mediante termocoagulación;

f. remoción del precipitado de proteínas desnaturalizadas formado durante los pasos de purificación de las fase superior e inferior del sistema de dos fases; $\dot{\bar{u}}$: aumento de la pureza de los productos obtenidos a partir de la fase superior e inferior mediante cromatografía;

iii. nanofiltración de los productos obtenidos en el paso anterior para remover partículas virales;

i. formulación, estabilización y esterilización de los productos obtenidos.

2. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque el material de partida se selecciona a partir del grupo que consiste de plasma sanguíneo, suero sanguíneo, una fracción obtenida por el método de Cohn u otro material cualquiera que contenga productos proteicos hemoderivados.

3. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque el polímero que se utiliza en el fraccionamiento del material de partida es polietilenglicol con peso molecular entre 1000-6000 Da.

4. El método según la reivindicación 3, caracterizado porque el polímero es polietilenglicol con un peso molecular de 3350 Da.

5. El método según las reivindicaciones 3 y 4, caracterizado porque el polietilenglicol se emplea a una concentración entre el 6 y el 15 % p/v.

6. El método según la reivindicación 5, caracterizado porque el polietilenglicol se emplea entre el 6 y el 9% p/v.

7. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la sal que se utiliza en el fraccionamiento es seleccionada del grupo que consiste de fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico, sulfato de amonio y citrato de sodio.

8. El método según la reivindicación 7, caracterizado porque la sal es fosfato de potasio monobásico y dibásico.

9. El método según la reivindicación 8, caracterizado porque el fosfato de potasio monobásico y dibásico se emplean a una concentración entre el 10 y el 20% p/v.

10. El método según la reivindicación 9, caracterizado porque el fosfato de potasio monobásico y dibásico se emplean entre el 15 y el 20% p/v.

11. El método según las reivindicaciones de la 8 a la 10, caracterizado porque el fosfato de potasio monobásico o dibásico se emplean en una proporción dependiente del pH deseado.

12. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque se adiciona una sal que influye en la partición de los solutos pero no en la formación de las dos fases.

13. El método según la reivindicación 12 caracterizado porque la sal es cloruro de sodio.

14. El método según la reivindicación 13, caracterizado porque el cloruro de sodio se emplea a una concentración entre el 5 y el 20% p/v.

15. El método según la reivindicación 14, caracterizado porque el cloruro de sodio se emplea a una concentración entre el 12 y el 15% p/v.

16. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la etapa de fraccionamiento se realiza a un pH entre 5.5 y 7.5.

17. El método según la reivindicación 16, caracterizado porque la etapa fraccionamiento se realiza a un pH de 6.

18. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la primera inactivación viral se emplea fenol entre el 0.05 y 0.3% v/v.

19. El método según la reivindicación 18, caracterizado porque se emplea fenol al 0.25% v/v.

20. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas se realiza mediante una combinación de procesos seleccionada del grupo que consiste de reposo y separación, reposo y filtración, reposo y decantación, o centrifugación.
21. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la purificación de los productos contenidos en la fase superior del sistema de dos fases acuosas se realiza mediante precipitación con ácido octanoico.
22. El método según la reivindicación 21, caracterizado porque el ácido octanoico se emplea a una concentración de entre el 1 y el 6% v/v.
23. El método según la reivindicación 22, caracterizado porque el ácido octanoico se emplea a una concentración entre el 1.5 y el 2% v/v.
24. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la termocoagulación se lleva a cabo a una temperatura entre 60 y 70°C.
25. El método según la reivindicación 24, caracterizado porque la termocoagulación se lleva a cabo a 65 °C.
26. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la termocoagulación selectiva de la fase inferior de las fases se lleva a cabo en presencia de caprilato de sodio y etanol.
27. El método según la reivindicación 26, caracterizado porque se emplea una mezcla de caprilato de sodio al 0.012 M y etanol al 9% v/v.
28. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa final de la purificación de los productos obtenidos en la fase superior del sistema acuoso de dos fases, se emplea un paso cromatográfico, seleccionado a partir del grupo que consiste de cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad y cromatografía de intercambio hidrofóbico.
29. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa final de la purificación de los productos obtenidos en la fase inferior del sistema acuoso de dos fases, se emplea cromatografía de intercambio iónico.
30. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la etapa de nanofiltración se realiza a través de un filtro con exclusión para 20 nm.
31. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la esterilización de los productos se realiza a través de una membrana con exclusión para 0.22 µm.
32. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la formulación las inmunoglobulinas se liofilizan o se mantienen líquidas.
33. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque luego del envase la albúmina se pasteuriza durante 10 horas a 60 °C como paso de inactivación viral.
34. Productos obtenidos mediante el método de las reivindicaciones de la 1 a la 33.
35. Producto según la reivindicación 34, caracterizado porque es una formulación de inmunoglobulinas inyectable con la carga viral reducida.
36. Producto según la reivindicación 34, caracterizado porque es una formulación de albúmina inyectable con la carga viral reducida.



Search International and National Patent Collections

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION

Search | Browse | Translate | Options | News | Login | Help

Home IP Services PATENTSCOPE

1. (WO2012136172) METHOD FOR PRODUCING INJECTABLE FORMULATIONS OF BLOOD-DERIVED PROTEIN MATERIALS, AND MATERIALS OBTAINED USING SAID METHOD

PCT Biblio. Data Description Claims National Phase Notices Drawings Documents

Notifications of changes after publication		
Publication Date	Publication Kind	Publication Reason
11.10.2012	A1	

