

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

1. Un método para manufacturar un anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno, caracterizado por que comprende:
 - a) cultivar una célula hospedera bajo condiciones de manera tal que exprese el anticuerpo o fragmento del mismo de unión al antígeno, y
 - b) purificar dicho anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde dicha purificación comprende al menos una etapa de cromatografía y en donde un agente reductor se agrega a dicha mezcla y el anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno se mantiene en presencia de dicho agente reductor a partir de la primera etapa de cromatografía hasta la última etapa de cromatografía.
 - c) agregar PEG al anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno, y
 - d) recuperar dicho anticuerpo o fragmentos de unión al antígeno del mismo acoplado a PEG.
2. El método de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado por que el agente reductor se selecciona a partir de glutatión, β -mercaptoetanol, β -mercaptoetilamina, ditiotreitól, Tris(2-carboxietil)fosfina, cisteína, y combinaciones de los mismos.
3. El método de conformidad con las Reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por que el agente reductor es 0.1 mM hasta 100 mM de glutatión.
4. El método de conformidad con la Reivindicación 3, caracterizado por que el agente reductor es 0.5 mM hasta 2 mM de glutatión.
5. El método de conformidad con cualquier reivindicación precedente, caracterizado por que el agente reductor es removido de la proteína recuperada en el paso b).
6. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la proteína es acoplada a otra molécula mediante enlace

covalente a un residuo de cisteína de la proteína.

7. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que tal fragmento de unión al antígeno es un Fab'.
8. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que tal cisteína en tal anticuerpo o fragmento de unión al antígeno está en la bisagra del anticuerpo.
9. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que tal molécula de PEG es PEG-maleimida 40,000.
10. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la purificación del anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno de la etapa b) comprende una primera etapa de cromatografía que es una cromatografía de intercambio catiónico a partir de la cual un primer eluato que contiene el anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno es eluido, y una segunda etapa de cromatografía que es una cromatografía de intercambio aniónico para producir un flujo continuo que contiene el anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno.

Señor Director

NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia: Expediente No. NC2017/0006157

Asunto: Solicitud de patente para: MÉTODO PARA MANUFACTURAR UN ANTICUERPO O FRAGMENTO DEL MISMO DE UNIÓN A ANTIGENO ACOPLADO A PEG

Solicitante: UCB BIOPHARMA SPRL

Fecha de solicitud: 21 de junio de 2017

RESPUESTA A PRIMER EXAMEN DE PATENTABILIDAD

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI, identificado como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, doy respuesta al Oficio No. 8683, notificado por fijación en lista el 18 de julio de 2018.

I. MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad aportó un Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 10 reivindicaciones en las que se han incluido las siguientes modificaciones:

- Se eliminaron las antiguas Reivindicaciones 5, 7, 8, 11 y 13.
- Se modificó el preámbulo de la Reivindicación 1 y el paso b) de dicha reivindicación a fin de reclamar: *“Un método para manufacturar un anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno, caracterizado porque comprende (...)”* con base en las enseñanzas de la página 18, líneas 18 a 20.
- Se modificó el paso a) de la Reivindicación 1, de manera que éste ahora se lee como: *“cultivar una célula hospedera bajo condiciones de manera que exprese el anticuerpo o fragmento del mismo de unión al antígeno, y”*. Lo anterior tiene sustento en la página 25, líneas 1 a 3 del Capítulo Descriptivo.

INNOVACIÓN PARA LOS NEGOCIOS

- Se incluyeron los pasos c) y d) en la Reivindicación 1, con base en las enseñanzas de la página 25, líneas 12 a 15 del Capítulo Descriptivo.
- Se incluyó la nueva Reivindicación 4, la cual reclama el método un método de acuerdo con la presente invención, en el cual el agente reductor es 0.5 mM hasta 2 mM de glutatión; con base en las enseñanzas de la página 15, línea 7 del Capítulo Descriptivo.
- La Reivindicación 5 fue modificada a fin de dar consistencia a la materia reclamada, con base en la página 15 líneas 13 a 22 y Ejemplos 2 a 4.
- De igual manera se incluyó la nueva Reivindicación 10, la cual cuenta con debido soporte en las páginas 10 y 11, líneas 23 a 25 y 1 a 5 respectivamente.
- Las reivindicaciones correspondientes, así como sus relaciones de dependencia, fueron reenumeradas de acuerdo con los cambios anteriormente mencionados.

