

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° **8683**

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

Señor(a)
UCB BIOPHARMA SPRL
NOTIFPAT@CAVELIER.COM

Asunto: **PATENTE DE INVENCION - PCT**

Patente de Invención	PT	Patente de Modelo de Utilidad			
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	PCT	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/EP2015/080526				
Fecha de Presentación Internacional	18 de diciembre de 2015				

Como resultado del examen de fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción	NC2017/0006157	21 de junio de 2017
Reivindicaciones:	NC2017/0006157	21 de junio de 2017
	NC2017/0006157	7 de septiembre de 2017
Dibujos:	NC2017/0006157	21 de junio de 2017
Prioridad(es):	País: EP, EUROPATENT ORGANIZATION(EPO) Número: 14199722.1 Fecha: 22 de diciembre de 2014	

2. Análisis de la Prioridad

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

Se acepta la reivindicación de prioridad porque esta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido y el contenido técnico de esta solicitud corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Modificaciones presentadas (Art. 34 D 486 y Art. 19, 22 y 34 PCT)

Se aceptan las modificaciones presentadas e identificadas con el Radicado N° NC2017/0006157 del 7 de septiembre de 2017, comoquiera que se ajustan a las prescripciones contenidas en el reglamento del PCT y en el Art 34 de la Decisión 486

4. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por el solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. Por lo tanto, se estudiarán las reivindicaciones 1 a 13 del capítulo reivindicatorio (Radicado N° NC2017/0006157 del 7 de septiembre de 2017).

Título de la solicitud: “MÉTODO DE MANUFACTURA DE PROTEÍNA” (Rad. N° NC2017/0006157 del 21 de junio de 2017).

El problema planteado en esta solicitud consiste en la continua necesidad de proporcionar métodos mejorados para la manufactura de proteínas, particularmente, cuando la proteína manufacturada está siendo acoplada a una segunda molécula.

Para resolver este problema técnico, la solicitud en estudio proporciona un método para manufacturar una proteína, caracterizado porque comprende: a) cultivar las células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína, y b) purificar tal proteína a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde tal purificación comprende al menos una etapa de

Página 2 de 20

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a tal mezcla y la proteína se mantiene en la presencia de tal agente reductor a partir de la primera etapa de cromatografía hasta la última etapa de cromatografía.

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): C07K 1/18, C07K 1/36.

5. De la solicitud de patente

Título

El título de la solicitud de la patente de invención no es claro porque no establece el alcance de la invención, por lo cual se sugiere a la solicitante hacer las correcciones necesarias.

Reivindicaciones (Art. 30 D 486, Art. 22 PCT)

1. La reivindicación 1 no es clara porque no define un método para manufacturar una proteína, en términos de sus características técnicas esenciales, es decir indicando una serie de etapas y condiciones específicas que le permitan a la persona normalmente versada en la materia la implementación del método. En este sentido no se indica en la etapa (b) durante la purificación de la proteína, las siguientes características y condiciones del método: (i) el tipo de cromatografía que se utiliza en una primera etapa, en donde dicha proteína de interés se une al medio cromatográfico y es subsecuentemente eluida en un primer eluato que contiene la proteína; (ii) los amortiguadores específicos utilizados con sus correspondientes condiciones de pH; (iii) el tipo de agente reductor que está presente en el amortiguador de carga, en el amortiguador de lavado y en el amortiguador de elución, y su correspondiente rango de concentración; (iv) el tipo de cromatografía que se utiliza en la segunda etapa para capturar impurezas y producir un flujo continuo que contiene la proteína; y (v) las etapas de ultrafiltración o diafiltración (UF/DF) que son realizadas entre las etapas de cromatografía. Adicionalmente no se indica el tipo de proteína que se desea purificar, la cual tal y como se evidencia en el capítulo descriptivo (Radicado N° NC2017/0006157 del 21 de junio de 2017),

Página 3 de 20

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

corresponde a un fragmento de unión al antígeno (Fab') acoplada a otra molécula tal como el polietilenglicol (PEG). Se le recuerda a la solicitante que la reivindicación independiente debe ser autosuficiente y comprender todas las características técnicas esenciales del método reclamado. Se le sugiere a la solicitante incorporar en la reivindicación independiente las características técnicas esenciales del método, divulgadas en el capítulo descriptivo, con el objetivo de poder distinguir inequívocamente la invención del estado de la técnica.