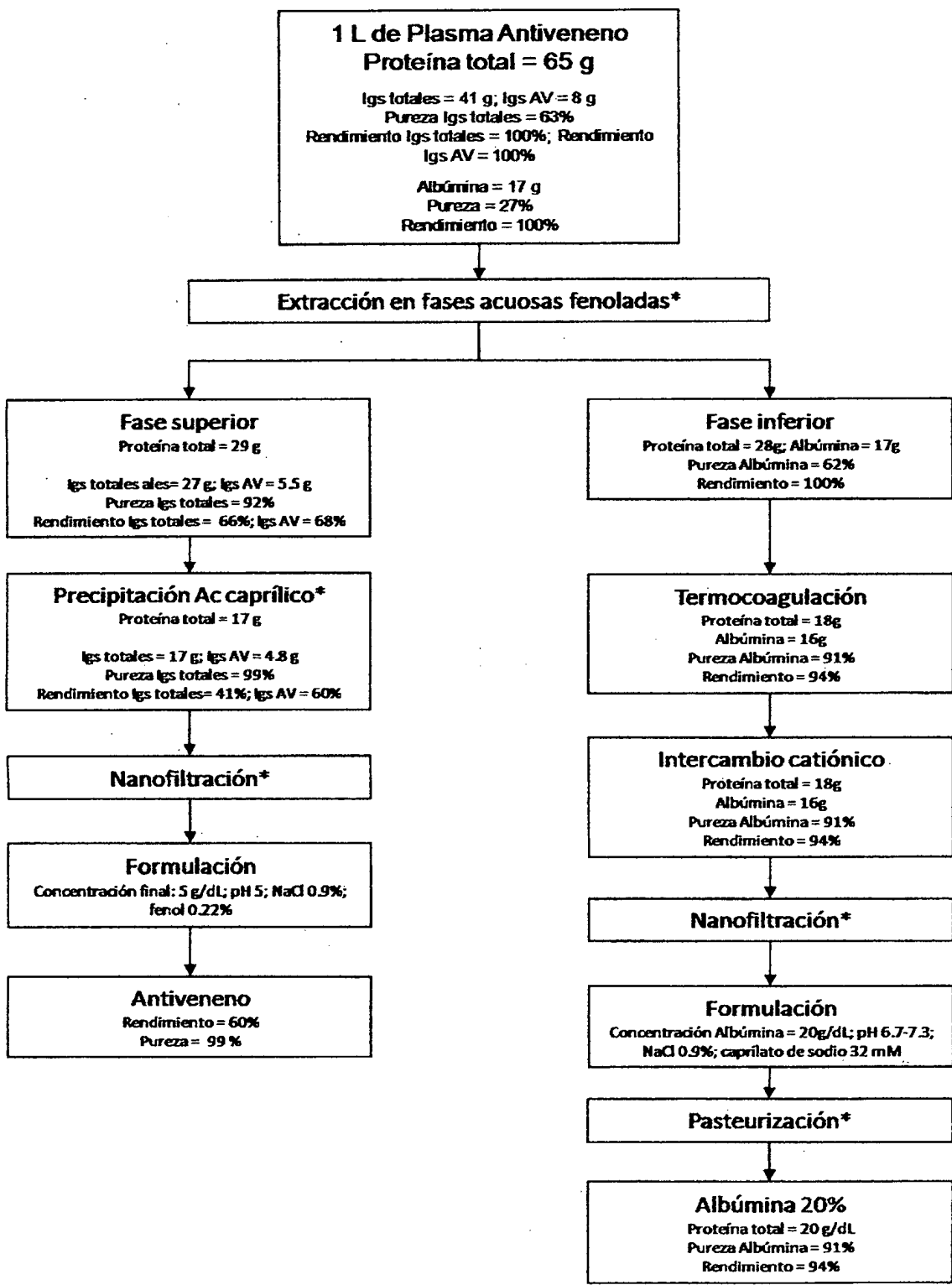


Figura 1

23 PCT/CR2011/00001

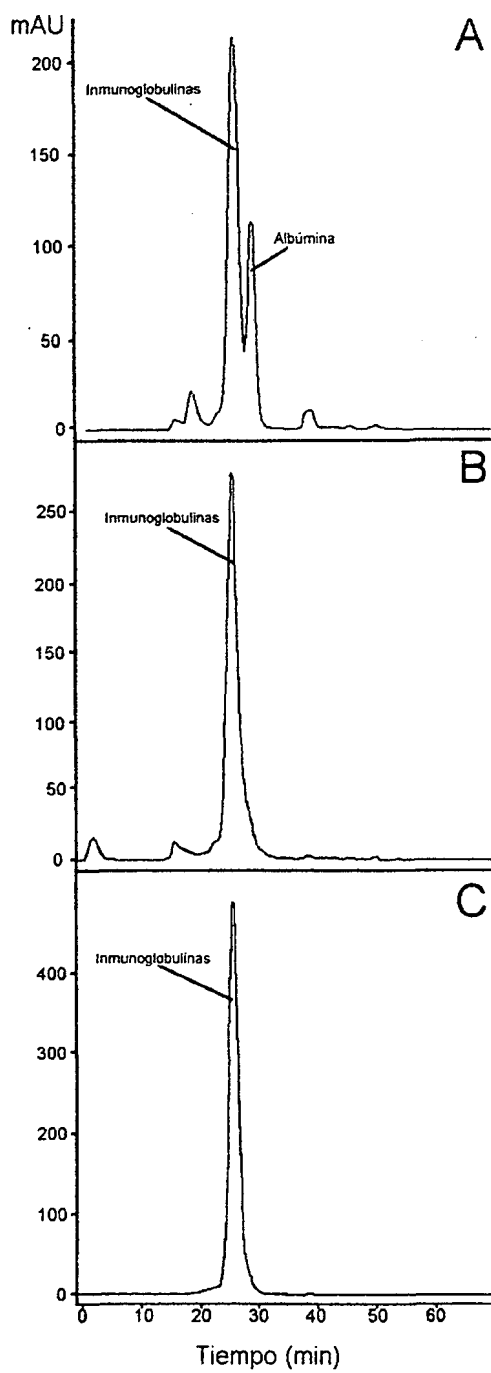


Figura 2

PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

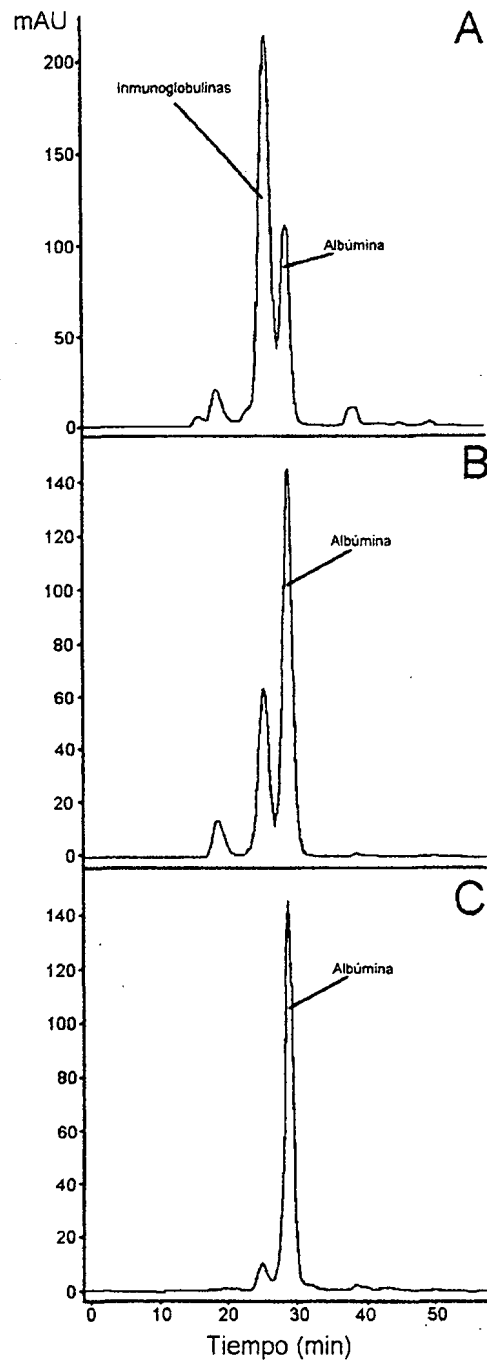


Figura 3

25 PCT/CR 2011/00001

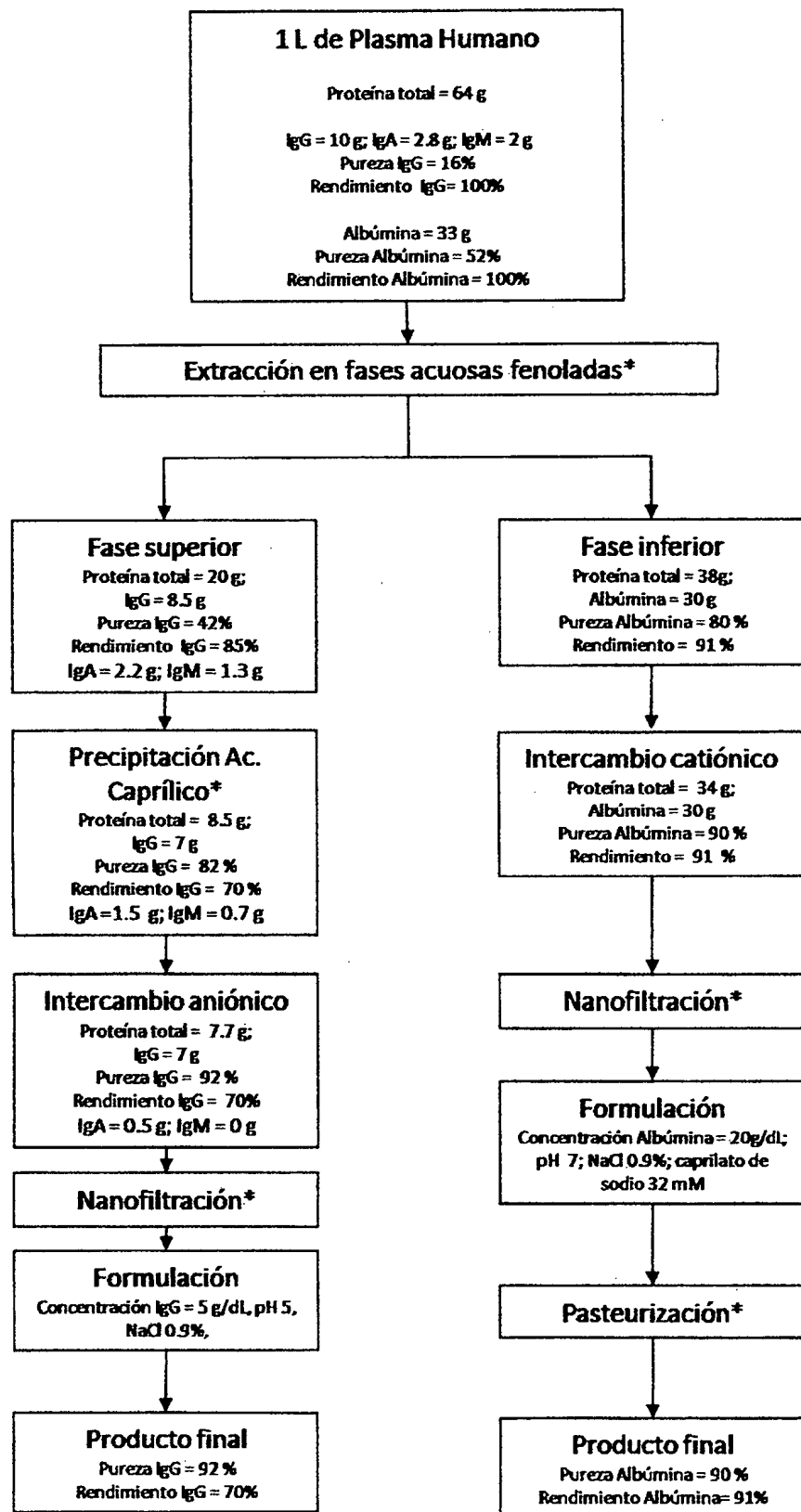


Figura 4

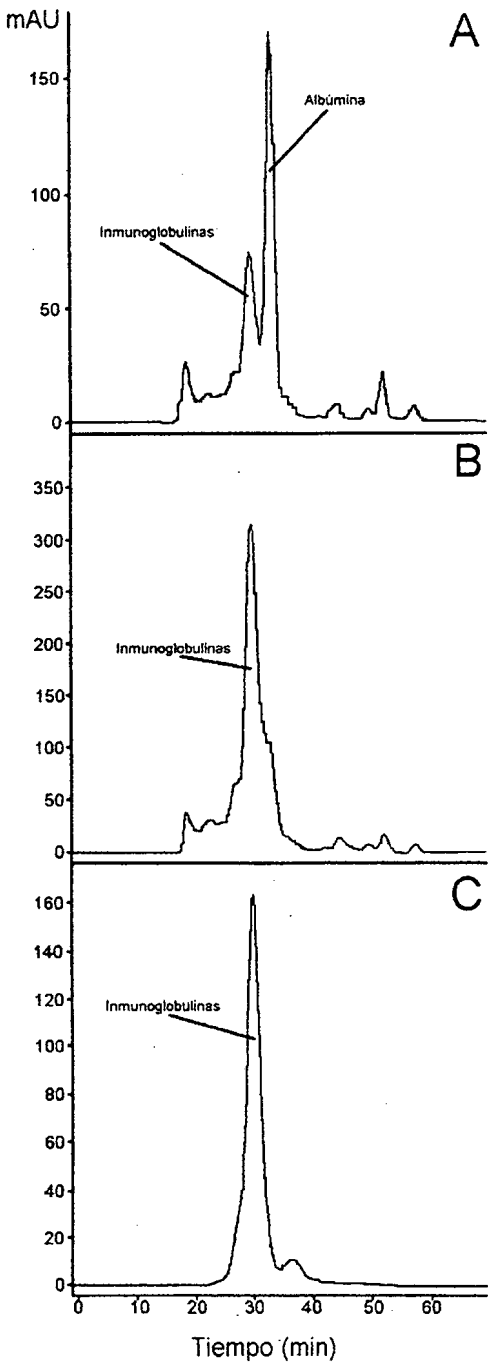


Figura 5

27

PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

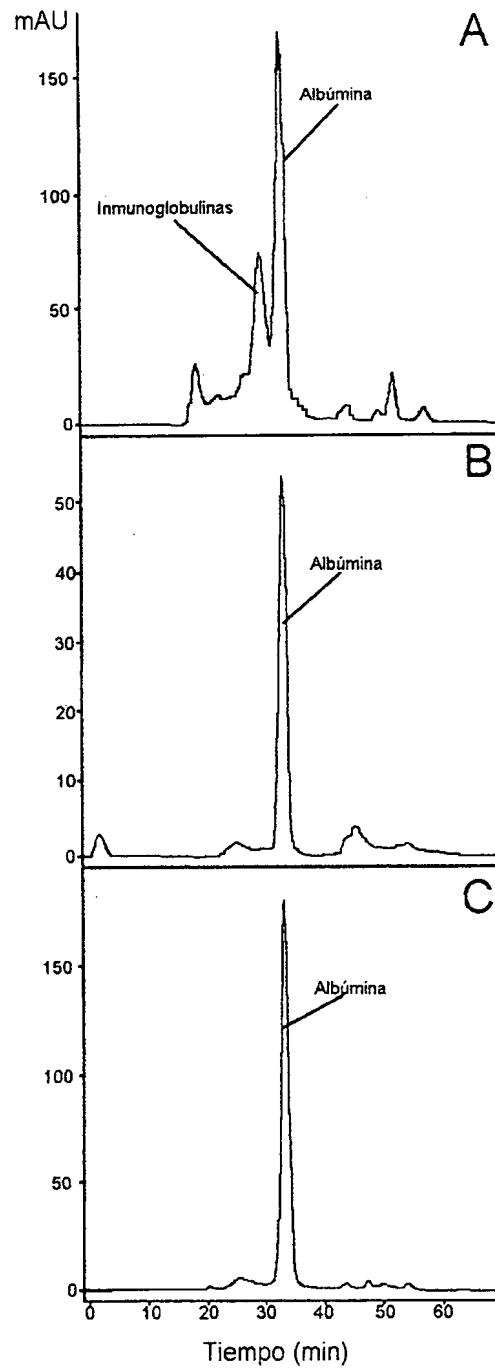


Figura 6

**MÉTODO PARA LA PRODUCCIÓN DE FORMULACIONES INYECTABLES DE
PRODUCTOS PROTEICOS HEMODERIVADOS Y PRODUCTOS OBTENIDOS
UTILIZANDO DICHO MÉTODO**

5 Campo técnico

La presente invención se relaciona con el campo de la purificación de proteínas terapéuticas, particularmente con un método para la producción de formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados, tales como inmunoglobulinas y/o albúmina.

10 Antecedentes de la invención

Los productos derivados de plasma sanguíneo tales como albúmina humana, inmunoglobulinas humanas y antivenenos heterólogos, son medicamentos importantes en el tratamiento de diversas enfermedades, accidentes y lesiones. Debido al aumento de la demanda actual de estos productos, es importante mejorar la eficiencia de los métodos de producción de los mismos, para poder abastecer adecuadamente dicha demanda, y de esta manera prevenir que a corto plazo se presente una escasez global de estos medicamentos.

Para la obtención de productos proteicos derivados de la sangre, y particularmente del plasma, existen varios métodos bien conocidos en el estado de la técnica. Entre ellos se encuentran:

1. Fraccionamiento de plasma

El fraccionamiento de plasma por la técnica de Cohn (fraccionamiento alcohólico en frío) es el método más extendido y utilizado por la industria de los productos biológicos derivados del plasma (ver Cohn E.J., Strong L.E., Hughes W.L., Mulford D.J., Ashworth J.N., Melin M., Taylor H.L. 1946. "Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissue and fluids", Journal of the American Chemical Society, 68: 459-475). Para mejorar los aspectos relacionados con el costo de producción y el rendimiento de la técnica original, varios investigadores han propuesto modificaciones que emplean menos reactivos o suprimen etapas en el proceso (ver Hink J., Hidalgo J., Seeberg V., Johnson F.F. 1957. "Preparation and properties of a heat-treated human plasma protein fraction". Vox Sanguinis 2: 174-186; Kistler, P., Nitschmann, H. 1962. "Large Scale Production of Human Plasma Fractions", Vox Sanguinis 7: 414-424; Schneider, W., Wolter, D., McCarty, L. 1976. "Alternatives for Plasma Fractionation". Vox

Sanguinis, (31) 2: 141–151). Por otra parte, otras modificaciones sugieren la incorporación de técnicas de purificación basadas en el uso de agentes precipitantes, uno o más pasos cromatográficos o una combinación de los mismos. Dentro de los agentes precipitantes comúnmente empleados se encuentran el sulfato de amonio, el polietilenglicol y el ácido caprílico.

2. Fraccionamiento de plasma mediante sistemas de dos fases acuosas (SDFA).

Se ha reportado el uso de los sistemas de dos fases acuosas (SDFA) para la recuperación primaria y fraccionamiento de compuestos de interés con alto valor comercial. Los SDFA se componen por mezclas de polímero-polímero, polímero-sal o alcohol-sal, y se han empleado en la recuperación primaria y purificación parcial de productos biológicos tales como proteínas, material genético, células u organelos de las mismas, compuestos orgánicos como aromas y colorantes, metales pesados y algunos fármacos (ver Benavides, J., Rito-Palomares, M. 2008. "Review: Practical experiences from the development of aqueous two-phase processes for the recovery of high value biological products". J Chem Technol Biotechnol 3:133-142; Huddleston, J., A. Veide, K. Köhler, J. Flanagan, S-O. Enfors and A. Lyddiat. 1991. "The molecular basis of partitioning in aqueous two-phase systems". Tibtech 9:381-388).

La patente US 4,684,723 presenta un método para separar el inhibidor de la alfa-1-proteinasa de otras proteínas y ácidos nucleicos presentes en el plasma o en medio de cultivo mediante el uso de SDFA. Asimismo, existe una solicitud de patente, publicación WO 2010/062244A1, que propone la recuperación y purificación parcial de proteínas terapéuticas, específicamente anticuerpos monoclonales, en dos etapas de extracción en SDFA. En la primera etapa, los anticuerpos se particionan hacia la fase superior, y en la segunda se precipitan en dicha fase. Posteriormente, son recuperados y re-disueltos para su posterior purificación mediante cromatografía. En otra invención (solicitud número US 2010/0179252) se propone el uso de un sistema multifásico compuesto por dos tipos de polímeros, uno ácido y el otro etérico, y al menos una sal, para la separación de biomoléculas, células o partículas. Adicionalmente, en la solicitud de patente WO 2010/080062 se presenta un método para aislar biomoléculas en SDFA polímero-sal, donde la molécula de interés, por ejemplo un anticuerpo monoclonal, se particiona hacia la fase que no es rica en el polímero. Adicionalmente, existen estudios sobre las condiciones de partición, extracción y purificación de anticuerpos en SDFA (ver Andrews, B.A., Nielsen, S., Asenjo, J.A. 2007, "Partinisiong and purification of monoclonal antibodies in aqueous two-phase systems", Bioseparation 6 (5): 303-313; Azevedo, A., Rosa, P., Ferreira, F. Aires- Barros, M. 2007, "Optimisation of aqueous two-phase extraction of human antibodies", J. Biotechnology 132(2): 209-217; y Rosa, P., Azevedo,

A., Sommerfeld, S., Mutter, M, Aires-Barros, M., Bäcker, W. 2009, "Application of aqueous two-phase systems to antibody purification: A multi-phase approach", J. Biotechnology 139 (4):306-313).

Por otra parte, se han publicado trabajos sobre la partición de albúmina en este tipo de sistemas, con respecto a variables como pH, temperatura, y tipo y concentración del polímero y las sales. (ver Gündüz, U. 2000. "Partitioning of bovine serum albumin in an aqueous two-phase system: optimization of partition coefficient", Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 743 (1-2): 259-262.; Farruggia, B., Nerli, B., Picó, G. 2003. "Study of the serum albumin-polyethyleneglycol interaction to predict the protein partitioning in aqueous two-phase systems". Journal of Chromatography B, 798 (1): 25-33; Lu, Y., Yang, Y., Zhao, X., Xia, C. 2010 "Bovine serum albumin partitioning in polyethylene glycol (PEG)/potassium citrate aqueous two-phase systems". Food and Bioproducts Processing. 88(1): 40-46; Garza, M., Rito, M., Serna, S., Benavides, J. 2010. "Potential of Aqueous Two-Phase Systems constructed on flexible devices: Human serum albumin as proof of concept". Process Biochemistry 45 (7): 1082-1087).

3. Purificación de inmunoglobulinas mediante precipitación con ácido caprílico

La técnica de purificación de inmunoglobulinas por precipitación con ácido caprílico fue introducida por primera vez por Steinbuch, M., Audran, R., 1969. "The isolation of IgG from mammalian sera with the aid of caprylic acid". Arch. Biochem. Biophysics 134, 279-284. Posteriormente, surgieron varias metodologías basadas en este principio. Por ejemplo, la patente US 4,164,495 (Hansen, 1979) emplea la precipitación de proteínas con 1-8% v/v de PEG y 0.1-5% v/v de ácido caprílico. En la patente US 5,075,425 (Kotitschke *et al.*, 1991) se precipitan proteínas contaminantes con ácido caprílico al 2.5%, seguido por una adsorción en DEAE-Sephadex. De manera similar, la solicitud de patente WO2006064373 (Bloy *et al.*, 2006) propone el uso de ácido caprílico al 2.5% para precipitar proteínas contaminantes. Asimismo, la patente US6955917 (Alred, *et al.*, 2003) propone el uso de una solución de caprilato al 40% (15-50 mM, preferiblemente 20 mM) para la eliminación de proteínas contaminantes e inactivación viral del producto, seguido por una cromatografía de intercambio iónico. Dicho proceso, es similar al presentado por la solicitud de patente WO200508293 (Römisch, *et al.*, 2005), en la que una solución de caprilato o de heptanoato se aplica con el mismo fin.

Finalmente, existen patentes que proponen el uso del ácido caprílico con otras finalidades. La patente US 5,164,487 (Kothe, *et al.*, 1992), en la cual el ácido caprílico, a una concentración entre 0.4 y 1.5%, se emplea para eliminar sustancias vasoactivas y

enzimas proteolíticas, seguido por una cromatografía de intercambio iónico; y la patente US 20070244305 (Parkinnen, 2007) que presenta la precipitación de proteínas contaminantes con PEG, y utiliza el ácido caprílico como un paso para la inactivación de los virus.

- 5 La mayoría de las metodologías propuestas en dichas patentes poseen rendimientos alrededor del 60%, y parten de una etapa inicial de fraccionamiento alcohólico en frío.

4. Purificación de Albúmina

- En el caso de la albúmina, la desnaturalización térmica diferencial o termocoagulación selectiva es un método empleado para su purificación a partir del plasma o una mezcla
10 de proteínas que la contenga. La patente US 4,156,681 propone el calentamiento del plasma a 68 °C en presencia de etanol y caprilato de sodio, seguido por la adición de PEG para recuperar la albúmina precipitada. De manera similar, en la patente US 3,992,367 se calienta el plasma a 60 °C, y posteriormente se precipita la albúmina con etanol. En otra invención (US 4,222, 934) el plasma se calienta a 60 °C, se adiciona PEG
15 para eliminar el precipitado de proteínas desnaturalizadas, y la albúmina se recupera mediante precipitación isoelectrica. Por otra parte, en la patente US 4,177,188 las inmunoglobulinas se recuperan previo al tratamiento térmico.

- Por lo tanto, existen procesos que parten de plasma, suero, alguna fracción del método de Cohn u otro material de partida que contenga albúmina y/o inmunoglobulinas para la
20 recuperación de las mismas, y que posteriormente emplean la termocoagulación selectiva y la precipitación con ácido caprílico para purificar albúmina e inmunoglobulinas, respectivamente. Sin embargo, hasta la fecha no se ha reportado el empleo de estas técnicas de purificación a partir de fracciones provenientes de un sistema de dos fases acuosas (SDFA).