Me permito resaltar que estas modificaciones se ajustan completamente a lo establecido por el Artículo 34 de la Decisión 486 de 2000, ya que no constituyen una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

A pesar de eliminar materia del Capítulo Reivindicatorio originalmente presentado, mi representada no renuncia a la protección que pueda obtener sobre dicha materia y se reserva el derecho de presentar una solicitud divisional que la contenga durante el trámite de la presente solicitud.

II. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE CLARIDAD Y CONCISIÓN

El Examinador considera que la Reivindicación 1 no es clara, y argumenta que no define el método reclamado en términos de sus etapas y condiciones específicas.

Sobre este particular me permito resaltar que, a la luz de las modificaciones detalladas en el numeral I del presente memorial, la Reivindicación 1 modificada describe de forma clara y concisa el método reclamado, de manera que una persona normalmente versada en la materia comprenda las características esenciales del mismo. Con base en lo anterior, resulta claro que la presente invención comprende un método para manufacturar un anticuerpo o fragmentos del mismo de unión al antígeno, a partir de una etapa inicial que en la cual se cultiva la célula hospedera en condiciones que propicien la expresión del

anticuerpo de interés o fragmentos del mismo; posteriormente, el anticuerpo es purificado a través de cromatografías sucesivas en presencia de un agente reductor; seguido de una etapa en la cual se añade una molécula de polietilenglicol (PEG) al anticuerpo o fragmentos purificados y finalmente la molécula resultante es recuperada. Con base en lo anterior, teniendo en cuenta que la Reivindicación 1 provee una generalización razonable de las características técnicas esenciales de la materia, solicito que la objeción aquí discutida sea tenida como superada, toda vez que la materia reclamada en la Reivindicación 1 es presentada de manera clara para una persona normalmente versada en la materia.

El Examinador señala además que la Reivindicación 1 no es clara debido a que emplea el término “*al menos*”.

En relación con este señalamiento deseo resaltar que su utilización en la Reivindicación 1 delimita la materia reclamada de manera clara para una persona normalmente versada en la materia, toda vez que este término permite abarcar la totalidad del concepto inventivo de la solicitud, y es evidente su significado. De esta forma, el término “*al menos*” en el contexto de la Reivindicación 1, implica que en la etapa de purificación del método referido, se debe llevar a cabo una como mínimo una cromatografía; sin embargo, realizaciones que comprenden más de una cromatografía en este paso caben dentro del concepto inventivo de la solicitud, por lo que fijar un valor en esta característica se constituiría en una limitación injustificada del alcance de la invención. Así mismo, la persona versada en la materia entendería que fijar un valor exacto de cromatografías a desarrollar dejaría por fuera del alcance de la invención realizaciones que comparten el mismo concepto inventivo y por lo tanto esta modificación permitiría que terceros emplearan impunemente el desarrollo realizado por la Solicitante.

El Examinador asegura que la Reivindicación 2 carece de sustento, e indica que el Capítulo Descriptivo no brinda soporte para reclamar el método que emplea un agente reductor seleccionado de β - mercaptoetanol, β -mercaptoetilamina, ditiotreitól, Tris(2-carboxietil)fosfina, cisteína, y combinaciones de los mismos, en la etapa de cromatografía.

Por otro lado, el Examinador señala que la Reivindicación 3 carece de sustento y argumenta que el Capítulo Reivindicatorio no evidencia el desarrollo de un método en el

cual el rango de concentración del agente reductor glutatión está entre 0.1 mM y 100 mM en la etapa de cromatografía.

A este respecto deseo señalar, que el Artículo 30 de la Decisión 486 señala que la materia reclamada debe tener debido soporte en el Capítulo Descriptivo de la solicitud. En el presente caso, el método de conformidad con la presente invención en el cual el agente reductor se selecciona a partir de glutatión, β -mercaptoetanol, β -mercaptoetilamina, ditioneitol, Tris(2-carboxietil)fosfina, cisteína, y combinaciones de los mismos, se encuentra divulgado en la página 14, líneas 22 a 25 del Capítulo Descriptivo. De igual manera, la concentración estimada para el agente reductor glutatión que comprende 0.1 mM hasta 100 mM, es referido en la página 15, línea 2 de dicho documento. Con base en lo anterior, señalo que realizaciones del método que comprendan un agente reductor seleccionado de los compuestos mencionados en la Reivindicación 2, en la concentración referida en la Reivindicación 3, cuentan con debido soporte en la solicitud, cumpliendo así con los requisitos estipulados en la Decisión 486 de 2000. Por lo tanto, solicito amablemente que se tengan estas objeciones como superadas.