2. La reivindicación 1 no es clara porque el término “*al menos*” es impreciso, por lo cual no permite distinguir la invención del estado de la técnica. Se sugiere sustituirlo por un término preciso o un rango concreto.
3. La reivindicación 2 no presenta sustento en la descripción que evidencie el desarrollo de un método para manufacturar una proteína que presente una etapa de cromatografía que comprenda un agente reductor seleccionado del grupo que consiste de β - mercaptoetanol, β -mercaptoetilamina, ditiotreitól, Tris(2-carboxietil)fosfina, cisteína, y combinaciones de los mismos. Se le sugiere a la solicitante limitar el objeto reclamado a una razonable generalización de los agentes reductores utilizados en la implementación del método de manufactura de la proteína, el cual tal y como se evidencia en el capítulo descriptivo (Ejemplos 1 a 5 - Radicado N° NC2017/0006157 del 21 de junio de 2017) corresponde específicamente a glutatona.
4. La reivindicación 3 no presenta sustento en la descripción que evidencie el desarrollo de un método para manufacturar una proteína que presente una etapa de cromatografía que comprenda glutatona como agente reductor en un rango de concentración entre 0.1 mM y 100mM. Se le sugiere a la solicitante limitar el objeto reclamado a una razonable generalización del rango de concentración de glutatona utilizado en el amortiguador de carga, en el amortiguador de lavado y en el amortiguador de elución durante todas las etapas de cromatografía del método de manufactura de la proteína, el cual tal y como se evidencia en el capítulo descriptivo (Ejemplos 1 a 5 - Radicado N° NC2017/0006157 del 21 de junio de 2017) corresponde específicamente a glutatona en una concentración entre 1 mM y 10 mM.

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

6. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación en fase nacional de la solicitud en trámite: 22 de diciembre de 2014, y se encontraron los siguientes documentos que anticipa el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	Wang C. et al., 2008. <i>Biotechnology Progress</i> . Vol. 24, No. 1, Pág. 209 – 213.	<i>“High Recovery Refolding of rhG-CSF from Escherichia coli, Using Urea Gradient Size Exclusion Chromatography”</i>	01/Febrero/2008
D2	WO2008076933	Long acting proteins and peptides and methods of making and using the same	26/Junio/2008
D3	Humphreys D. et al., 2007. <i>Protein engineering, design and selection</i> . Vol. 20, No. 5, Pág. 227 - 234.	<i>“Alternative antibody Fab' fragment PEGylation strategies: combination of strong reducing agents, disruption of the interchain disulphide bond and disulphide engineering”</i>	01/Mayo/2007
D4	WO2007003898	Process for attaching effector molecules to proteins	11/Enero/2007

El documento D1¹ divulga un estudio en donde la cromatografía de exclusión por tamaño de gradiente de urea el gradiente de urea (SEC) se aplica al replegamiento de rhG-CSF expresado en *E. coli*. Se investigaron los efectos de la longitud y la concentración final de urea del gradiente de urea sobre el replegamiento de rhG-CSF, y los rendimientos en el replegamiento de rhGCSF a diversos volúmenes de carga obtenidos por gradiente de urea SEC, los cuales se compararon con aquellos por replegamiento de dilución y SEC normal con una concentración fija de urea en la fase móvil (Pág. 210, Col. 1, Párr. 3).

¹<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1021/bp070263y>

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

El documento D2² divulga un método para replegar una proteína o péptido que no contiene disulfuros esenciales y que contiene al menos un residuo de cisteína libre. También se describen conjugados de IFN-γ poliméricos que se han creado mediante el acoplamiento químico de polímeros tales como restos de polietilenglicol a IFN-γ, particularmente a través de una cisteína libre en la proteína (Abstract).

El documento D3³ divulga la producción de un Fab' mono-PEGilado que fue modificado para carecer de un enlace disulfuro intercatenario. Se demostró que la vida media en suero se mantuvo esencialmente sin cambios en relación con el Fab-PEG que presenta un enlace disulfuro intercatenario (Pág. 228, Col. 1, Parra. 2).

El documento D4⁴ divulga un proceso para unir una o más moléculas efectoras a una o más cisteínas en una proteína que comprende: a) activar una o más cisteínas en la proteína diafiltrando la proteína contra un agente reductor de monotiol o un agente reductor de múltiples tiol que es incapaz de formar enlaces disulfuro intramoleculares; y b) hacer reaccionar la proteína tratada con una molécula efectora (Abstract).

7. Examen de Patentabilidad (Art. 14 D486)

Novedad (Art 16 D486)

La reivindicación 1 consiste en: *“Un método para manufacturar una proteína, caracterizado porque comprende: a) cultivar las células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína, y b) purificar tal proteína a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde tal purificación comprende al menos una etapa de cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a tal mezcla y la proteína se mantiene en la presencia de tal agente reductor a partir de la primera etapa de cromatografía hasta la última etapa de cromatografía”* (Radicado N° NC2017/0006157 del 7 de septiembre de 2017).