- 25 La presente invención supera las limitaciones del estado de la técnica, ya que presenta una línea de producción para obtener formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados con carga viral reducida para uso humano, un aspecto de suma trascendencia que no ha sido descrito en el estado de la técnica con respecto a la obtención de inmunoglobulinas y albúmina empleando los SDFA.

30

Sumario de la Invención

Un objeto de la presente invención es un método para la producción de formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados con carga viral reducida, cuyo método comprende los pasos de (Figuras 1 y 4):

⁵ PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

- a. fraccionamiento del material de partida en un sistema de dos fases acuosas mediante la adición de un polímero y al menos una sal;
- b. adición de fenol al sistema de dos fases acuosas como primer paso de inactivación viral;
- 5 c. separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas;
- d. purificación de los productos contenidos en la fase superior del sistema mediante precipitación con un ácido graso;
- e. purificación de los productos contenidos en la fase inferior del sistema mediante termocoagulación;
- 10 f. remoción del precipitado de proteínas desnaturalizadas formado durante los pasos de purificación de las fase superior e inferior del sistema de dos fases;
- g. aumento de la pureza de los productos purificados a partir de la fase superior e inferior mediante cromatografía;
- i. nanofiltración de los productos obtenidos en el paso anterior para remover
15 partículas virales;
- h. formulación, estabilización y esterilización de los productos obtenidos.

El método de la invención puede llevarse a cabo partiendo de un material que puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de plasma sanguíneo, suero sanguíneo, una fracción obtenida por el método de Cohn u otro material cualquiera que contenga
20 productos proteicos hemoderivados, particularmente albúmina y/o inmunoglobulinas.

Inicialmente, se lleva a cabo el fraccionamiento del material de partida en un sistema compuesto de dos fases acuosas. Para ello, se procede a la adición de un polímero y una sal, siendo el polímero de elección el polietilenglicol con peso molecular entre 1000-6000 Da, y preferiblemente polietilenglicol de 3350 Da, el cual se emplea a una concentración
25 en el rango entre el 6 y el 15 % p/v, y preferiblemente entre el 6 y 9 % p/v.

La sal que se utiliza en el fraccionamiento puede ser fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico, sulfato de amonio y citrato de sodio, siendo utilizados de preferencia el fosfato de potasio monobásico y dibásico, a concentraciones entre el 10 y el 20% p/v, y preferiblemente
30 entre 15 y 20% p/v.

Adicionalmente, se emplea una sal que no participa en la formación de las dos fases, pero que influye en la partición de los solutos en el sistema, preferiblemente se utiliza el

cloruro de sodio, a una concentración entre el 5 y el 20% p/v, de forma preferida entre el 12 y 15% p/v.

Este paso de fraccionamiento se realiza a un pH entre 5.5 y 7.5, y de forma preferida a un pH de 6, y se realiza a temperatura ambiente (entre 20-25°C).

- 5 Como primer paso de inactivación viral, el método de la invención emplea fenol entre el 0.05 y 0.3% v/v, en una realización preferida utiliza el fenol al 0.25% v/v.

Luego de la inactivación viral, se procede a la separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas mediante una combinación de procesos seleccionada que puede ser: reposo y separación, reposo y filtración, reposo y decantación o

- 10 simplemente centrifugación.

El siguiente paso es la purificación de los productos contenidos en la fase superior del SDFA obtenido. Esta fase es rica en inmunoglobulinas, y para su purificación se lleva a cabo una precipitación con ácido caprílico, este último a una concentración entre el 1 y 6% v/v, y de forma preferida a una concentración entre el 1.5 y el 2% v/v.

- 15 Asimismo, se realiza una termocoagulación para la purificación de los productos que se encuentran en la fase inferior del sistema, la cual es rica en albúmina. Este proceso se lleva a cabo a una temperatura entre 60 y 70°C, y preferiblemente a 65 °C. Esta operación se lleva a cabo en presencia de caprilato de sodio al 0.012 M y etanol al 9% v/v.

- 20 Para aumentar la pureza de los productos obtenidos en la fase superior del sistema, se emplea un paso cromatográfico que puede comprender una cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad o cromatografía de intercambio hidrofóbico. Por su parte, la etapa final de purificación de los productos obtenidos en la fase inferior del sistema, se lleva a cabo empleando cromatografía de intercambio iónico.

- 25 La remoción de las partículas virales de los productos obtenidos como resultado del proceso de la invención, se lleva a cabo mediante nanofiltración, empleando para ello un filtro con exclusión para 20 nm. Los productos se pueden estabilizar con agentes como sacarosa y caprilato de sodio para la solución de inmunoglobulinas y albúmina, respectivamente. La formulación de inmunoglobulinas puede mantenerse en solución o
- 30 liofilizarse. En el caso de la albúmina se incluye un paso final de pasteurización durante 10 horas a 60 °C. Finalmente, los productos obtenidos se esterilizan a través de una membrana con exclusión para 0.22 µm.

Otros objetos de la presente invención son los productos obtenidos mediante el método previamente descrito. Tanto las inmunoglobulinas como la albúmina obtenidas en

realizaciones preferidas de la invención, son productos que muestran calidad de solución inyectable, y poseen la carga viral reducida acorde con las especificaciones establecidas (WHO, 2010. Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins; WHO, 2004. Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products).

Breve descripción de las figuras

FIG. 1. Diagrama de flujo que representa el método de la invención para obtener productos proteicos derivados de plasma equino hiperinmune, libres de virus. Se presenta el valor de rendimiento y pureza de los productos obtenidos en cada etapa del proceso. Las operaciones con asterisco muestran pasos de inactivación o remoción viral. Clave: Igs = Inmunoglobulinas, AV = antiveneno.

FIG. 2. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de antiveneno a partir de plasma equino hiperinmune. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma equino hiperinmune. B. Fase superior del SDFA resuspendida. C. Filtrado obtenido a partir de precipitación con ácido caprílico.

FIG 3. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de albúmina equina. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma equino hiperinmune. B. Fase inferior del SDFA. C. Cromatografía de intercambio catiónico de filtrado obtenido luego de la termocoagulación.

FIG. 4. Diagrama de flujo que representa el método de la invención para obtener productos proteicos derivados de plasma humano para uso intravenoso, libres de virus. Se presenta el valor de rendimiento y pureza obtenido de los productos en cada etapa del proceso. Las operaciones con asterisco muestran pasos de inactivación o remoción viral. Clave: Igs = Inmunoglobulinas.

FIG. 5. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de gammaglobulinas a partir de plasma humano. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma humano. B. Fase superior del SDFA resuspendida. C. Cromatografía de intercambio aniónico de filtrado obtenido luego de la precipitación con ácido caprílico.

FIG 6. Filtración en gel de muestras del método propuesto en la invención para la obtención de albúmina humana. Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, la

elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. A. Plasma humano. B. Fase inferior del SDFA. C. Cromatografía de intercambio catiónico de fase inferior.

Descripción detallada de la invención

- 5 La presente invención trata de un método para la purificación de productos proteicos hemoderivados, y es particularmente útil para la obtención simultánea de inmunoglobulinas y albúmina con calidad inyectable, a partir de mezclas que pueden contener estas y otras proteínas. Este método se caracteriza por ser práctico y económico, ya que emplea reactivos de costo accesible, y a diferencia del método de
- 10 Cohn, no necesita equipamiento específico para satisfacer requerimientos de temperatura estrictos. Los productos obtenidos (inmunoglobulinas y albúmina), presentan altos niveles de pureza (>90%) y rendimiento. El método se puede emplear para la recuperación de otros hemoderivados diferentes de las inmunoglobulinas y la albúmina, por ejemplo los factores de coagulación. Asimismo, puede emplearse para la purificación de fragmentos
- 15 de inmunoglobulinas (F(ab')₂ o Fab) obtenidos por digestión enzimática del plasma o de las inmunoglobulinas purificadas. Además, el proceso de obtención de cada producto incluye 2 pasos de inactivación y 1 de remoción viral, los cuales generan una reducción de la carga viral del producto que garantiza su seguridad, según lo establecido en la normativa. Por otra parte, esta metodología puede ser empleada para la purificación de
- 20 anticuerpos a partir de plasma hiperinmune, por ejemplo para la producción de antivenenos o antitoxinas.

El material de partida puede consistir en plasma o suero, digerido o no con enzimas proteolíticas, alguna fracción del plasma o suero, o alguna mezcla que contenga inmunoglobulinas y albúmina de origen humano o de cualquier otro animal.

- 25 El fraccionamiento del material de partida se realiza en un SDFA (Figuras 1 y 4). En este tipo de separación, el producto de interés posee afinidad hacia una de las dos fases acuosas que componen el sistema, diferente a la del resto de componentes de la mezcla en que se encuentra. Las fases se forman al mezclar dos o más sustancias hidrofílicas que en ciertas concentraciones se vuelven inmiscibles en agua, con base en fuerzas
- 30 termodinámicas relacionadas con su hidratación. El agua del sistema corresponde al agua presente en el material de partida. El sistema comprende el uso de un polímero soluble en agua, una sal soluble en agua y una sal soluble en agua que está involucrada en la partición de los solutos, pero que no es parte de la formación de las dos fases. El polímero es polietilenglicol (PEG), con un rango de peso molecular de 1000-6000 Da, que
- 35 se separa en su mayoría en la fase superior; la sal es fosfato de potasio, di y

monobásico, la cual se separa en su mayoría en la fase inferior, y la sal que no participa en la formación de las fases es cloruro de sodio. La relación entre el fosfato de potasio monobásico y dibásico determina el pH del sistema, a medida que aumenta el fosfato de potasio monobásico, disminuye el pH. La partición deseada de las proteínas se lleva a cabo en un rango de pH de 5.5-7.5 y a temperatura ambiente (20-25 °C). Por otra parte, la adición de fenol se realiza con el objetivo de inactivar partículas virales presentes en el material de partida durante el fraccionamiento. La capacidad antiviral del fenol radica en su habilidad para producir disrupción física de proteínas y estructuras lipídicas de los virus.

- 10 Los componentes del sistema se añaden al material de partida bajo condiciones de agitación constante en las siguientes concentraciones: fenol entre 0.05-0.3% v/v, PEG entre 6-15 p/v%, fosfato de potasio entre 10-20 p/v% y cloruro de sodio entre 5-20 %p/v; preferiblemente, 0.25% v/v de fenol, entre 6 y 9 % p/v de PEG, entre 15 y 20% p/v de fosfato de potasio y 15% p/v de NaCl. El orden de adición de los componentes puede
- 15 variar, sin embargo es recomendable añadir el siguiente componente cuando el previo esté disuelto. Una vez adicionados los componentes, la mezcla se agita durante una hora. Posteriormente, se deja en reposo para favorecer la formación de las fases. Cabe mencionar que las concentraciones de los diferentes componentes se expresan en términos de p/v (peso/volumen), ya que como el material de partida aporta el agua que
- 20 compone el SDFA, la adición de los mismos se realiza en su forma sólida y no en solución. Este hecho resulta en una ventaja al escalar el método, pues elimina la necesidad de manejar varios contenedores con las soluciones de los componentes.

- Una vez que se forman las fases, diversas características del medio y de las proteínas determinan la partición de las mismas, tales como peso molecular y concentración de las
- 25 proteínas, pH, fuerza iónica y concentración de los componentes del sistema. Bajo estas condiciones, la albúmina y otras proteínas contaminantes se particionan hacia la fase inferior rica en sales, y las inmunoglobulinas y otras proteínas contaminantes, se particionan hacia la fase superior. Las inmunoglobulinas, a diferencia de la albúmina que queda en suspensión, se precipitan en la fase superior, lo que permite su concentración
- 30 en dicha fase en un solo paso. Esto representa una ventaja al integrar dos operaciones unitarias como lo son la purificación primaria y la concentración de estas proteínas.

La separación de las fases se realiza por filtración, centrifugación o decantación. A partir de este punto, cada fase se convierte en una línea paralela de purificación. Ambas líneas serán descritas por separado a continuación (Figuras 1 y 4):

Purificación de inmunoglobulinas a partir de la fase superior de SDFA.

El precipitado recuperado de la fase superior al separar las fases, se resuspende en un volumen de agua que permita la redisolución total del precipitado; de preferencia en un volumen igual o menor al volumen de partida, para favorecer la concentración del producto. La suspensión se agita hasta lograr la total disolución de la pasta.
5 Posteriormente, se adiciona un ácido graso, el cual precipita y desnaturaliza a las proteínas contaminantes, y deja las inmunoglobulinas en suspensión. El ácido graso funciona en un rango de 1-6% v/v, preferiblemente entre 1.5 y 2 % v/v. El ácido graso puede ser de 6 a 8 carbonos, preferiblemente de 8 carbonos (ácido caprílico u octanoico).
10 La precipitación puede llevarse a cabo en un rango de pH de 5 a 8 sin afectar el resultado obtenido. La agitación durante la precipitación debe ser vigorosa y se realiza en una rango de 30 a 60 minutos. El precipitado es eliminado mediante microfiltración o centrifugación. Además, este método funciona como un paso de inactivación de virus con envoltura lipídica. La forma no ionizada del ácido caprílico es lipofílica, y tiene la
15 capacidad de penetrar y romper la bicapa lipídica del virus y las proteínas asociadas a ella.

Posteriormente, el filtrado o sobrenadante en el cual se encuentran las inmunoglobulinas, se pasa a través de una columna cromatográfica para incrementar su pureza, que puede seleccionarse del grupo que consiste en cromatografía de intercambio aniónico,
20 cromatografía de afinidad y cromatografía de intercambio hidrofóbico.

Purificación de albúmina a partir de fase inferior de SDFA.

La fase inferior enriquecida en albúmina (Figuras 1 y 4), se dializa o diafiltra para eliminar las sales provenientes del SDFA. Este proceso se lleva a cabo con una membrana de corte molecular menor o igual a 30 KDa. Posteriormente, la solución se somete al
25 proceso de termocoagulación selectiva, en el cual esta se calienta en un rango de temperatura de 60-70 °C, preferiblemente 65 °C, durante 0.5-2 horas. Este paso precipita el resto de proteínas y deja en solución a la albúmina, ya que a esta temperatura las demás proteínas del plasma se desnaturalizan. Se emplean agentes como el caprilato de sodio y el N- acetil triptofanato de sodio para mantener la estabilidad de la albúmina a
30 dichas temperaturas, preferentemente caprilato de sodio en un rango de 0.02-0.1 M, preferiblemente 0.012 M. Este calentamiento se realiza en presencia de etanol en un rango de 5-15% v/v, preferiblemente 9% v/v con el fin de propiciar la precipitación del resto de proteínas. Luego de que la solución se calienta, se lleva a temperatura ambiente, y se baja el pH a 5. Seguidamente, el precipitado se separa por microfiltración o
35 centrifugación, y se recupera la albúmina en suspensión. Como paso final de purificación

del producto, esta solución se pasa a través de una columna cromatográfica, en una realización particular, a través de una resina de intercambio catiónico (ácido sulfónico o carboximetil).

Nanofiltración, formulación, estabilización y envase de las dos formulaciones farmacéuticas.

De manera paralela ambas soluciones, de albúmina y de inmunoglobulinas, se nanofiltran, formulan, estabilizan y envasan (Figuras 1 y 4). La nanofiltración es un paso de remoción viral basado en exclusión por tamaño, emplea un filtro de 20 nm. Las partículas virales pueden ser removidas como complejos anticuerpo-virus, debido a la presencia de anticuerpos antivirales en las soluciones de inmunoglobulinas, o como partículas virales en el caso de la formulación de albúmina. Después de nanofiltrar ambas soluciones, se formula cada medicamento. La formulación de inmunoglobulinas comprende la concentración del producto a 1.0 a 10.0 g/dL de proteína mediante ultrafiltración con una membrana con exclusión para 30 KD; el ajuste del pH en un rango de 5 a 7, preferiblemente 5; la adición de sacarosa al 5% como estabilizante y NaCl al 0.9%. El producto se esteriliza mediante filtración a través de una membrana con exclusión para 0.22 µm, y se envasa. El producto podría liofilizarse o mantenerse líquido.