Asimismo, indico que la legislación vigente no establece como requerimiento legal la presentación de evidencia experimental respecto de cada una de las realizaciones abarcadas bajo el alcance de una solicitud. En este sentido señalo que la posición del Examinador respecto de la falta de soporte de las Reivindicaciones 2 y 3, carece de fundamento en la Decisión 486 de 2000, ya que como se mencionó anteriormente, la materia reclamada cuenta con debido soporte en el Capítulo Descriptivo.

En conclusión, considero que el Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto cumple con todos los requisitos de claridad y concisión, ajustándose así a los lineamientos del Artículo 30 de la Decisión 486, ya que cualquier persona del oficio normalmente versada en la materia está en completa capacidad de reproducir la invención sin ambigüedad alguna.

III. EN CUANTO AL TÍTULO

Tomando en consideración las objeciones presentadas por el Examinador en el Oficio antes referenciado, la Solicitante desea, en respuesta a dichas objeciones, modificar el

título de la solicitud para que este se ajuste más adecuadamente a la materia reclamada.
De esta forma, el nuevo título de la solicitud se lee como sigue:

*“MÉTODO PARA MANUFACTURAR UN ANTICUERPO O FRAGMENTO DEL MISMO DE
UNIÓN A ANTIGENO ACOPLADO A PEG”*

Tomando en consideración esta modificación, muy amablemente se solicita al Examinador considerar esta objeción como superada.

IV. ESTADO DE LA TÉCNICA

El Examinador indica que los siguientes documentos son relevantes para la patentabilidad de las Reivindicaciones 1 a 13 de la presente solicitud:

No.	Documento	Título	Fecha de Publicación	Reivindicaciones Afectadas
D1	Art. 1	<i>“High Recovery Refolding of rhG-CSF from Escherichia coli, Using Urea Gradient Size Exclusion Chromatography”¹</i>	01 de febrero de 2008	Novedad: 1 a 4
D2	WO2008076933	<i>“Long acting proteins and peptides and methods of making and using the same”²</i>	26 de junio de 2008	Novedad: 2, 4 a 7 Nivel inventivo: 8 a 13
D3	Art. 2	<i>“Alternative antibody Fab' fragment PEGylation strategies: combination of strong reducing agents, disruption of the interchain disulphide bond and disulphide engineering”³</i>	01 de mayo de 2007	Nivel inventivo: 8 a 13
D4	WO2007003898	<i>“Process for attaching effector molecules to proteins”⁴</i>	11 de enero de 2007	Nivel inventivo: 8 a 13

¹ Wang, C., Wang, L., & Geng, X. (2008). High Recovery Refolding of rhG-CSF from Escherichia coli, Using Urea Gradient Size Exclusion Chromatography. Biotechnology progress, 24(1), 209-213.

² <https://patents.google.com/patent/WO2008076933A2/en?q=WO2008076933>

³ Humphreys, D. P., Heywood, S. P., Henry, A., Ait-Lhadj, L., Antoniwi, P., Palframan, R., ... & West, S. (2007). Alternative antibody Fab' fragment PEGylation strategies: combination of strong reducing agents, disruption of the interchain disulphide bond and disulphide engineering. Protein Engineering, Design & Selection, 20(5), 227-234.

⁴ <https://patents.google.com/patent/WO2007003898A1/en?q=WO2007003898>

V. EN CUANTO A LA FALTA DE NOVEDAD

El Examinador asegura que las características técnicas esenciales del objeto de la Reivindicación 1 carece de novedad a la luz de las enseñanzas de D1 y D2. Asimismo, el Examinador señala que las Reivindicaciones 2 a 4, no presentan características adicionales que puedan conferir novedad a la materia reclamada.

A este respecto me permito indicar que la Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad (GESPIMU) señala en la sección 2.12 que *“si la invención reivindicada es idéntica a lo revelado en el estado de la técnica, (...) se considera que no tiene novedad”*⁵. Con base en lo anterior, y teniendo en cuenta las modificaciones detalladas en el numeral I de este memorial, me permito indicar que las características de la Reivindicación 1 actualmente presentada no son idénticas a lo revelado en D1 y D2.

En este sentido, resalto que ninguno de los documentos referidos provee un método de manufactura de proteínas que permita recuperar un anticuerpo o fragmentos del mismo en unión a una molécula de polietilenglicol. Basado en lo anterior, solicito que la objeción de novedad respecto de los documentos indicados sea tenida como superada, considerando que las enseñanzas de ninguno de los documentos señalados por el Examinador es idéntica a la Reivindicación 1 modificada presentada junto con este memorial.