2<https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=WO&NR=2008076933A2&KC=A2&FT=D>

3 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17452434>

4<https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=WO&NR=2007003898A1&KC=A1&FT=D>



REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características Esenciales	D1
Método para manufacturar una proteína, caracterizado porque comprende	Método para manufacturar una proteína rhG-CSF (Pág. 210, Sección experimental).
a) cultivar las células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína	rhG-CSF se expresó en células hospederas de <i>E. coli</i> en forma de cuerpos de inclusión (Pág. 210, Col. 1, Párr. 6).
b) purificar tal proteína a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde tal purificación comprende al menos una etapa de cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a tal mezcla (...).	Luego los cuerpos de inclusión se recuperaron mediante lavado y centrifugación y finalmente se solubilizaron en 8,0 mol-L⁻¹ de urea, 0,05 mol-L⁻¹ de Tris, 0,1 mol-L⁻¹ de β-mercaptoetanol, y 1 mmol-L⁻¹ de EDTA (Pág. 210, Col. 1, Párr. 6). Replegar la proteína por medio de la cromatografía líquida de plegamiento de proteínas (PFLC) (Pág. 210, Col. 2, Párr. 5). La cromatografía se llevó a cabo a temperatura ambiente con el uso de una columna SEC - Superdex 75. La columna se equilibró primero con una solución mixta que comprende 2.5 mmol-L⁻¹ de GSH (Glutathiona reducida) y 0.8 mmol-L⁻¹ de GSSG (Glutathiona oxidada) (Pág. 210, Col. 1, Párr. 7).

Las características técnicas esenciales de la reivindicación 1 habían sido divulgadas previamente en el documento D1, en el cual se divulga un método para manufacturar una proteína rhG-CSF, que comprende las etapas de: (i) expresar la proteína rhG-CSF en células hospederas de *E. coli* en forma de cuerpos de inclusión; (ii) recuperar los cuerpos de inclusión mediante lavado y centrifugación y finalmente solubilizarlos en 8,0 mol-L⁻¹ de urea, 0,05 mol-L⁻¹ de Tris, 0,1 mol-L⁻¹ de β-mercaptoetanol, y 1 mmol-L⁻¹ de EDTA; (iii) replegar la proteína por medio de la cromatografía líquida de plegamiento de proteínas (PFLC). La cromatografía se llevó

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° **8683**

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

a cabo a temperatura ambiente con el uso de una columna SEC - Superdex 75. La columna se equilibró primero con la solución mixta con la proporción esperada de solución A (comprende 2.5 mmol-L⁻¹ de GSH (Glutathiona reducida) y 0.8 mmol-L⁻¹ de GSSG (Glutathiona oxidada)) a la solución B (solución A contiene 8.0 mol-L⁻¹ de urea) seguido de un gradiente lineal a la concentración de urea de 8.0 mol-L⁻¹ (100% de solución B) (Pág. 210, Sección experimental).

En consecuencia, la reivindicación 1 no es nueva, según lo divulgado en el documento D1.

Las reivindicaciones 2 a 4 no mencionan alguna característica que haga nuevo el método de manufactura de una proteína de la reivindicación 1, por lo cual se considera que tampoco es nueva.

La reivindicación 1 consiste en: *“Un método para manufacturar una proteína, caracterizado porque comprende: a) cultivar las células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína, y b) purificar tal proteína a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde tal purificación comprende al menos una etapa de cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a tal mezcla y la proteína se mantiene en la presencia de tal agente reductor a partir de la primera etapa de cromatografía hasta la última etapa de cromatografía”* (Radicado N° NC2017/0006157 del 7 de septiembre de 2017).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características Esenciales	D2
Método para manufacturar una proteína, caracterizado porque comprende	Método para manufacturar una proteína insoluble o un péptido (Pág. 70, Rv. 1).
a) cultivar las células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína	a) hacer que una célula huésped exprese una proteína o péptido que carece de disulfuros esenciales y que comprende al menos un residuo de cisteína libre en una forma insoluble o agregada (Pág. 70, Rv. 1).
	Desnaturalizar y reducir la proteína o