En el caso de la albúmina, luego de la nanofiltración, la formulación del producto comprende la concentración a 20 g/dL de proteína mediante ultrafiltración con una membrana con exclusión para 10 KDa; el ajuste del pH en un rango de 6.5 a 7.5, preferiblemente 7; la adición de caprilato de sodio como estabilizante y NaCl al 0.9%. El medicamento se esteriliza, se envasa, y finalmente se pasteuriza a 60 °C por 10 horas. La pasteurización inactiva virus envueltos y sin envoltura por exposición a alta temperatura. Según Kempf, C., Stucki, M., Boschetti, N. 2007. "Pathogen inactivation and removal procedures used in the production of intravenous immunoglobulins", Biologicals 35: 35-42, la pasteurización actúa sobre la bicapa lipídica de virus envueltos, e inestabiliza al virión al transformar los lípidos del estado sólido al líquido.

El método objeto de la invención será mejor comprendido a partir de los siguientes ejemplos de realización, los cuales se proporcionan con el único fin de ilustrar la invención, y en modo alguno se deben considerar para restringir su alcance.

EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

Ejemplo 1. Producción de antivenenos y albúmina a partir de plasma equino hiperinmune.

Con el fin de obtener inmunoglobulinas y albúmina a partir del mismo lote de plasma, 1 L de plasma equino hiperinmune, es decir de plasma rico en anticuerpos antiveneno de serpiente, fue fraccionado en un sistema de dos fases acuosas polímero-sal. El plasma se obtuvo a partir de caballos inmunizados con veneno de *Bothrops asper*, *Lachesis stenophrys* y *Crotalus simus*. El material de partida contenía 63% de inmunoglobulinas y 27% de albúmina (Figuras 1 y 2). Para formar el sistema de dos fases, se adicionó 150 g cloruro de sodio (15% p/v), 106 g de fosfato de potasio dibásico, 74 g de fosfato de potasio monobásico (18% p/v), 90 g de polietilenglicol (9% p/v) y como agente antiviral 2.5 mL de fenol (0.25% v/v). Se empleó una proporción de fosfato de potasio monobásico/dibásico de 0.7 para que el pH del sistema fuera de 6.1. Se agitó luego de la adición de cada componente para favorecer la disolución antes de añadir el siguiente. El sistema se agitó vigorosamente durante 1 hora, y se dejó reposar por 1 hora para favorecer la formación de las fases, una superior en la cual se encuentran las inmunoglobulinas precipitadas, y una inferior en la que se encuentra la albúmina en suspensión. Posteriormente, se microfiltró la mezcla por gravedad; este paso también puede llevarse a cabo mediante centrifugación o decantación. Luego de la filtración, se continuó procesando el precipitado (inmunoglobulinas) y el filtrado (albúmina) por separado. Tal como lo muestra la figura 1, una vez separadas ambas fases, se recuperó el 68% de las inmunoglobulinas antiveneno del plasma en la fase superior (Figura 2.B), y el 100% de la albúmina del plasma en la fase inferior (Figura 3B). El valor de pureza de cada uno fue estimado por filtración en gel, y corresponde al 92% y 62% de pureza, respectivamente. El rendimiento proteico global entre las dos fases fue del 88%, el otro 12% corresponde a fibrina que se particiona hacia la fase superior (Figura 1).

Para la preparación del antiveneno, el precipitado se resuspendió en 1400 mL de agua desionizada con agitación constante durante 1 hora. Una vez que las inmunoglobulinas y resto de proteínas remanentes se disolvieron, se adicionó ácido caprílico. Normalmente, la cantidad de ácido caprílico que se utiliza para la producción de antivenenos es de 5-7% v/v. Sin embargo, debido a que en este caso la fracción de inmunoglobulinas proviene del SDFA, esta contiene menor cantidad de contaminantes. En consecuencia, se requiere menor cantidad de ácido caprílico (1.75 % v/v). Luego de la adición de ácido caprílico, la mezcla se agitó vigorosamente por 30 minutos para favorecer la precipitación. Este paso tiene doble propósito, ya que por una parte precipita las proteínas contaminantes y por otra, inactiva los virus envueltos. Posteriormente, las inmunoglobulinas en solución se recuperaron por microfiltración por gravedad. En este punto, se recuperó el 60% de las inmunoglobulinas antiveneno presentes originalmente en el plasma, con una pureza del 99% (Figuras 1 y 2). Debido a que el producto cumple con un nivel de pureza muy

elevado, no se realizó un paso cromatográfico adicional y se pasó a la etapa de formulación del producto.

Seguidamente, el filtrado se dializó contra agua desionizada con una membrana de exclusión de 15 KDa. La diálisis puede substituirse por diafiltración en un ultrafiltrador.

- 5 Como tercer paso antiviral, el antiveneno se nanofiltró a través de un filtro con exclusión de 20 nm. Se concentró el producto mediante ultrafiltración con una membrana de exclusión de 30 KDa a la concentración de proteína requerida para alcanzar la especificación de actividad neutralizante (por ejemplo, 3 mg veneno/mL antiveneno para *Bothrops asper*, 3 mg veneno/mL antiveneno para *Lachesis stenophrys*, 2 mg veneno/mL antiveneno para *Crotalus simus* ó 0.5 mg veneno/mL antiveneno para *Micrurus nigrocinctus*). El producto fue formulado a pH 7 con NaCl 0.9 % p/v y fenol 0.25% v/v, y esterilizado mediante filtración con una membrana con exclusión para 0.22 µm (Figura 1). Se dispensó en frascos estériles con 10 mL cada uno.
- 10

- Por otra parte, la fase inferior del SDFA rica en albúmina, se dializó contra agua con una membrana de exclusión de 15 KDa para eliminar sales provenientes del sistema. La diálisis puede substituirse por diafiltración en un ultrafiltrador. Para precipitar las proteínas contaminantes, la suspensión de albúmina se sometió a termocoagulación, para lo cual se le adicionó 2.4 g (0.012 M) de caprilato de sodio como estabilizante y 126 mL de etanol al 95% v/v (9% v/v). Luego, se calentó durante 1 h a 65 °C en un baño maría con temperatura regulada. Posteriormente, se llevó a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 5 con HCl 0.5 M. las proteínas precipitadas fueron removidas por microfiltración por gravedad. Como se muestra en las Figuras 1 y 3C, en esta etapa del proceso, se obtuvo un rendimiento del 94%, con una pureza del 91%.
- 15
- 20

- Para pulir la pureza del filtrado rico en albúmina purificada, se le adicionó NaCl al 0.1% y se le ajustó el pH a 8 con NaOH 0.5 M. Después, se pasó a través de una membrana de intercambio catiónico con una resina ácido sulfónico. Se recuperó la fracción no unida y se ajustó su pH a 7 con HCl 0.5 M. Como segundo paso antiviral la solución fue nanofiltrada a través de un filtro con exclusión de 20 nm. Se concentró el producto mediante ultrafiltración con una membrana de exclusión de 10 KDa a 20 g/dL, y se adicionó caprilato de sodio como estabilizante y el pH se ajustó a 7. Se esterilizó el producto mediante filtración con una membrana con exclusión para 0.22 µm y se dispensó en frascos estériles. El producto se pasteurizó durante 10 horas a 60 °C para garantizar su seguridad viral (Figura 1).
- 25
- 30

Ejemplo 2. Producción de inmunoglobulina y albúmina de calidad inyectable libre de virus a partir de plasma humano.

Se fraccionó 1 L de plasma humano en un SDFA acuosas polímero-sal para la obtención de inmunoglobulinas y albúmina. Cabe mencionar que el plasma humano contiene una
5 mayor proporción de albúmina (52%) con respecto a la de inmunoglobulinas (16%). Para formar el sistema de dos fases, se adicionó 150 g cloruro de sodio (15% p/v), 106 g de fosfato de potasio dibásico, 74 g de fosfato de potasio monobásico (18% p/v), 60 g de polietilenglicol (6% p/v) y como agente antiviral 2.5 mL de fenol (0.25% v/v). En este caso, se empleó una concentración menor de PEG que en el ejemplo 1, puesto que a diferencia
10 del material de partida de dicho ejemplo, el plasma humano posee un porcentaje menor de inmunoglobulinas, por lo que se requiere una fase superior menor en la cual se particionan estas proteínas. El resto de operaciones relacionadas con esta etapa de fraccionamiento se llevaron a cabo de la misma manera que en el ejemplo 1. Tal como se muestra en la Figuras 4 y 5B, la recuperación de IgG en la fase superior fue de 85%, con una pureza del 42%; por su parte el rendimiento proteico de albúmina en la fase inferior
15 fue de 91%, con una pureza del 80% (Figuras 4 y 6B). El rendimiento proteico global del sistema fue del 91%, el porcentaje restante corresponde a fibrina.

Una vez separadas las dos fases, la fase superior rica en inmunoglobulinas precipitadas, se resuspendió en 1400 mL de agua desionizada con agitación constante durante 1 hora.
20 Una vez que las inmunoglobulinas y resto de proteínas remanentes se disolvieron, se adicionó ácido caprílico al 2% v/v. El filtrado recuperado presentó un rendimiento de IgG del 70%, con una pureza del 82% (Figura 4).

A diferencia del ejemplo 1, luego de recuperar el filtrado proveniente de la precipitación con el ácido caprílico, se realizó una cromatografía de intercambio aniónico para refinar la
25 pureza de la solución de inmunoglobulinas (Figura 4). Para esto, a la solución se le adicionó NaCl al 0.1% y se ajustó el pH a 5 con HCl 0.5 M, y se pasó a través de una membrana de intercambio aniónico con una resina de amonio cuaternario. Se recuperó la fracción no unida y se ajustó su pH a 7 con NaOH 0.5 M. En esta fracción se recuperó el 70% de las IgG presentes originalmente en el material de partida, con una pureza del
30 92% determinada por filtración en gel (Figuras 4 y 5C). Cabe mencionar que la precipitación con ácido caprílico y la cromatografía son procesos efectivos en la remoción de IgA e IgM. El producto obtenido se formuló, estabilizó y esterilizó de la manera descrita en el ejemplo 1 para la solución de antiveneno.

Con respecto a la fase inferior del SDFA rica en albúmina, la misma presentó un nivel de
35 pureza del 80%, con un rendimiento de recuperación del 91% (Figura 6B), por lo que

luego de la diálisis, no se realizó termocoagulación selectiva de la solución. Por lo tanto, se incrementó la pureza de la albúmina mediante cromatografía de intercambio catiónico, la cual se realizó bajo las mismas condiciones descritas en el ejemplo 1 para la albúmina equina. Asimismo, el resto de operaciones se llevaron a cabo de la misma manera en la que se describió anteriormente en el caso de la albúmina equina. Finalmente se obtuvo un producto con un 90% de pureza y con un rendimiento de recuperación del 91% (Figuras 4 y 6C).

Ejemplo 3. Determinación de pureza y rendimiento de inmunoglobulinas antiveneno

Se realizó un análisis de la pureza del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación mediante filtración en gel en FPLC (Figuras 2 y 3). Se empleó una columna Superdex 200 10/300 GL, y la elución se realizó con un amortiguador de NaCl 150 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 7.5. Se calculó el porcentaje de pureza de inmunoglobulinas totales como la relación entre el área bajo la curva del pico con tiempo de retención de 25 ± 0.3 min (correspondiente al peso molecular de las inmunoglobulinas), y la suma del área bajo la curva de todos los picos del cromatograma.

Para la determinación del rendimiento proteico, se cuantificó la concentración de proteína total del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación, haciendo uso de una modificación del método de Biuret (ver Parvin, R., Pande, S.V., Venkitasubramanian, A. 1965. "On the colorimetric Biuret Method of Protein Determination". Analytical Biochemistry 12: 219-229). Con los datos obtenidos de la determinación proteica, de los porcentajes de pureza por FPLC y del volumen de cada muestra, se expresó la cantidad obtenida de inmunoglobulinas totales en término de gramos. Finalmente, se calculó el rendimiento proteico a partir de la relación de inmunoglobulinas totales en la muestra (g) y las inmunoglobulinas totales en el material de partida (g).

Asimismo, se realizó un ELISA del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación para la cuantificación de anticuerpos específicos antiveneno de *Bothrops asper*. Para esto, se recubrieron placas de 96 hoyos con 100 μ L/hoyo de una solución de veneno de *B. asper* en solución de fosfatos (3 μ g/hoyo), seguido por una incubación durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionaron por triplicado 100 μ L/hoyo de varias diluciones de las muestras, y se incubó por 1 hora a temperatura ambiente. Luego de realizar el lavado de la placa, se adicionaron 100 μ L/hoyo de una dilución de un conjugado anti-IgG de caballo unido a peroxidasa, y se realizó una incubación de una hora. Finalmente, luego de lavar la placa, se adicionó el sustrato (peróxido de hidrógeno y o-fenilendiamina) para desarrollar color. La

absorbancia se leyó en un lector de microplacas a 492 nm. La concentración de IgG equina antiveneno se expresó en términos de g/L, utilizando una curva de calibración estándar preparada con concentraciones conocidas de IgG antiveneno. Dicho estándar se obtuvo mediante cromatografía de afinidad, al pasar una muestra de plasma equino hiperimmune parcialmente purificado, a través de una columna de *Sepharose* unida a veneno de *B. asper*.

Posteriormente, con base en la concentración de inmunoglobulinas antiveneno obtenida en las muestras por ELISA y el volumen de cada una, se expresó la cantidad de inmunoglobulinas antiveneno en términos de gramos. Finalmente, se calculó el rendimiento proteico a partir de la relación de inmunoglobulinas antiveneno en la muestra (g) y las inmunoglobulinas antiveneno en el material de partida (g).

Ejemplo 4. Determinación de pureza y rendimiento de inmunoglobulinas humanas

La determinación del rendimiento proteico del material de partida y de las muestras provenientes de cada etapa de purificación se realizó de la manera descrita en el ejemplo 3.

Para la cuantificación de IgG, IgA e IgM se empleó un kit de inmunodifusión radial (IDR) (Cromatest; Linear Chemicals SL, Barcelona, España). Las muestras se aplicaron en pozos en un gel de agarosa y se dejaron difundir durante 48 horas. Con base en la concentración obtenida y el volumen de cada muestra, se expresó la cantidad de cada tipo de anticuerpo en gramos. A partir de los datos anteriores, se determinó la pureza de gammaglobulinas (IgG) en cada muestra, con base en la relación de la cantidad de gammaglobulinas obtenida por IDR y la proteína total de la muestra en cuestión. Asimismo, el rendimiento de gammaglobulinas se calculó a partir de la relación de gammaglobulinas en la muestra (g) y las gammaglobulinas en el material de partida (g).

Ejemplo 5. Determinación de pureza y rendimiento de albúmina

Esta determinación se llevó cabo de manera similar tanto para la albúmina equina, como para la humana. Con respecto a la pureza de la albúmina, esta se determinó mediante filtración en gel en FPLC (Figuras 3 y 6), tal como se describió para las inmunoglobulinas. La pureza se definió con base en la relación entre el área bajo la curva del pico con tiempo de retención de 28 ± 0.3 min (correspondiente al peso molecular de la albúmina), y la suma del área bajo la curva de todos los picos del cromatograma.

Por su parte, el rendimiento proteico se determinó tal como se especificó en el caso de las inmunoglobulinas, es decir, con base en la relación de albúmina en la muestra (g) y la albúmina en el material de partida (g).