VI. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

Finalmente, el Examinador objeta la altura inventiva del método de las Reivindicaciones 8 a 13 toda vez que según su criterio resultaría evidente para la persona versada en la materia incluir las enseñanzas de D3 sobre cómo producir un anticuerpo o fragmento del mismo acoplado a una molécula de PEG, en el método para manufacturar una proteína divulgado en D2, a fin de obtener el método de la presente invención.

⁵ Superintendencia de Industria y Comercio (2014) *GUÍA PARA EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTE DE INVENCION Y MODELO DE UTILIDAD* (pp. 116). Bogotá, Colombia.

Sobre este particular me permito señalar que, a la luz de las modificaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio actualmente presentado, el nivel inventivo de la solicitud no fue analizado sobre la totalidad del concepto inventivo de la presente solicitud, toda vez que se excluyó de dicho análisis materia considerada como anticipada por el arte previo. Con base en lo anterior, considero que una vez la totalidad del concepto inventivo sea evaluado, resultará claro para una persona normalmente versada en la materia que la presente solicitud reviste nivel inventivo respecto de las enseñanzas de los documentos D2, D3 y D4.

En relación al arte previo citado, señalo que tanto D1 como D2 hacen referencia a un método para el replegamiento de proteínas. En tal caso, la proteína se expresa en forma desnaturalizada y se acumula en cuerpos de inclusión en el citoplasma bacteriano. Como se aprecia en ambos documentos, los cuerpos de inclusión obtenidos se asilan y después se solubilizan usando agentes desnaturalizantes. Esta etapa del método divulgado en dichos documentos asegura que la proteína de interés esté linearizada, es decir, en su estructura primaria.

Posteriormente, la proteína es replegada, alcanzando su estado nativo a través de la conformación de enlaces disulfuro y estructuras secundarias hélices alfa y láminas beta, entre otros. Para lograr esto, la concentración del agente desnaturalizante en el entorno de la proteína es lentamente reducido, mientras que simultáneamente se controla el potencial redox en el entorno de la proteína. Esto se logra en D1 mediante la combinación de glutatión reducido y oxidado, lo cual mejoraría, entre otras cosas, la correcta formación de enlaces disulfuro. En D2, dicho efecto es alcanzado mediante la disminución controlada del agente reductor (D2, Reivindicación 1, etapa e.).

Los métodos anteriormente descritos, se diferencian ampliamente del descrito en la presente invención, ya que esta última tiene por objeto purificar una proteína de una mezcla compleja (que incluye residuos celulares, proteínas de la célula hospedera, ácidos nucleicos, entre otros), en donde dichas proteínas se encuentran en su estado nativo, es decir, que los enlaces disulfuro de la biomolécula permanecen intactos, como lo indica la página 5 del Capítulo Descriptivo (líneas 4-11).

Por el contrario, D2 puntualmente señala que la invención allí descrita provee un “método para *replegar* una proteína insoluble o un péptido que carece de enlaces disulfuro esenciales” (D2, Resumen), lo cual se reitera en el preámbulo de la Reivindicación 1, que de nuevo reclama “Un método para *replegar* una proteína insoluble o péptido que carece de enlaces disulfuro esenciales (...)”. De esta manera, la persona normalmente versada en la materia que busque manufacturar un anticuerpo o fragmento del mismo que posea enlaces disulfuro esenciales para el correcto funcionamiento del mismo, no tomaría en cuenta las enseñanzas del método descrito en D2, toda vez que el mismo estipula la denaturación de la proteína o anticuerpo a manufacturar como condición previa a su obtención y recuperación, resultando así inadecuado para sus propósitos.

Con base en lo anterior, una persona normalmente versada en la materia comprendería que en métodos tradicionales (cómo el divulgado en D2), la etapa de replegamiento comprende condiciones reductoras leves (concentración disminuida del agente reductor), proveyendo un ambiente propicio para que se den reacciones químicas inespecíficas y no controladas entre los demás componentes de la mezcla compleja en la que se encuentra la proteína a purificar (residuos celulares, proteínas de la célula hospedera, ácidos nucleicos, entre otros) (Capítulo Descriptivo, página 5). Lo anterior hace necesario que el replegamiento de la proteína en el ambiente reductor, sólo se pueda llevar a cabo una vez la misma haya sido purificada, afectando directamente la eficiencia y costos del método debido a la necesidad de incluir pasos adicionales en el mismo, como se evidencia en D2.