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

b) purificar tal proteína a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde tal purificación comprende al menos una etapa de cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a tal mezcla (....).	péptido en una solución que comprende tanto un agente desnaturalizante como un agente reductor (Pág. 70, Rv. 1). La proteína se aísla de otros contaminantes en la mezcla de replegamiento mediante una cromatografía de columna (Pág. 71, Rv. 19). Los amortiguadores en la cromatografía de columna contienen un agente reductor (Pág. 71, Rv. 20).
--	--

Las características técnicas esenciales de la reivindicación 1 habían sido divulgadas previamente en el documento D2, en el cual se divulga un método para replegar una proteína o péptido insoluble que carece de disulfuros esenciales, y que comprende al menos un residuo de cisteína libre, que comprende los siguientes pasos: a) hacer que una célula huésped exprese una proteína o péptido que carece de disulfuros esenciales y que comprende al menos un residuo de cisteína libre en una forma insoluble o agregada; b) lisar la célula huésped; c) aislar la proteína o péptido; d) desnaturalizar y reducir la proteína o péptido en una solución que comprende tanto un agente desnaturalizante como un agente reductor, donde dicho agente reductor no forma un disulfuro mezclado con la cisteína libre en la proteína o péptido, y donde dicho agente reductor no inactiva un polietilenglicol (PEG) tiol - reactivo o no interfiere con la modificación de la proteína mediante un reactivo PEG tiol - reactivo; e) replegar la proteína reduciendo las concentraciones del agente desnaturalizante y los agentes reductores en la solución de (d) a niveles suficientes para permitir que la proteína o el péptido se renaturalicen en una forma soluble biológicamente activa (Pág. 14, líneas 4 a 28).

Adicionalmente se indica que la proteína puede ser purificada de otros contaminantes en la mezcla de replegamiento mediante una cromatografía de columna, en donde los amortiguadores pueden contener agentes reductores tales como cisteína, ditiotreitól, cisteamina, glutatión reducido, beta mercaptoetanol y compuestos relacionados. Los agentes reductores se pueden eliminar después

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

mediante diálisis o cromatografía antes de añadir el reactivo PEG (Pág. 45, líneas 24 a 26 – Pág. 44 a 46, Ejemplos 3 y 4).

En consecuencia, la reivindicación 1 no es nueva, según lo divulgado en el documento D2.

Las reivindicaciones 2, 4 a 7 no mencionan alguna característica que haga nuevo el método de manufactura de una proteína de la reivindicación 1, por lo cual se considera que tampoco es nueva.

Nivel Inventivo (Art. 18 D486)

La reivindicación 8 consiste en: *“El método de conformidad con cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque la proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno”* (Radicado N° NC2017/0006157 del 7 de septiembre de 2017).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características Esenciales (Rv. 8 modalidad de Rv. 1)	D2	D3
Método para manufacturar una proteína, caracterizado porque comprende	Método para manufacturar una proteína insoluble o un péptido (Pág. 70, Rv. 1).	Método para manufacturar una proteína (Pág. 228, Métodos).
a) cultivar las células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína	a) hacer que una célula huésped exprese una proteína o péptido que carece de disulfuros esenciales y que comprende al menos un residuo de cisteína libre en una forma insoluble o agregada (Pág. 70, Rv. 1).	Proteína expresada en el periplasma de <i>E. coli</i> (Pág. 228, Col. 1, Párr. 3).
	Desnaturalizar y reducir la proteína o péptido en una solución que comprende	El Fab-PEG se purificó usando SP Sepharose HP (GE-Healthcare). El

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° **8683**

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

b) purificar tal proteína a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde tal purificación comprende al menos una etapa de cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a tal mezcla (....).	tanto un agente desnaturalizante como un agente reductor (Pág. 70, Rv. 1). La proteína se aísla de otros contaminantes en la mezcla de replegamiento mediante una cromatografía de columna (Pág. 71, Rv. 19). Los amortiguadores en la cromatografía de columna contienen un agente reductor (Pág. 71, Rv. 20).	material se cargó a pH 4,5 en un amortiguador de acetato de sodio de baja conductividad, de modo que la molécula de PEG no se enlazara (Pág. 228, Col. 2, Párr. 1).
La proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno	No registra	Fragmento de unión al antígeno (Fab') derivado de anticuerpos, puede ser PEGilado específicamente en un tiol presente en los residuos de cisteína no apareados usando conjugados de PEG-maleimida reactivos con cisteína. (Pág. 228 y 229 - Métodos).