REIVINDICACIONES

1. Un método para la producción de formulaciones inyectables de productos proteicos hemoderivados con carga viral reducida, caracterizado porque comprende los pasos de:
- 5 a. fraccionamiento del material de partida en un sistema de dos fases acuosas mediante la adición de un polímero y al menos una sal;
- b. adición de fenol al sistema de dos fases como primer paso de inactivación viral;
- c. separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas;
- d. purificación de los productos de la fase superior del sistema mediante
10 precipitación con un ácido graso;
- e. purificación de la fase inferior de los productos del sistema mediante termocoagulación;
- f. remoción del precipitado de proteínas desnaturalizadas formado durante los pasos de purificación de las fase superior e inferior del sistema de dos fases;
- 15 ii. aumento de la pureza de los productos obtenidos a partir de la fase superior e inferior mediante cromatografía;
- iii. nanofiltración de los productos obtenidos en el paso anterior para remover partículas virales;
- i. formulación, estabilización y esterilización de los productos obtenidos.
- 20 2. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque el material de partida se selecciona a partir del grupo que consiste de plasma sanguíneo, suero sanguíneo, una fracción obtenida por el método de Cohn u otro material cualquiera que contenga productos proteicos hemoderivados.
3. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque el polímero que se
25 utiliza en el fraccionamiento del material de partida es polietilenglicol con peso molecular entre 1000-6000 Da.
4. El método según la reivindicación 3, caracterizado porque el polímero es polietilenglicol con un peso molecular de 3350 Da.
5. El método según las reivindicaciones 3 y 4, caracterizado porque el polietilenglicol
30 se emplea a una concentración entre el 6 y el 15 % p/v,
6. El método según la reivindicación 5, caracterizado porque el polietilenglicol se emplea entre el 6 y el 9% p/v.

7. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la sal que se utiliza en el fraccionamiento es seleccionada del grupo que consiste de fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico, sulfato de amonio y citrato de sodio.
- 5 8. El método según la reivindicación 7, caracterizado porque la sal es fosfato de potasio monobásico y dibásico.
9. El método según la reivindicación 8, caracterizado porque el fosfato de potasio monobásico y dibásico se emplean a una concentración entre el 10 y el 20% p/v.
- 10 10. El método según la reivindicación 9, caracterizado porque el fosfato de potasio monobásico y dibásico se emplean entre el 15 y el 20% p/v.
11. El método según las reivindicaciones de la 8 a la 10, caracterizado porque el fosfato de potasio monobásico o dibásico se emplean en una proporción dependiente del pH deseado.
12. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque se adiciona una sal que influye en la partición de los solutos pero no en la formación de las dos fases.
- 15 13. El método según la reivindicación 12 caracterizado porque la sal es cloruro de sodio.
14. El método según la reivindicación 13, caracterizado porque el cloruro de sodio se emplea a una concentración entre el 5 y el 20% p/v.
- 20 15. El método según la reivindicación 14, caracterizado porque el cloruro de sodio se emplea a una concentración entre el 12 y el 15% p/v.
16. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la etapa de fraccionamiento se realiza a un pH entre 5.5 y 7.5.
- 25 17. El método según la reivindicación 16, caracterizado porque la etapa de fraccionamiento se realiza a un pH de 6.
18. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la primera inactivación viral se emplea fenol entre el 0.05 y 0.3% v/v.
19. El método según la reivindicación 18, caracterizado porque se emplea fenol al 0.25% v/v.
- 30 20. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la separación de las fases superior e inferior del sistema de dos fases acuosas se realiza mediante una combinación de procesos seleccionada del grupo que consiste de reposo y separación, reposo y filtración, reposo y decantación, o centrifugación.

21. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la purificación de los productos contenidos en la fase superior del sistema de dos fases acuosas se realiza mediante precipitación con ácido octanoico.
- 5 22. El método según la reivindicación 21, caracterizado porque el ácido octanoico se emplea a una concentración de entre el 1 y el 6% v/v.
23. El método según la reivindicación 22, caracterizado porque el ácido octanoico se emplea a una concentración entre el 1.5 y el 2% v/v.
24. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la termocoagulación se lleva a cabo a una temperatura entre 60 y 70°C.
- 10 25. El método según la reivindicación 24, caracterizado porque la termocoagulación se lleva a cabo a 65 °C.
26. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la termocoagulación selectiva de la fase inferior de las fases se lleva a cabo en presencia de caprilato de sodio y etanol.
- 15 27. El método según la reivindicación 26, caracterizado porque se emplea una mezcla de caprilato de sodio al 0.012 M y etanol al 9% v/v.
28. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa final de la purificación de los productos obtenidos en la fase superior del sistema acuoso de dos fases, se emplea un paso cromatográfico, seleccionado a partir del grupo que
20 consiste de cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad y cromatografía de intercambio hidrofóbico.
29. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa final de la purificación de los productos obtenidos en la fase inferior del sistema acuoso de dos fases, se emplea cromatografía de intercambio iónico.
- 25 30. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la etapa de nanofiltración se realiza a través de un filtro con exclusión para 20 nm.
31. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque la esterilización de los productos se realiza a través de una membrana con exclusión para 0.22 µm.
32. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque en la formulación las
30 inmunoglobulinas se liofilizan o se mantienen líquidas.
33. El método según la reivindicación 1, caracterizado porque luego del envase la albúmina se pasteuriza durante 10 horas a 60 °C como paso de inactivación viral.
34. Productos obtenidos mediante el método de las reivindicaciones de la 1 a la 33.

²⁰ PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

35. Producto según la reivindicación 34, caracterizado porque es una formulación de inmunoglobulinas inyectable con la carga viral reducida.
36. Producto según la reivindicación 34, caracterizado porque es una formulación de albúmina inyectable con la carga viral reducida.