Por el contrario, la presente solicitud provee un método mejorado en el cual no hay denaturación previa de la proteína a purificar, sino que por el contrario, se brinda un ambiente favorable para que los enlaces disulfuro esenciales de la molécula permanezcan inalterados a fin de conservar la funcionalidad del anticuerpo, haciendo posible acoplarlo en etapas posteriores a otras moléculas. De esta manera, la presente invención provee un método con mayor eficiencia respecto de los divulgados en el arte previo, ya que no requiere pasos adicionales de denaturación y replegamiento, evitando así cualquier alteración de la funcionalidad de la proteína o anticuerpo.

Adicionalmente, el Examinador cita como relevantes respecto de la patentabilidad de la materia reclamada los documentos D3 y D4, y señala que éstos supuestamente revelan un método para unir selectivamente una o más moléculas efectoras a una o más cisteínas en una proteína.

En relación con el anterior señalamiento, me permito indicar D3 se centra en analizar el impacto en la estabilidad termal y química de las diferentes especies generadas a partir de un proceso de PEGilación en diferentes posiciones de la molécula. Sin embargo, dicho documento no se centra en el proceso para obtener moléculas unidas a PEG. Más aún en la sección de “*Métodos*”, subsección “*Reducción y PEGilación*” (página 228) D3 revela que se empleó una proporción fija del agente reductor y el fragmento Fab’ purificado para llevar a cabo los análisis. Además, el fragmento Fab’ es PEGilado en un paso separado e independiente que no hace parte del proceso de manufactura de la molécula.

Por otro lado, D4 se centra en proveer un método para unir una molécula de PEG a un fragmento Fab’, y por tanto debería ser considerada como el arte previo más cercano a la invención. Sin embargo, el proceso descrito en dicho documento requiere primero obtener un fragmento Fab’ purificado, para después llevar a cabo una etapa especial para activar las cisteínas presentes en la proteína por diafiltración de la misma en contra de los efectos del agente reductor.

Por el contrario, el método de la presente invención permite la purificación del anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno, de manera tal que la molécula es recuperada en una conformación que permita una reacción inmediata con PEG, lo cual implica que las cisteínas están activas y no requieren una etapa adicional de activación, gracias a la presencia de un agente reductor durante el proceso de purificación. De esta manera, la presente invención provee altas y mayores eficiencias en la PEGilación de los anticuerpos recuperados, como es evidenciable a partir de la realización del método divulgado en la presente invención (Ejemplo 2) y realizaciones de métodos divulgados en el arte previo citado (Ejemplo 5 que lleva a cabo el método divulgado en D4). Lo anterior revela que el método de la presente invención provee una mayor eficiencia respecto de divulgaciones previas (Ejemplo 2: página 51, líneas 13 a 15; Ejemplo 5: página 60, líneas 1 a 3), al tiempo que es más costo eficiente que otros métodos al no requerir etapas adicionales; lo cual

resulta de gran beneficio en el contexto de manufactura de proteínas a gran escala, proveyendo una disminución en el tiempo y dinero empleado, así como en las pérdidas del producto asociadas a su procesamiento.

De acuerdo con lo anterior, enfatizo que no hay ninguna sugerencia o enseñanza específica en ninguno de los documentos citados que pueda sugerir a la persona normalmente versada en la materia, un método que permita la purificación de un anticuerpo o fragmento del mismo con una conformación de cisteínas activas que permita una reacción inmediata con PEG. Con base en lo anterior, amablemente solicito al Examinador que tenga en cuenta las diferencias puntuales de la presente invención así como el efecto técnico obtenido por la misma y reconozca la altura inventiva de la esta solicitud.

VII. PETICIÓN

1. Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por la Dirección de Nuevas Creaciones, solicito proceder al otorgamiento de la solicitud de patente.

2. De manera subsidiaria, y en caso de que su Despacho considere que la modificación introducida al Capítulo Reivindicatorio amerita revisión adicional, solicito un tercer examen de patentabilidad de conformidad con lo dispuesto en el Artículo 2 de la Resolución 3719 de 02 de febrero de 2016, para lo cual realizo el pago de tasa correspondiente.

VIII. ENTREVISTA CON EXAMINADOR

Además de este memorial de respuesta, he solicitado una entrevista en las oficinas de la Dirección de Nuevas Creaciones con el fin de discutir con el Examinador temas que Considero de importancia para el trámite. Atentamente solicito no se resuelva este expediente hasta después de llevar a cabo dicha reunión.

IX. ANEXOS

1. Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 10 reivindicaciones.
2. Recibo de pago en línea por concepto de examen de patentabilidad adicional.

Señor Director,

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908