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 8 porque divulga un método para replegar una proteína o péptido insoluble que carece de disulfuros esenciales, y que comprende al menos un residuo de cisteína libre, que comprende los siguientes pasos: a) hacer que una célula huésped exprese una proteína o péptido que carece de disulfuros esenciales y que comprende al menos un residuo de cisteína libre en una forma insoluble o agregada; b) lisar la célula huésped; c) aislar la proteína o péptido; d) desnaturalizar y reducir la proteína o péptido en una solución que comprende tanto un agente desnaturalizante como un agente reductor, donde dicho agente reductor no forma un

Página 11 de 20

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° **8683**

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

disulfuro mezclado con la cisteína libre en la proteína o péptido, y donde dicho agente reductor no inactiva un polietilenglicol (PEG) tiol - reactivo o no interfiere con la modificación de la proteína mediante un reactivo PEG tiol - reactivo; e) replegar la proteína reduciendo las concentraciones del agente desnaturizante y los agentes reductores en la solución de (d) a niveles suficientes para permitir que la proteína o el péptido se renaturalicen en una forma soluble biológicamente activa (Pág. 14, líneas 4 a 28).

Adicionalmente se indica que la proteína puede ser purificada de otros contaminantes en la mezcla de replegamiento mediante una cromatografía de columna, en donde los amortiguadores pueden contener agentes reductores tales como cisteína, ditiotreitól, cisteamina, glutatión reducido, beta mercaptoetanol y compuestos relacionados. Los agentes reductores se pueden eliminar después mediante diálisis o cromatografía antes de añadir el reactivo PEG (Pág. 45, líneas 24 a 26 – Pág. 44 a 46, Ejemplos 3 y 4).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 8, y el método para manufacturar una proteína divulgado en el documento D2, consiste en que en el método para manufacturar una proteína reclamado por la solicitante, la proteína es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo.

No hay evidencia de avances o ventajas asociadas al diseño de un método para manufacturar una proteína, en donde la proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno reclamado en la presente solicitud, puesto que la reivindicación no define adecuadamente las características técnicas esenciales del método, es decir indicando una serie de etapas y condiciones específicas que le permitan a la persona normalmente versada en la materia la implementación del método. En este sentido no se indica en la etapa (b) durante la purificación de la proteína, las siguientes características y condiciones del método: (i) el tipo de cromatografía que se utiliza en una primera etapa, en donde dicha proteína de interés se une al medio cromatográfico y es subsecuentemente eluida en un primer eluato que contiene la proteína; (ii) los amortiguadores específicos utilizados con sus correspondientes condiciones de pH; (iii) el tipo de agente reductor que está presente en el amortiguador de carga, en el amortiguador de lavado y en el amortiguador de elución, y su correspondiente rango de concentración; (iv) el tipo de

Página 12 de 20

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

cromatografía que se utiliza en la segunda etapa para capturar impurezas y producir un flujo continuo que contiene la proteína; y (v) las etapas de ultrafiltración o diafiltración (UF/DF) que son realizadas entre las etapas de cromatografía, de manera que no es posible asociar los datos de la descripción a la materia reclamada, y por lo tanto no es posible establecer cuál es el aporte al estado de la técnica con el diseño de la alternativa propuesta. Sin embargo cabe resaltar que la solicitante demuestra en el capítulo descriptivo (Ejemplos 1 a 5 - Radicado N° NC2017/0006157 del 21 de junio de 2017) el desarrollo de un método de manufactura de una proteína, el cual se encuentra correctamente definido a partir de sus características técnicas esenciales, es decir que se muestran una serie de etapas y condiciones específicas. En este sentido el ejemplo 2 indica: *“El Fab’ CDP870 se expresó como una proteína heteróloga en células hospederas de E. coli W3110 (...); La corriente de alimentación que contiene el Fab’ CDP870 se cargó sobre una columna de intercambio catiónico Capto S™ de GE Healthcare (...). La columna ha sido equilibrada previo a cargar la corriente de alimentación con 6 volúmenes de columna de 50 mM de amortiguador de acetato de sodio (ajustado a pH 4.5 con ácido acético) que contiene 1 mM de glutatona (...); La fracción Fab’ CDP872 se eluyó con 50 mM de acetato de sodio y 250 mM de NaCl (ajustado a pH 4.5 con ácido acético) que contiene 1 mM de glutatona; El Fab’ CDP872 resultante que contiene eluato se sometió a ultrafiltración usando una membrana de ultrafiltración a base de poliéter sulfona (...); La combinación se cargó sobre una columna de cromatografía de intercambio catiónico Q™ de GE Healthcare [perlilla de agarosa rígida altamente reticulada (tamaño de partícula medio 90 µm) con un ligando de intercambio aniónico de amina cuaternaria unido mediante un enlazador de dextrano (...); Después de cargarla, la columna se lavó usando 20 mM de amortiguador de Tris ajustado a pH 8.5 que contiene 1 mM de glutatona (...); El Fab’ CDP870 que contiene eluato se recuperó y PEG de 40 kDa que tiene 2 ramificaciones de (Maleimidopropionamida de bis (Metoxipoli(etilenglicol)) de 20 kD (...). La implementación de dicho método permitió la generación de 78.1 % de comonomero de PEG-Fab’ CDP870 (Figura 2), en donde la eficacia de la PEGilación se determinó usando HPLC de exclusión de tamaño.*