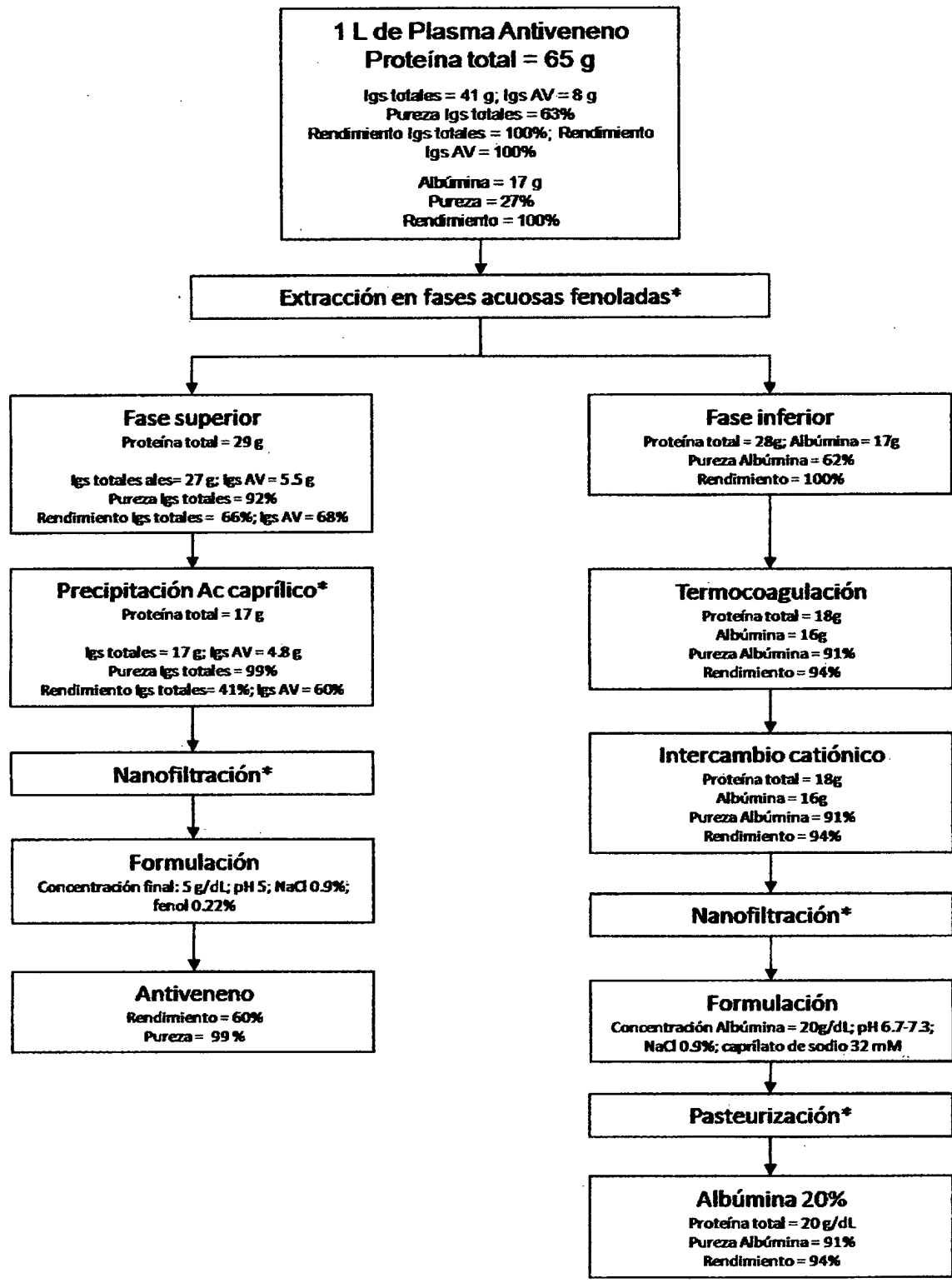


Figura 1

23 PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

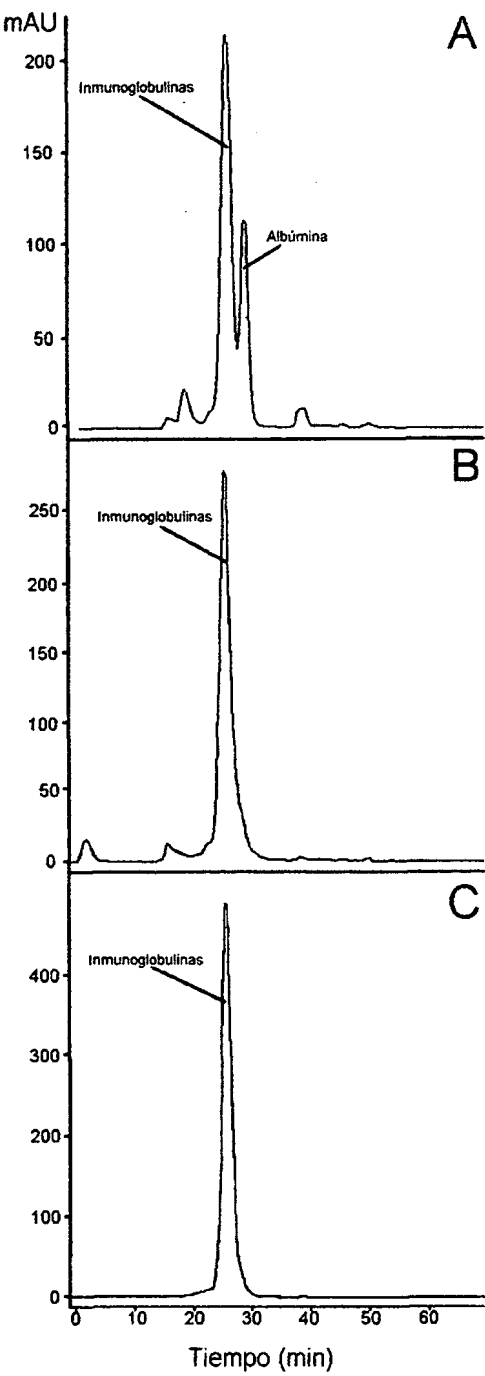


Figura 2

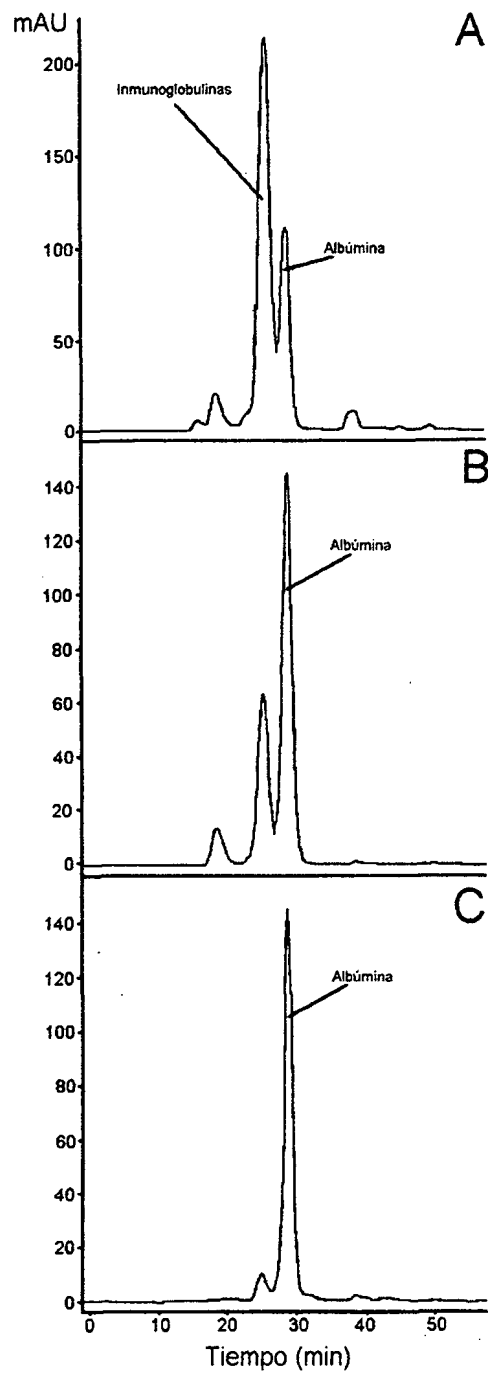


Figura 3

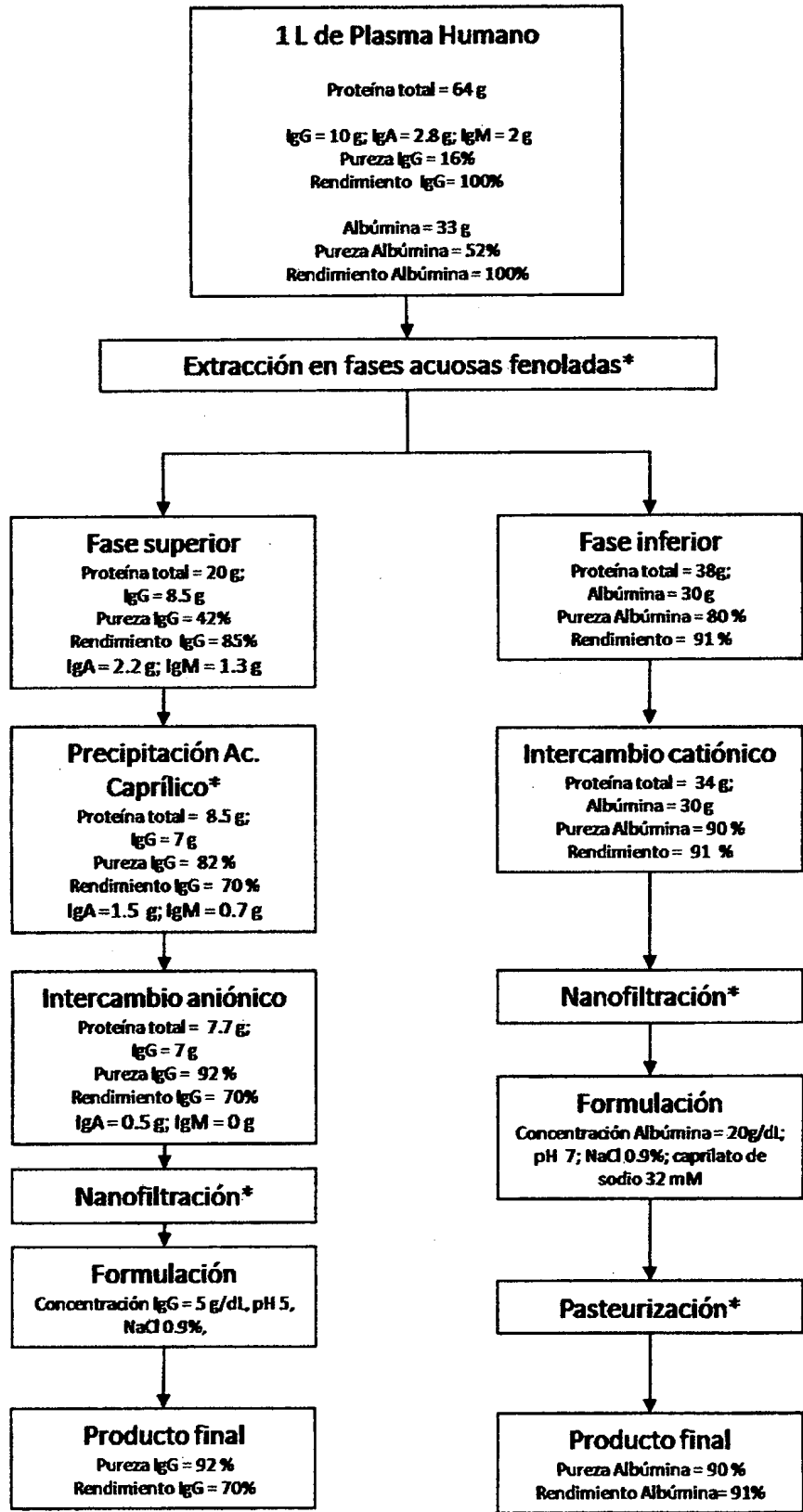


Figura 4

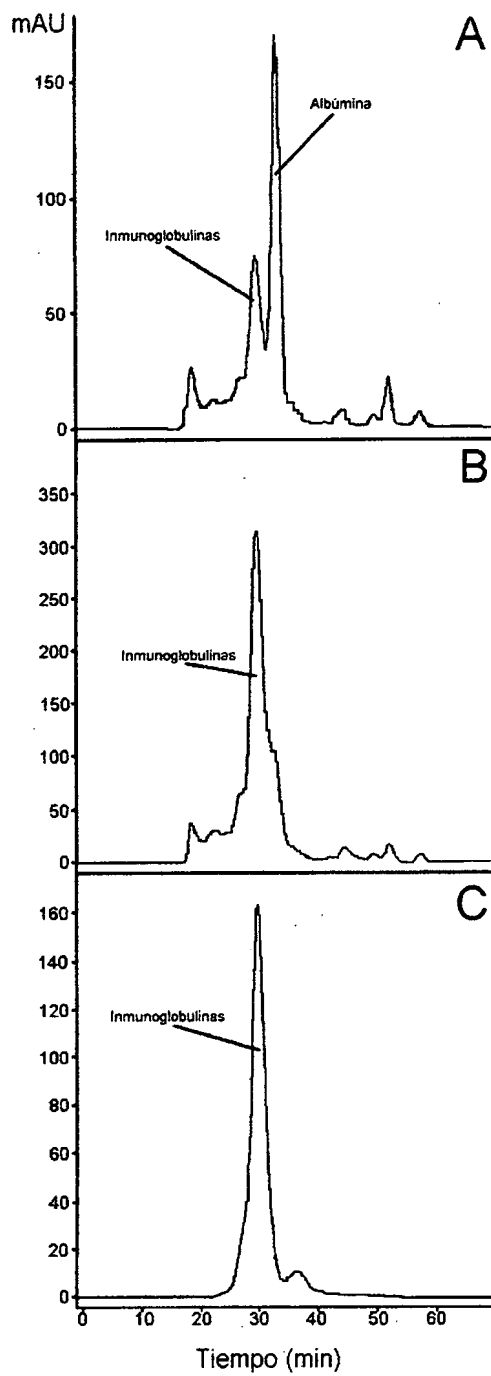


Figura 5

27 PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

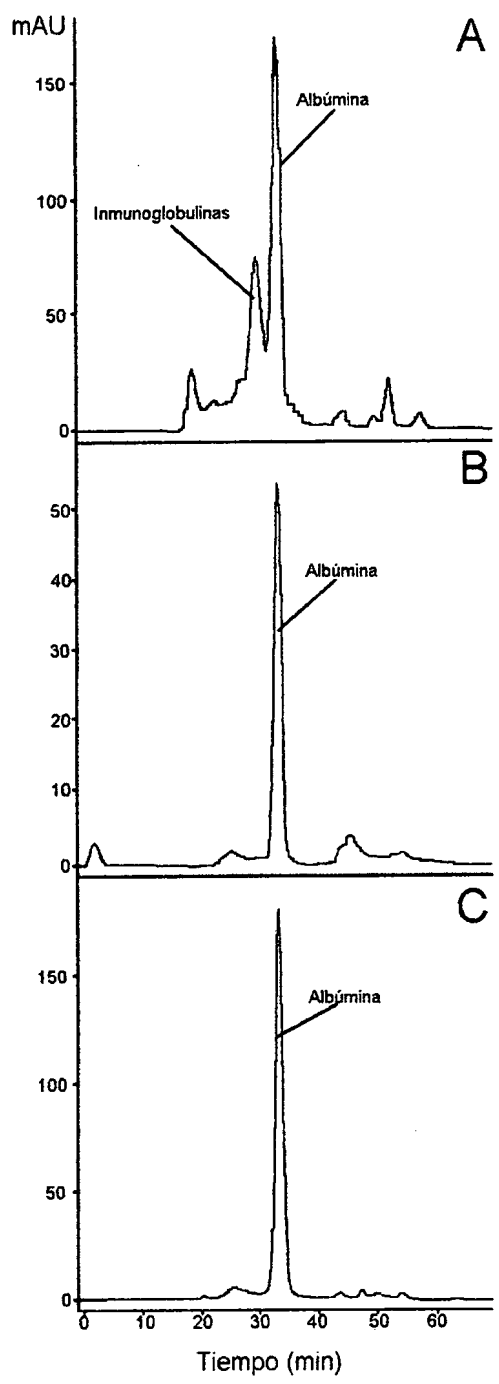


Figura 6

RESUMEN

Un método para producir formulaciones farmacéuticas de calidad inyectable de productos proteicos hemoderivados, que comprende los pasos de fraccionamiento del material de partida en un sistema de dos fases acuosas polímero-sal en presencia de fenol, purificación de la fase superior del sistema, mediante precipitación con ácido caprílico y la purificación de la fase inferior mediante termocoagulación, incremento de la pureza de los productos en ambas fases mediante cromatografía, remoción de partículas virales por nanofiltración de ambas preparaciones, y la formulación, estabilización y envase de los productos así obtenidos.

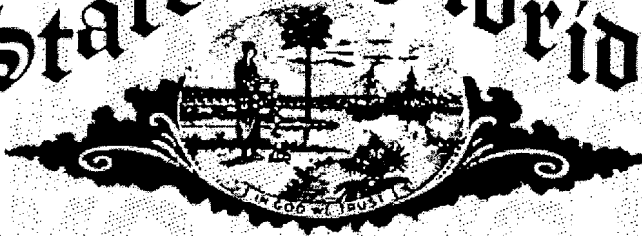
15

20

25

30

State of Florida



Department of State

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document

2. has been signed by Michel Nicolas

3. acting in the capacity of Notary Public of Florida

4. bears the seal/stamp of Notary Public, State of Florida

Certified

5. at Tallahassee, Florida

6. the Twenty-Ninth day of October, A.D., 2013

7. by Secretary of State, State of Florida

8. No. 2013-138841

9. Seal/Stamp:



10. Signature:

Ken Deitzner

Secretary of State

DSDE 99 (2/12)

This document contains a true watermark. Hold up to light to see "SAFE" and "VERIFY FIRST."

The word "VOID" appears when photocopied.

"State of Florida" appears in small letters across the face of this 8 1/2 x 11" document.

(CON CERTIFICACION CONSULAR)

PODER GENERAL

Nosotros, la Universidad de Costa Rica, representada en este acto por Carlos Adrian Zapatero en su carácter de apoderado de acuerdo a la copia del poder adjunto, domiciliados en Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca. San José, 11501 - Costa Rica

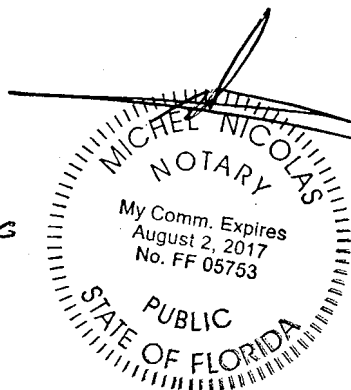
Nombramos a RUBIELA ARIAS DE FAJARDO Y/O ALEJANDRA FAJARDO ARIAS, con domicilio en Bogotá D.C., Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las Oficinas y autoridades colombianas, administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de privilegio de invención de modelos de utilidad y diseños industriales, registro de marcas, depósitos de nombre comerciales y enseñas, así como sus traspasos, modificaciones, limitaciones, prórrogas, renovaciones y cambio de nombre: elaborar, tramitar, otorgar y registrar contratos de licencia y licencias de cualquier clase; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso y ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposición al registro de marcas; acciones de cancelación, acciones de caducidad y nulidad; acción de nulidad y restablecimiento del derecho; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios; reclamos a observaciones a solicitudes de patentes de invención, de modelos de utilidad y diseños industriales, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, la(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, acción de nulidad y restablecimiento del derecho, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores; dando el descargo respectivo, y en general para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros) intereses, con todas las demás facultades legales necesarias, y por el presente documento desde ahora declaro(amos) válido y bueno todo cuanto los apoderados hicieren en mi(nuestro) beneficio. Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Así mismo nombro (amos) a RUBIELA ARIAS DE FAJARDO y/o ALEJANDRA FAJARDO ARIAS domiciliado(s) en Santa Fe de Bogotá D.C., Colombia, mis (nuestros) representantes, con facultades de recibir notificaciones y para designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en 28 hoy Octubre de 2013.



State of Florida County of Dade
 The foregoing instrument was acknowledged
 before me this 28 day of October, 2013
 by Carlos Adrian Zapatero
 Personally Known or Produced Identification
 Type of Identification Produced FI.R.



Recepto:
Rubiel de Fajardo
TP. 25704

POWER OF ATTORNEY

Be it known that SILVIA SALAZAR FALLAS acting as legal representative on behalf of UNIVERSIDAD DE COSTA RICA., a University incorporated in Costa Rica, with addressed at Ciudad Universitaria Rodrigo Facio San Pedro de Montes de Oca - San José, 11501 - Costa Rica, hereby grants **SPECIAL POWER** to INVENTIA LLC domiciled in 1001 Brickell Bay Dr., 27th Floor, Miami, FL 33131, USA, to act on its behalf either jointly or separately before the corresponding authorities of United States, Australia, Brazil, Canada, Chile, China, Colombia, Europe, India and Mexico, to act as our patent agents/patent attorneys in respect of new Patent application entitled: "METHOD FOR PRODUCING INJECTABLE FORMULATIONS OF BLOOD-DERIVED PROTEIN MATERIALS, AND MATERIALS OBTAINED USING SAID METHOD". In doing so, they may take those steps that are required before the competent authorities for the mentioned purpose, sign or withdraw petitions and oppositions or documents, to reply to Office Actions, limit and exclude, notify themselves, request extensions, grant affidavits, lodge appeals, to undertake arbitrations, settle, request declarations, receive documents, pay taxes. They are further empowered to take all the measures as they may deem fit for the protection of all our Industrial and Intellectual Property rights and interests; institute, prosecute or defend opposition, cancellation, lapsing or cease - and - desist actions in any jurisdiction, request attachments; appeal; accept transfers; register change of name, license agreement, transfer agreement, and merger; file amendments; settlements, waivers and consents, request reclassification and/or consolidation; withdraw and collect, given them such further powers as may be required for the objects stated, including authority to grant or substitute these presents and revoke such substitutions, and we hereby declare as good and valid all that our said attorneys may have done for any of the purposes stated.

Done and signed at San José, Costa Rica, October 8, 2013

Signature

Silvia Salazar

Printed name _____ Silvia Salazar _____

On behalf of: Universidad de Costa Rica acting as Special Administrative Representative



PODER ESPECIAL ADMINISTRATIVO

R-3132-2011

La señora Libia HERRERO URIBE —Vicerrectora de Docencia, Doctora en Virología Médica, con cédula de identidad número uno – trescientos setenta y nueve – novecientos ochenta y siete, vecina de Escazú—, quien, a partir del primero y hasta el tres, días ambos inclusive, del presente mes de junio de dos mil once, actúa como Rectora Interina de la UNIVERSIDAD DE COSTA RICA, con cédula de persona jurídica número cuatro – cero cero cero – cero cuarenta y dos mil ciento cuarenta y nueve, con oficinas en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, en San Pedro de Montes de Oca, así designada conforme al artículo cuarenta y uno del Estatuto Orgánico por la Rectora de esta Institución, señora Yamileth GONZÁLEZ GARCÍA —mayor de edad, Doctora en Historia, con cédula de identidad número dos – doscientos cuarenta y seis – quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar, Goicoechea, elegida para ese cargo por la Asamblea Plebiscitaria de la Universidad de Costa Rica el cuatro de abril de dos mil ocho, para el período comprendido entre el diecinueve de mayo de dos mil ocho y el dieciocho de mayo de dos mil doce, como consta en el oficio R - dos mil novecientos sesenta y ocho - dos mil once, fechado el veintiséis de mayo de dos mil once, y en la comunicación hecha por el Tribunal Universitario al Consejo Universitario, publicada en La Gaceta Universitaria número nueve – dos mil ocho del nueve de mayo de dos mil ocho, respectivamente, como consecuencia de lo cual la señora HERRERO URIBE ostenta en este acto la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica, de conformidad con el artículo cuarenta, inciso a) del citado Estatuto Orgánico, otorga PODER ESPECIAL ADMINISTRATIVO a la señora Silvia SALAZAR FALLAS —mayor de edad, casada una vez, Abogada, con cédula de identidad número uno – seiscientos veintidós – novecientos treinta, vecina de Santo Tomás de Santo Domingo de Heredia— para representar a la UNIVERSIDAD DE COSTA RICA en el inicio y la tramitación, ante el Registro de Propiedad Industrial del Registro Nacional de Costa Rica o ante las oficinas y autoridades nacionales que corresponda en Costa Rica, de la obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, dibujos y modelos industriales, incluyendo las marcas de comercio y de servicio, indicaciones geográficas y denominaciones de origen a nombre de la Institución representada, a cuyo efecto se le faculta ante dichas oficinas o autoridades para dar todos los pasos que sean necesarios con el objeto indicado y así realizar las diligencias que fueren necesarias, tales como firmar y elevar solicitudes, declaraciones y reclamos, formular



descripciones, enmiendas, recursos de revocatoria y apelaciones, hacer declaraciones juradas, abonar todos los impuestos y cuotas, recibir documentos y valores dando el descargo correspondiente, llenar cualesquiera otros requisitos y adoptar todas las medidas que creyere apropiadas para el resguardo de los intereses de la Institución; asimismo, podrá proteger y defender dichas solicitudes inclusive después de que se haya otorgado la protección, para lo cual también se le faculta, entre otras acciones, para interponer y tramitar solicitudes de medidas cautelares, toda acción de nulidad y oposición ante el Registro correspondiente o autoridad judicial, para tutelar en forma eficiente los intereses de su representada, dándole también facultades para sustituir el presente poder, así como otorgar nuevos poderes o autorizaciones y revocar sustituciones u otorgamientos, sin perder las atribuciones originales. Firma en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca, el día primero de junio de dos mil once.