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: Cómo modificar el método para manufacturar una proteína o un péptido divulgado en el documento D2, para producir un anticuerpo o un fragmento

Página 13 de 20

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° **8683**

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

de unión al antígeno del mismo acoplado a otra molécula, mediante un grupo reactivo de la proteína.

Sin embargo el documento D3 ya divulgaba las estrategias para la producción de anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno del mismo (Fab') que comprenden otra molécula acoplada, tal como una molécula PEG (Pág. 228 y 229 - Métodos). En este sentido se determinó que un fragmento de unión al antígeno (Fab') derivado de anticuerpos, puede ser PEGilado específicamente en un tiol presente en los residuos de cisteína no apareados usando conjugados de PEG-maleimida reactivos con cisteína. Se demostró que el producto Fab-PEG final no necesita retener el disulfuro intercatenario, y que la semivida en suero se mantuvo esencialmente sin cambios en relación con la de un Fab-PEG con un enlace disulfuro intercatenario; y por lo tanto se pueden usar condiciones fuertemente reductoras (Pág. 230 y 231 – Resultados). Este enfoque alternativo resultó en eficiencias de PEGilación de 88 y 94% para Fab humano y murino, respectivamente, y ofrece la flexibilidad de usar diferentes tamaños de moléculas de PEG para lograr una serie de resultados farmacocinéticos (PK) diferentes. También permite una multi-PEGilación sitio-específica precisa y eficiente. Finalmente se presenta evidencia de que las moléculas de Fab' PEGiladas y no PEGiladas que carecen de un enlace disulfuro intercatenario retienen niveles muy altos de estabilidad química y térmica y un desempeño normal, demostrando una afinidad inalterada *in vitro* y eficacia *in vivo* (Pág. 233, Discusión).

Por lo tanto, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría la enseñanzas para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo (Fab') acoplada a una molécula PEG divulgadas en el documento D3, y el método para manufacturar una proteína divulgado en el documento D2 para llegar así al objeto de la reivindicación 8 de la solicitud, por lo cual se considera obvia.

En consecuencia, la reivindicación 8 de acuerdo con lo divulgado en los documentos D2 y D3, carece de nivel inventivo (Art. 18).

Las reivindicaciones 9 a 13, no mencionan alguna característica que haga inventivo el método para manufacturar una proteína de la reivindicación 8, por lo cual se considera que tampoco tiene nivel inventivo.

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

La reivindicación 8 consiste en: *“El método de conformidad con cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque la proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno”* (Radicado N° NC2017/0006157 del 7 de septiembre de 2017).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características Esenciales (Rv. 8 modalidad de Rv. 1)	D2	D4
Método para manufacturar una proteína, caracterizado porque comprende	Método para manufacturar una proteína insoluble o un péptido (Pág. 70, Rv. 1).	Método para manufacturar una proteína (Pág. 21, Rv. 1).
a) cultivar las células hospederas bajo condiciones de manera que expresan tal proteína	a) hacer que una célula huésped exprese una proteína o péptido que carece de disulfuros esenciales y que comprende al menos un residuo de cisteína libre en una forma insoluble o agregada (Pág. 70, Rv. 1).	No registra
b) purificar tal proteína a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde tal purificación comprende al menos una etapa de cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a tal mezcla (...).	Desnaturalizar y reducir la proteína o péptido en una solución que comprende tanto un agente desnaturalizante como un agente reductor (Pág. 70, Rv. 1). La proteína se aísla de otros contaminantes en la mezcla de replegamiento mediante una cromatografía de columna (Pág. 71, Rv. 19). Los amortiguadores en la cromatografía de columna contienen un agente reductor	El producto deseado que contiene el número deseado de moléculas efectoras se puede separar de cualquier material de partida u otros productos generados durante el proceso por medio de técnicas cromatográficas tales como intercambio iónico, exclusión de tamaño o cromatografía de interacción hidrofóbica (Pág. 16, líneas 13 a 18).

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

	(Pág. 71, Rv. 20).	
La proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno	No registra	La proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno (Fab') (Pág. 21, Rv. 11 a 13).

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 8 porque divulga un método para replegar una proteína o péptido insoluble que carece de disulfuros esenciales, y que comprende al menos un residuo de cisteína libre, que comprende los siguientes pasos: a) hacer que una célula huésped exprese una proteína o péptido que carece de disulfuros esenciales y que comprende al menos un residuo de cisteína libre en una forma insoluble o agregada; b) lisar la célula huésped; c) aislar la proteína o péptido; d) desnaturalizar y reducir la proteína o péptido en una solución que comprende tanto un agente desnaturalizante como un agente reductor, donde dicho agente reductor no forma un disulfuro mezclado con la cisteína libre en la proteína o péptido, y donde dicho agente reductor no inactiva un polietilenglicol (PEG) tiol - reactivo o no interfiere con la modificación de la proteína mediante un reactivo PEG tiol - reactivo; e) replegar la proteína reduciendo las concentraciones del agente desnaturalizante y los agentes reductores en la solución de (d) a niveles suficientes para permitir que la proteína o el péptido se renaturalicen en una forma soluble biológicamente activa (Pág. 14, líneas 4 a 28).

Adicionalmente se indica que la proteína puede ser purificada de otros contaminantes en la mezcla de replegamiento mediante una cromatografía de columna, en donde los amortiguadores pueden contener agentes reductores tales como cisteína, ditiotretitol, cisteamina, glutatión reducido, beta mercaptoetanol y compuestos relacionados. Los agentes reductores se pueden eliminar después mediante diálisis o cromatografía antes de añadir el reactivo PEG (Pág. 45, líneas 24 a 26 – Pág. 44 a 46, Ejemplos 3 y 4).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 8, y el método para manufacturar una proteína divulgado en el documento D2, consiste en que en el

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

método para manufacturar una proteína reclamado por la solicitante, la proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno.

No hay evidencia de avances o ventajas asociadas al diseño de un método para manufacturar una proteína, en donde la proteína es un anticuerpo o un fragmento del mismo de unión al antígeno reclamado en la presente solicitud, puesto que la reivindicación no define adecuadamente las características técnicas esenciales del método, es decir indicando una serie de etapas y condiciones específicas que le permitan a la persona normalmente versada en la materia la implementación del método. En este sentido no se indica en la etapa (b) durante la purificación de la proteína, las siguientes características y condiciones del método: (i) el tipo de cromatografía que se utiliza en una primera etapa, en donde dicha proteína de interés se une al medio cromatográfico y es subsecuentemente eluida en un primer eluato que contiene la proteína; (ii) los amortiguadores específicos utilizados con sus correspondientes condiciones de pH; (iii) el tipo de agente reductor que está presente en el amortiguador de carga, en el amortiguador de lavado y en el amortiguador de elución, y su correspondiente rango de concentración; (iv) el tipo de cromatografía que se utiliza en la segunda etapa para capturar impurezas y producir un flujo continuo que contiene la proteína; y (v) las etapas de ultrafiltración o diafiltración (UF/DF) que son realizadas entre las etapas de cromatografía, de manera que no es posible asociar los datos de la descripción a la materia reclamada, y por lo tanto no es posible establecer cuál es el aporte al estado de la técnica con el diseño de la alternativa propuesta. Sin embargo cabe resaltar que la solicitante demuestra en el capítulo descriptivo (Ejemplos 1 a 5 - Radicado N° NC2017/0006157 del 21 de junio de 2017) el desarrollo de un método de manufactura de una proteína, el cual se encuentra correctamente definido a partir de sus características técnicas esenciales, es decir que se muestran una serie de etapas y condiciones específicas. En este sentido el ejemplo 2 indica: *“El Fab' CDP870 se expresó como una proteína heteróloga en células hospederas de E. coli W3110 (...); La corriente de alimentación que contiene el Fab' CDP870 se cargó sobre una columna de intercambio catiónico Capto S™ de GE Healthcare (...). La columna ha sido equilibrada previo a cargar la corriente de alimentación con 6 volúmenes de columna de 50 mM de amortiguador de acetato de sodio (ajustado a pH 4.5 con ácido acético) que contiene 1 mM de glutatona (...); La fracción Fab' CDP872 se eluyó con 50 mM de acetato de sodio y 250 mM de NaCl (ajustado a pH*