Dra. Libia HERRERO URIBE



Yo, Luis Baudrit Carrillo, Notario Público con oficina en la ciudad de San José, doy fe notarial de que la firma que antecede fue puesta en mi presencia por la señora Libia HERRERO URIBE, con cédula de identidad número uno – trescientos setenta y nueve – novecientos ochenta y siete, Rectora interina de la Universidad de Costa Rica, por lo que también notarialmente doy fe de su autenticidad. Estampo mi sello blanco y suscribo la presente razón con la firma de mi puño y letra, que corresponden al sello y a la firma inscritos en el Registro Nacional de Notariado, puestos al momento de realizarse el presente acto, en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca, el día primero de junio de dos mil once.

Dr. Luis BAUDRIT CARRILLO, Notario

"Benemérita de la Educación y la Cultura, fundada desde 1940"

POWER OF ATTORNEY

(for an international application filed under the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 90.4)

The undersigned applicant(s) (Names should be indicated as they appear in the Request Form (PCT/RO/101)):

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
San Pedro de Montes de Oca
San José, 11501
CR

hereby appoints (appoint) the following person as:

☒ agent

☐ common representative

Name and address

(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

SALAZAR FALLAS, Silvia
Santo Tomás de
Santo Domingo
Heredia, 40305
CR

to represent the undersigned before

☒ all the competent International Authorities

☐ the International Searching Authority only

☐ the Authority specified for supplementary search only: _____
(please indicate the Authority(ies) specified for supplementary search)

☐ the International Preliminary Examining Authority only

in connection with the international application identified below:

Title of the invention: MÉTODO PARA LA PRODUCCIÓN DE FORMULACIONES INYECTABLES DE PRODUCTOS PROTEICOS HEMODERIVADOS Y PRODUCTOS OBTENIDOS UTILIZANDO DICHO MÉTODO

Applicant's or agent's file reference:

International application number (if already available):

filed with the following Office Registro de la Propiedad Industrial de Costa Rica as receiving Office
and to make or receive payments on behalf of the undersigned.

Signature of the applicant(s) (where there are several applicants, each of them must sign; next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs, if such capacity is not obvious from reading the request or this power);

GÓNZALEZ GARCÍA, Yamileth G.
President and legal representative



Date: March 15, 2011

CESIÓN PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

La UNIVERSIDAD DE COSTA RICA institución de educación superior pública con cédula jurídica 4-0000-42149-36, representada en este acto por la señora YAMILETH GONZALEZ GARCIA, mayor de edad, divorciada, doctora en historia, con cédula de identidad número dos-dos cuarenta y seis -quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar de Guadalupe, en su condición de Rectora, según nombramiento de Asamblea Plebiscitaria celebrada el 4 de abril del 2008, juramentada por el Consejo Universitario en sesión ordinaria número 5255, celebrada el 15 de mayo del 2008, quien ejerce la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el artículo cuarenta inciso a) del Estatuto Orgánico; y Guillermo León Montero, mayor de edad, casado, microbiólogo, vecino de Desamparados, Alajuela, portador de la cédula de identidad número uno - setecientos cincuenta y cuatro - novecientos.

CONSIDERANDO:

1. Que es investigador de la Universidad de Costa Rica.
2. Que en su calidad de investigador ha participado en el proyecto de investigación Producción de hemoderivados de sangre humana.
3. Que como resultado de ese proyecto se desarrolló una invención denominada "Proceso para la producción de formulaciones de proteínas terapéuticas libres de partículas virales".
4. Que junto con Mariángela Vargas Arroyo, Álvaro Segura Ruiz, María Herrera Vega, Mauren Villalta Arrieta y Yamileth Angulo es co-inventor de dicha invención.
5. Que de acuerdo con las políticas internas de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el inciso segundo del artículo cuarto de la Ley de Patentes de Invención, esa invención pertenece a ambas partes.
6. Que la Universidad cuenta con el recurso humano y económico para proteger la mencionada invención por medio de una patente así como los recursos para lograr su comercialización o licenciamiento.
7. Que para una mayor facilidad de los trámites necesarios para el proceso de solicitud de patente es necesario que se haga a nombre de la Universidad de Costa Rica, en cuyo marco y con cuyos recursos o los recursos externos gestionados por ella, se realizó la investigación que la ampara.
8. Que se considera que lo más conveniente es que esa patente salga a nombre de la Universidad de Costa Rica como titular a fin de resguardar el fin público que la misma debe cumplir.
9. Que el (los) inventor (es) siempre van a ser considerados como tales no pudiéndose despojarles de dicha condición.
10. Que el (los) inventor (es) forma (n) parte integrante y activa de esa comunidad denominada Universidad de Costa Rica.
11. Que el (los) inventor (es) van a ser debidamente resarcidos económicamente en caso de comercialización o licenciamiento de la patente.

PCT/CR 2011/00001

CONVENIMOS:

PRIMERO: Por medio de este documento el inventor cede, toda propiedad y dominio sobre la referida invención, a la Universidad de Costa Rica, pudiendo por consiguiente de hoy en adelante, ese centro de enseñanza considerarse como titular de la misma, explotar la invención como cosa propia o bien disponer de la misma como corresponda.

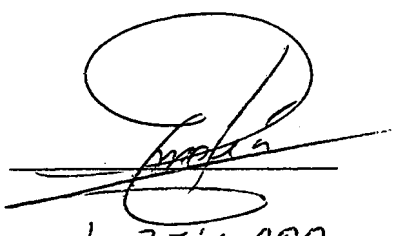
SEGUNDO: Las condiciones de la cesión son las siguientes:

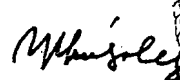
- a. El inventor conservará su carácter de inventor no pudiéndose despojarle de dicha condición.
- b. La Universidad de Costa Rica realizará todos los trámites de solicitud de la patente y una vez concedida realizará la promoción y el mercadeo necesario para su explotación.
- c. El inventor colaborará en todo el proceso de redacción de la solicitud con el aporte de información y con la revisión de la misma que se le solicite. Así mismo colaborará en el proceso de comercialización y posible licenciamiento.
- d. En caso de que la Universidad logre la comercialización o licenciamiento de la patente y reciba una retribución económica por la explotación de la misma, por sí misma o por un tercero autorizado, convendrá en resarcir al inventor por concepto de esta cesión, de acuerdo con los lineamientos y normas aplicables en el momento, de manera económica por medio de un porcentaje de los ingresos obtenidos, una vez deducidos los costos del patentamiento y licenciamiento.
- e. En caso de que no se conceda la patente y aún así la Universidad pueda explotar la invención y obtener un beneficio económico, se aplicarán las mismas condiciones del inciso d del punto segundo de este acuerdo.

TERCERO: Presente en este acto la representante legal de esta Universidad acepta la cesión y sus condiciones.

CUARTO: Para efectos fiscales se valora esta cesión en un colón exacto.

San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica, 25 de octubre del 2010.


1-754-900
Inventor (a)



RECTORIA
Yamileth González G.
Rectora

PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

CESIÓN

La UNIVERSIDAD DE COSTA RICA institución de educación superior pública con cédula jurídica 4-0000-42149-36, representada en este acto por la señora YAMILETH GONZALEZ GARCIA, mayor de edad, divorciada, doctora en historia, con cédula de identidad número dos-dos cuarenta y seis -quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar de Guadalupe, en su condición de Rectora, según nombramiento de Asamblea Plebiscitaria celebrada el 4 de abril del 2008, juramentada por el Consejo Universitario en sesión ordinaria número 5255, celebrada el 15 de mayo del 2008, quien ejerce la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el artículo cuarenta inciso a) del Estatuto Orgánico; y Yamileth Angulo Ugalde, mayor de edad, casada, microbióloga, vecina de Desamparados, San José, portadora de la cédula de identidad número uno-quinientos ochenta y siete – ochenta y tres,

CONSIDERANDO:

1. Que es profesora e investigadora de la Universidad de Costa Rica.
2. Que en su calidad de investigadora ha participado en el proyecto de investigación Producción de hemoderivados de sangre humana.
3. Que como resultado de ese proyecto se desarrolló una invención denominada "Proceso para la producción de formulaciones de proteínas terapéuticas libres de partículas virales".
4. Que junto con Mariángela Vargas Arroyo, Álvaro Segura Ruiz, María Herrera Vega, Mauren Villalta Arrieta y Guillermo León Montero es co-inventora de dicha invención.
5. Que de acuerdo con las políticas internas de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el inciso segundo del artículo cuarto de la Ley de Patentes de Invención, esa invención pertenece a ambas partes.
6. Que la Universidad cuenta con el recurso humano y económico para proteger la mencionada invención por medio de una patente así como los recursos para lograr su comercialización o licenciamiento.
7. Que para una mayor facilidad de los trámites necesarios para el proceso de solicitud de patente es necesario que se haga a nombre de la Universidad de Costa Rica, en cuyo marco y con cuyos recursos o los recursos externos gestionados por ella, se realizó la investigación que la ampara.
8. Que se considera que lo más conveniente es que esa patente salga a nombre de la Universidad de Costa Rica como titular a fin de resguardar el fin público que la misma debe cumplir.
9. Que el (los) inventor (es) siempre van a ser considerados como tales no pudiéndose despojarles de dicha condición.
10. Que el (los) inventor (es) forma (n) parte integrante y activa de esa comunidad denominada Universidad de Costa Rica.
11. Que el (los) inventor (es) van a ser debidamente resarcidos económicamente en caso de comercialización o licenciamiento de la patente.

PCT/CR 2011/00001

CONVENIMOS:

PRIMERO: Por medio de este documento el inventor cede, toda propiedad y dominio sobre la referida invención, a la Universidad de Costa Rica, pudiendo por consiguiente de hoy en adelante, ese centro de enseñanza considerarse como titular de la misma, explotar la invención como cosa propia o bien disponer de la misma como corresponda.

SEGUNDO: Las condiciones de la cesión son las siguientes:

- a. El inventor conservará su carácter de inventor no pudiéndose despojarle de dicha condición.
- b. La Universidad de Costa Rica realizará todos los trámites de solicitud de la patente y una vez concedida realizará la promoción y el mercadeo necesario para su explotación.
- c. El inventor colaborará en todo el proceso de redacción de la solicitud con el aporte de información y con la revisión de la misma que se le solicite. Así mismo colaborará en el proceso de comercialización y posible licenciamiento.
- d. En caso de que la Universidad logre la comercialización o licenciamiento de la patente y reciba una retribución económica por la explotación de la misma, por sí misma o por un tercero autorizado, convendrá en resarcir al inventor por concepto de esta cesión, de acuerdo con los lineamientos y normas aplicables en el momento, de manera económica por medio de un porcentaje de los ingresos obtenidos, una vez deducidos los costos del patentamiento y licenciamiento.
- e. En caso de que no se conceda la patente y aún así la Universidad pueda explotar la invención y obtener un beneficio económico, se aplicarán las mismas condiciones del inciso d del punto segundo de este acuerdo.

TERCERO: Presente en este acto la representante legal de esta Universidad acepta la cesión y sus condiciones.

CUARTO: Para efectos fiscales se valora esta cesión en un colón exacto.

San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica, 25 de octubre del 2010.

Yamileth González G.
1-0584-083

Inventor (a)



RECTORIA

Yamileth González G.
Rectora

PCT/CR 2011/00001

CESIÓN

La UNIVERSIDAD DE COSTA RICA institución de educación superior pública con cédula jurídica 4-0000-42149-36, representada en este acto por la señora YAMILETH GONZALEZ GARCIA, mayor de edad, divorciada, doctora en historia, con cédula de identidad número dos-dos cuarenta y seis -quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar de Guadalupe, en su condición de Rectora, según nombramiento de Asamblea Plebiscitaria celebrada el 4 de abril del 2008, juramentada por el Consejo Universitario en sesión ordinaria número 5255, celebrada el 15 de mayo del 2008, quien ejerce la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el artículo cuarenta inciso a) del Estatuto Orgánico; y Mauren Villalta Arrieta, mayor de edad, soltera, biotecnóloga, vecina de Sabanilla de Montes de Oca, San José, portadora de la cédula de identidad número dos-quinientos ochenta y tres - setecientos ochenta y ocho,

CONSIDERANDO:

1. Que es investigadora de la Universidad de Costa Rica.
2. Que en su calidad de investigadora ha participado en el proyecto de investigación Producción de hemoderivados de sangre humana.
3. Que como resultado de ese proyecto se desarrolló una invención denominada "Proceso para la producción de formulaciones de proteínas terapéuticas libres de partículas virales".
4. Que junto con Mariángela Vargas Arroyo, Álvaro Segura Ruiz, María Herrera Vega, Guillermo León Montero y Yamileth Angulo es co-inventora de dicha invención.
5. Que de acuerdo con las políticas internas de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el inciso segundo del artículo cuarto de la Ley de Patentes de Invención, esa invención pertenece a ambas partes.
6. Que la Universidad cuenta con el recurso humano y económico para proteger la mencionada invención por medio de una patente así como los recursos para lograr su comercialización o licenciamiento.
7. Que para una mayor facilidad de los trámites necesarios para el proceso de solicitud de patente es necesario que se haga a nombre de la Universidad de Costa Rica, en cuyo marco y con cuyos recursos o los recursos externos gestionados por ella, se realizó la investigación que la ampara.
8. Que se considera que lo más conveniente es que esa patente salga a nombre de la Universidad de Costa Rica como titular a fin de resguardar el fin público que la misma debe cumplir.
9. Que el (los) inventor (es) siempre van a ser considerados como tales no pudiéndose despojarles de dicha condición.
10. Que el (los) inventor (es) forma (n) parte integrante y activa de esa comunidad denominada Universidad de Costa Rica.
11. Que el (los) inventor (es) van a ser debidamente resarcidos económicamente en caso de comercialización o licenciamiento de la patente.

PCT/CR2011/00001

CONVENIMOS:

PRIMERO: Por medio de este documento el inventor cede, toda propiedad y dominio sobre la referida invención, a la Universidad de Costa Rica, pudiendo por consiguiente de hoy en adelante, ese centro de enseñanza considerarse como titular de la misma, explotar la invención como cosa propia o bien disponer de la misma como corresponda.

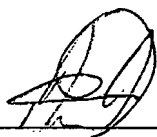
SEGUNDO: Las condiciones de la cesión son las siguientes:

- a. El inventor conservará su carácter de inventor no pudiéndose despojarle de dicha condición.
- b. La Universidad de Costa Rica realizará todos los trámites de solicitud de la patente y una vez concedida realizará la promoción y el mercadeo necesario para su explotación.
- c. El inventor colaborará en todo el proceso de redacción de la solicitud con el aporte de información y con la revisión de la misma que se le solicite. Así mismo colaborará en el proceso de comercialización y posible licenciamiento.
- d. En caso de que la Universidad logre la comercialización o licenciamiento de la patente y reciba una retribución económica por la explotación de la misma, por sí misma o por un tercero autorizado, convendrá en resarcir al inventor por concepto de esta cesión, de acuerdo con los lineamientos y normas aplicables en el momento, de manera económica por medio de un porcentaje de los ingresos obtenidos, una vez deducidos los costos del patentamiento y licenciamiento.
- e. En caso de que no se conceda la patente y aún así la Universidad pueda explotar la invención y obtener un beneficio económico, se aplicarán las mismas condiciones del inciso d del punto segundo de este acuerdo.

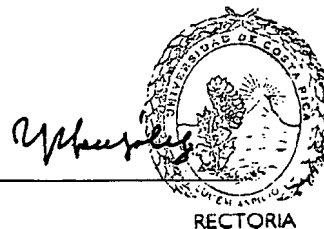
TERCERO: Presente en este acto la representante legal de esta Universidad acepta la cesión y sus condiciones.

CUARTO: Para efectos fiscales se valora esta cesión en un colón exacto.