Página 17 de 20

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

4.5 con ácido acético) que contiene 1 mM de glutatona; El Fab' CDP872 resultante que contiene eluato se sometió a ultrafiltración usando una membrana de ultrafiltración a base de poliéter sulfona (...); La combinación se cargó sobre una columna de cromatografía de intercambio catiónico Q™ de GE Healthcare [perlilla de agarosa rígida altamente reticulada (tamaño de partícula medio 90 µm) con un ligando de intercambio aniónico de amina cuaternaria unido mediante un enlazador de dextrano (...); Después de cargarla, la columna se lavó usando 20 mM de amortiguador de Tris ajustado a pH 8.5 que contiene 1 mM de glutatona (...); El Fab' CDP870 que contiene eluato se recuperó y PEG de 40 kDa que tiene 2 ramificaciones de (Maleimidopropionamida de bis (Metoxipoli(etilenglicol)) de 20 kD (...)]. La implementación de dicho método permitió la generación de 78.1 % de comonomero de PEG-Fab' CDP870 (Figura 2), en donde la eficacia de la PEGilación se determinó usando HPLC de exclusión de tamaño.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: Cómo modificar el método para manufacturar una proteína o un péptido divulgado en el documento D2, para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo acoplada a otra molécula, mediante un grupo reactivo de la proteína.

Sin embargo el documento D4 ya divulgaba un método para unir selectivamente una o más moléculas efectoras a una o más cisteínas en una proteína que comprende: a) activar una o más cisteínas en una proteína diafiltrando la proteína contra un agente reductor de monotiol o un agente reductor de múlti-tiol que es incapaz de formar enlaces disulfuro intramoleculares; y b) hacer reaccionar la proteína tratada con una molécula efectora (Pág. 2, líneas 30 a 34 – Pág. 3, línea 1). En realizaciones particulares se indica que la proteína puede ser un anticuerpo y cada molécula efectora unida a la proteína es PEG, la cual está unida covalentemente a través de un grupo maleimida a uno o más grupos tiol en el fragmento del anticuerpo. En una realización preferida, la proteína es un fragmento de unión al antígeno del mismo (Fab'), y una molécula de PEG está unida a través de un grupo maleimida a una sola cisteína en la región bisagra (Pág. 9, líneas 30 a 34 - Pág. 10, líneas 1 a 7).

**REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

Por lo tanto, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría la enseñanzas para producir un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno del mismo (Fab') acoplada a una molécula PEG divulgadas en el documento D4, y el método para manufacturar una proteína divulgado en el documento D2 para llegar así al objeto de la reivindicación 8 de la solicitud, por lo cual se considera obvia.

En consecuencia, la reivindicación 8 de acuerdo con lo divulgado en los documentos D2 y D4, carece de nivel inventivo (Art. 18).

Las reivindicaciones 9 a 13, no mencionan alguna característica que haga inventivo el método para manufacturar una proteína de la reivindicación 8, por lo cual se considera que tampoco tiene nivel inventivo.

8. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Wang C. <i>et al.</i> , 2008. <i>Biotechnology Progress</i> . Vol. 24, No. 1, Pág. 209 – 213.	1 a 4	Novedad
D2	WO2008076933	2, 4 a 7	Novedad
D2	WO2008076933	8 a 13	Nivel inventivo
D3	Humphreys D. <i>et al.</i> , 2007. <i>Protein engineering, design and selection</i> . Vol. 20, No. 5, Pág. 227 - 234.	8 a 13	Nivel inventivo
D4	WO2007003898	8 a 13	Nivel inventivo

En cumplimiento del artículo 45, de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 8683

Ref. Expediente N° NC2017/0006157

de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Si como respuesta a este requerimiento el solicitante llegara a modificar: i) el capítulo reivindicatorio, ii) la descripción de la invención a proteger, iii) o presente un nuevo capítulo reivindicatorio, y desee que se realice un nuevo examen de patentabilidad a esta modificación, no deberá pagar la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente a la tasa de examen de patentabilidad. En todo caso, el número de requerimientos por no patentabilidad estará supeditado a que el término del estudio de patentabilidad no sea superior a 18 meses, contados desde la publicación de la solicitud de patente de invención. Adicionalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones deberá pagar la tasa por reivindicación adicional.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante para los sesenta (60) días.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el Título I, Actuaciones ante la Superintendencia de Industria y Comercio; Capítulo sexto, publicación, comunicación, notificación y ejecutoria de las decisiones de la Superintendencia de Industria y Comercio, informándoles que contra el mismo no procede el recurso de la vía gubernativa.

Atentamente,



[DirectorName]
DIRECTOR DE NUEVAS CREACIONES

Elaborado: MARIO ANDRÉS FORERO CUJIÑO
Revisado: OLGA ROSA GONZÁLEZ FONSECA
Aprobado: JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ

Página 20 de 20