San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica, 25 de octubre del 2010.



Z 05830788
Inventor (a).



RECTORIA

Yamileth González G.
Rectora

PCT/CR 2 0 1 1 / 0 0 0 0 1

CESIÓN

La UNIVERSIDAD DE COSTA RICA institución de educación superior pública con cédula jurídica 4-0000-42149-36, representada en este acto por la señora YAMILETH GONZALEZ GARCIA, mayor de edad, divorciada, doctora en historia, con cédula de identidad número dos-dos cuarenta y seis -quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar de Guadalupe, en su condición de Rectora, según nombramiento de Asamblea Plebiscitaria celebrada el 4 de abril del 2008, juramentada por el Consejo Universitario en sesión ordinaria número 5255, celebrada el 15 de mayo del 2008, quien ejerce la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el artículo cuarenta inciso a) del Estatuto Orgánico; y Mariángela Vargas Arroyo, mayor de edad, soltera, biotecnóloga, vecina de Coronado, San José, portadora de la cédula de identidad número uno – mil ciento noventa y uno – setecientos cincuenta y cuatro.

CONSIDERANDO:

1. Que es profesora e investigadora de la Universidad de Costa Rica.
2. Que en su calidad de investigadora ha participado en el proyecto de investigación Producción de hemoderivados de sangre humana.
3. Que como resultado de ese proyecto se desarrolló una invención denominada "Proceso para la producción de formulaciones de proteínas terapéuticas libres de partículas virales".
4. Que junto con Álvaro Segura Ruiz, María Herrera Vega, Mauren Villalta Arrieta, Guillermo León Montero y Yamileth Angulo es co-inventora de dicha invención.
5. Que de acuerdo con las políticas internas de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el inciso segundo del artículo cuarto de la Ley de Patentes de Invención, esa invención pertenece a ambas partes.
6. Que la Universidad cuenta con el recurso humano y económico para proteger la mencionada invención por medio de una patente así como los recursos para lograr su comercialización o licenciamiento.
7. Que para una mayor facilidad de los trámites necesarios para el proceso de solicitud de patente es necesario que se haga a nombre de la Universidad de Costa Rica, en cuyo marco y con cuyos recursos o los recursos externos gestionados por ella, se realizó la investigación que la ampara.
8. Que se considera que lo más conveniente es que esa patente salga a nombre de la Universidad de Costa Rica como titular a fin de resguardar el fin público que la misma debe cumplir.
9. Que el (los) inventor (es) siempre van a ser considerados como tales no pudiéndose despojarles de dicha condición.
10. Que el (los) inventor (es) forma (n) parte integrante y activa de esa comunidad denominada Universidad de Costa Rica.
11. Que el (los) inventor (es) van a ser debidamente resarcidos económicamente en caso de comercialización o licenciamiento de la patente.

PCT/CR2011/00001

CONVENIMOS:

PRIMERO: Por medio de este documento el inventor cede, toda propiedad y dominio sobre la referida invención, a la Universidad de Costa Rica, pudiendo por consiguiente de hoy en adelante, ese centro de enseñanza considerarse como titular de la misma, explotar la invención como cosa propia o bien disponer de la misma como corresponda.

SEGUNDO: Las condiciones de la cesión son las siguientes:

- a. El inventor conservará su carácter de inventor no pudiéndose despojarle de dicha condición.
- b. La Universidad de Costa Rica realizará todos los trámites de solicitud de la patente y una vez concedida realizará la promoción y el mercadeo necesario para su explotación.
- c. El inventor colaborará en todo el proceso de redacción de la solicitud con el aporte de información y con la revisión de la misma que se le solicite. Así mismo colaborará en el proceso de comercialización y posible licenciamiento.
- d. En caso de que la Universidad logre la comercialización o licenciamiento de la patente y reciba una retribución económica por la explotación de la misma, por sí misma o por un tercero autorizado, convendrá en resarcir al inventor por concepto de esta cesión, de acuerdo con los lineamientos y normas aplicables en el momento, de manera económica por medio de un porcentaje de los ingresos obtenidos, una vez deducidos los costos del patentamiento y licenciamiento.
- e. En caso de que no se conceda la patente y aún así la Universidad pueda explotar la invención y obtener un beneficio económico, se aplicarán las mismas condiciones del inciso d del punto segundo de este acuerdo.

TERCERO: Presente en este acto la representante legal de esta Universidad acepta la cesión y sus condiciones.

CUARTO: Para efectos fiscales se valora esta cesión en un colón exacto.

San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica, 25 de octubre del 2010.

Mariángela Vargas

1-1191-0754

Inventor (a)



RECTORIA

Yamileth González G.
Rectora

PCT/CR2011/00001

CESIÓN

La UNIVERSIDAD DE COSTA RICA institución de educación superior pública con cédula jurídica 4-0000-42149-36, representada en este acto por la señora YAMILETH GONZALEZ GARCIA, mayor de edad, divorciada, doctora en historia, con cédula de identidad número dos-dos cuarenta y seis -quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar de Guadalupe, en su condición de Rectora, según nombramiento de Asamblea Plebiscitaria celebrada el 4 de abril del 2008, juramentada por el Consejo Universitario en sesión ordinaria número 5255, celebrada el 15 de mayo del 2008, quien ejerce la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el artículo cuarenta inciso a) del Estatuto Orgánico; y Álvaro Segura Ruiz, mayor de edad, casado, biólogo, vecino de Piedades de Santa Ana, San José, portador de la cédula de identidad número uno-ochocientos ochenta y tres - cuatrocientos ochenta,

CONSIDERANDO:

1. Que es investigador de la Universidad de Costa Rica.
2. Que en su calidad de investigador ha participado en el proyecto de investigación Producción de hemoderivados de sangre humana.
3. Que como resultado de ese proyecto se desarrolló una invención denominada "Proceso para la producción de formulaciones de proteínas terapéuticas libres de partículas virales".
4. Que junto con Mariángela Vargas Arroyo, María Herrera Vega, Mauren Villalta Arrieta, Guillermo León Montero y Yamileth Angulo es co-inventor de dicha invención.
5. Que de acuerdo con las políticas internas de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el inciso segundo del artículo cuarto de la Ley de Patentes de Invención, esa invención pertenece a ambas partes.
6. Que la Universidad cuenta con el recurso humano y económico para proteger la mencionada invención por medio de una patente así como los recursos para lograr su comercialización o licenciamiento.
7. Que para una mayor facilidad de los trámites necesarios para el proceso de solicitud de patente es necesario que se haga a nombre de la Universidad de Costa Rica, en cuyo marco y con cuyos recursos o los recursos externos gestionados por ella, se realizó la investigación que la ampara.
8. Que se considera que lo más conveniente es que esa patente salga a nombre de la Universidad de Costa Rica como titular a fin de resguardar el fin público que la misma debe cumplir.
9. Que el (los) inventor (es) siempre van a ser considerados como tales no pudiéndose despojarles de dicha condición.
10. Que el (los) inventor (es) forma (n) parte integrante y activa de esa comunidad denominada Universidad de Costa Rica.
11. Que el (los) inventor (es) van a ser debidamente resarcidos económicamente en caso de comercialización o licenciamiento de la patente.

PCT/CR 2011/00001

CONVENIMOS:

PRIMERO: Por medio de este documento el inventor cede, toda propiedad y dominio sobre la referida invención, a la Universidad de Costa Rica, pudiendo por consiguiente de hoy en adelante, ese centro de enseñanza considerarse como titular de la misma, explotar la invención como cosa propia o bien disponer de la misma como corresponda.

SEGUNDO: Las condiciones de la cesión son las siguientes:

- a. El inventor conservará su carácter de inventor no pudiéndose despojarle de dicha condición.
- b. La Universidad de Costa Rica realizará todos los trámites de solicitud de la patente y una vez concedida realizará la promoción y el mercadeo necesario para su explotación.
- c. El inventor colaborará en todo el proceso de redacción de la solicitud con el aporte de información y con la revisión de la misma que se le solicite. Así mismo colaborará en el proceso de comercialización y posible licenciamiento.
- d. En caso de que la Universidad logre la comercialización o licenciamiento de la patente y reciba una retribución económica por la explotación de la misma, por sí misma o por un tercero autorizado, convendrá en resarcir al inventor por concepto de esta cesión, de acuerdo con los lineamientos y normas aplicables en el momento, de manera económica por medio de un porcentaje de los ingresos obtenidos, una vez deducidos los costos del patentamiento y licenciamiento.
- e. En caso de que no se conceda la patente y aún así la Universidad pueda explotar la invención y obtener un beneficio económico, se aplicarán las mismas condiciones del inciso d del punto segundo de este acuerdo.

TERCERO: Presente en este acto la representante legal de esta Universidad acepta la cesión y sus condiciones.

CUARTO: Para efectos fiscales se valora esta cesión en un colón exacto.

San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica, 25 de octubre del 2010.

Alvaro Segura Ruiz

1-893-480
Inventor (a)



RECTORIA

Yamileth González G.
Rectora

PCT/CR2011/00001

CESIÓN

La UNIVERSIDAD DE COSTA RICA institución de educación superior pública con cédula jurídica 4-0000-42149-36, representada en este acto por la señora YAMILETH GONZALEZ GARCIA, mayor de edad, divorciada, doctora en historia, con cédula de identidad número dos-dos cuarenta y seis -quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar de Guadalupe, en su condición de Rectora, según nombramiento de Asamblea Plebiscitaria celebrada el 4 de abril del 2008, juramentada por el Consejo Universitario en sesión ordinaria número 5255, celebrada el 15 de mayo del 2008, quien ejerce la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el artículo cuarenta inciso a) del Estatuto Orgánico; y María Herrera Vega, mayor de edad, soltera, química, vecina de Concepción de Tres Ríos, portadora de la cédula de identidad número uno - mil cincuenta y seis - trescientos cincuenta y siete,

CONSIDERANDO:

1. Que es investigadora de la Universidad de Costa Rica.
2. Que en su calidad de investigadora ha participado en el proyecto de investigación Producción de hemoderivados de sangre humana.
3. Que como resultado de ese proyecto se desarrolló una invención denominada "Proceso para la producción de formulaciones de proteínas terapéuticas libres de partículas virales".
4. Que junto con Mariángela Vargas Arroyo, Álvaro Segura Ruiz, Mauren Villalta Arrieta, Guillermo León Montero y Yamileth Angulo Ugalde es co-inventora de dicha invención.
5. Que de acuerdo con las políticas internas de la Universidad de Costa Rica, en concordancia con el inciso segundo del artículo cuarto de la Ley de Patentes de Invención, esa invención pertenece a ambas partes.
6. Que la Universidad cuenta con el recurso humano y económico para proteger la mencionada invención por medio de una patente así como los recursos para lograr su comercialización o licenciamiento.
7. Que para una mayor facilidad de los trámites necesarios para el proceso de solicitud de patente es necesario que se haga a nombre de la Universidad de Costa Rica, en cuyo marco y con cuyos recursos o los recursos externos gestionados por ella, se realizó la investigación que la ampara.
8. Que se considera que lo más conveniente es que esa patente salga a nombre de la Universidad de Costa Rica como titular a fin de resguardar el fin público que la misma debe cumplir.
9. Que el (los) inventor (es) siempre van a ser considerados como tales no pudiéndose despojarles de dicha condición.
10. Que el (los) inventor (es) forma (n) parte integrante y activa de esa comunidad denominada Universidad de Costa Rica.
11. Que el (los) inventor (es) van a ser debidamente resarcidos económicamente en caso de comercialización o licenciamiento de la patente.

PCT/CR2011/00001

CONVENIMOS:

PRIMERO: Por medio de este documento el inventor cede, toda propiedad y dominio sobre la referida invención, a la Universidad de Costa Rica, pudiendo por consiguiente de hoy en adelante, ese centro de enseñanza considerarse como titular de la misma, explotar la invención como cosa propia o bien disponer de la misma como corresponda.

SEGUNDO: Las condiciones de la cesión son las siguientes:

- a. El inventor conservará su carácter de inventor no pudiéndose despojarle de dicha condición.
- b. La Universidad de Costa Rica realizará todos los trámites de solicitud de la patente y una vez concedida realizará la promoción y el mercadeo necesario para su explotación.
- c. El inventor colaborará en todo el proceso de redacción de la solicitud con el aporte de información y con la revisión de la misma que se le solicite. Así mismo colaborará en el proceso de comercialización y posible licenciamiento.
- d. En caso de que la Universidad logre la comercialización o licenciamiento de la patente y reciba una retribución económica por la explotación de la misma, por sí misma o por un tercero autorizado, convendrá en resarcir al inventor por concepto de esta cesión, de acuerdo con los lineamientos y normas aplicables en el momento, de manera económica por medio de un porcentaje de los ingresos obtenidos, una vez deducidos los costos del patentamiento y licenciamiento.
- e. En caso de que no se conceda la patente y aún así la Universidad pueda explotar la invención y obtener un beneficio económico, se aplicarán las mismas condiciones del inciso d del punto segundo de este acuerdo.

TERCERO: Presente en este acto la representante legal de esta Universidad acepta la cesión y sus condiciones.

CUARTO: Para efectos fiscales se valora esta cesión en un colón exacto.

San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica, 25 de octubre del 2010.


 1-1056-357
 Inventor (a)

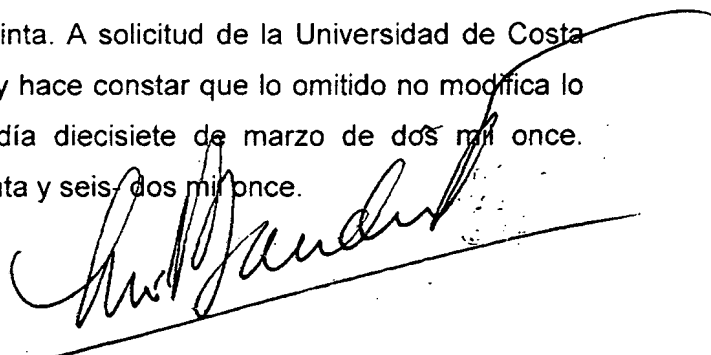


 RECTORIA
 Yamileth González G.
 Rectora

PCT/CR2011/00001

LUIS BAUDRIT CARRILLO
Notario con oficina en San José
CERTIFICA

Que la Asamblea Plebiscitaria de la **UNIVERSIDAD DE COSTA RICA**, celebrada el cuatro de abril de dos mil ocho, eligió como **RECTORA** a **YAMILETH GONZALEZ GARCIA** —Doctora en Historia, con cédula de identidad número dos – doscientos cuarenta y seis – quinientos cincuenta y cinco, vecina de Montelimar, Goicoechea— por el período comprendido entre el diecinueve de mayo de dos mil ocho y el dieciocho de mayo de dos mil doce. Certifica lo anterior con vista de la comunicación hecha por el Tribunal Electoral Universitario al Consejo Universitario, que consta publicada en La Gaceta Universitaria número nueve – dos mil ocho del nueve de mayo de dos mil ocho. De conformidad con lo dispuesto por el artículo cuarenta, inciso a), del Estatuto Orgánico, corresponde a la señora Rectora la representación judicial y extrajudicial de la Universidad de Costa Rica. También certifica que el número de cédula de persona jurídica de la Universidad de Costa Rica es cuatro – cero cero cero – cero cuarenta y dos mil ciento cuarenta y nueve. Esta certificación está exenta del pago de timbres y especies fiscales conforme a la ley número tres mil treinta. A solicitud de la Universidad de Costa Rica expide la presente, en relación, y hace constar que lo omitido no modifica lo certificado. Firma en San José, el día diecisiete de marzo de dos mil once. Certificación número doscientos sesenta y seis – dos mil once.





No. 13-263188- -00000-0000

Fecha: 2013-11-07 15:15:11 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 72

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐ Incompleta ☐	

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒ Incompleta ☐	

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que 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 ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐ Incompleta ☐	