

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

Por la cual se otorga una Patente de Invención

EL SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

en ejercicio de sus facultades legales, en especial de las conferidas en el numeral 26 del artículo 3° del Decreto 4886 de 2011, y

CONSIDERANDO:

PRIMERO: Que mediante escrito radicado en esta Superintendencia el 9 de enero de 2019, con el N° NC2019/0000120, por PORTOLA PHARMACEUTICALS, INC, entró a fase nacional la solicitud de patente de invención titulada “PREPARACIÓN DE DERIVADOS DEL FACTOR XA”, que corresponde a la solicitud internacional PCT/US2017/038169 del 19 de junio de 2017.

SEGUNDO: Que la solicitud fue publicada en la Gaceta de la Propiedad Industrial N° 856 el 29 de marzo de 2019 habiéndose presentado oposición por parte de LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.S.

TERCERO: Que realizado el examen de fondo mediante Oficio N° 6661, notificado el 4 de mayo de 2021, se requirió al solicitante en los términos del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina para que presentara respuesta a las observaciones de carácter técnico, relacionadas con la patentabilidad o cumplimiento de los requisitos establecidos por esta Decisión para la concesión de la patente.

CUARTO: Que el solicitante mediante escrito radicado bajo el N° NC2019/0000120 el 15 de septiembre de 2021, respondió oportunamente el requerimiento formulado y presentó las reivindicaciones 1 a 39 que reemplazan las originalmente presentadas. Se acepta este último capítulo reivindicatorio presentado, comoquiera que se ajusta a las prescripciones contenidas en el artículo 34 de la Decisión 486.

QUINTO: Que en virtud de lo dispuesto en el artículo 14 de la Decisión 486 expedida por la Comisión de la Comunidad Andina *“Los países miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o de procedimiento, en todos los campos de la tecnología, siempre que sean nuevas, tengan nivel inventivo y sean susceptibles de aplicación industrial.”*

SEXTO: Que en el presente caso las reivindicaciones 1 a 39 incluidas en el radicado bajo el N° NC2019/0000120 del 15 de septiembre de 2021, cumplen los requisitos indicados en el considerando anterior, toda vez que, se refieren a un método para preparar un producto de polipéptido expresado a partir de una construcción de polinucleótidos que comprende la secuencia de ácidos nucleicos SEQ ID NO: 7 que difiere del estado de la técnica más cercano, US20150057228, en que el método comprende agregar un detergente a la muestra para inactivar los virus, cargar la muestra en un cromatógrafo de afinidad basado en tripsina de soja (STI), eluir con un primer amortiguador que comprende arginina, cargar el eluido en un cromatógrafo de modo mixto y de intercambio de iones que comprende hidroxapatita, eluir con un segundo amortiguador que comprende 0,5M a 3M de una sal inorgánica, cargar la segunda muestra eluida en un cromatógrafo de interacción hidrofóbica y eluir con un tercer amortiguador que comprende cloruro de sodio 2mM a 5M. Adicionalmente, estas diferencias no se encuentran sugeridas en el estado de la técnica y, como consecuencia de ello, se

Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

evidencian los efectos de: (i) permitir la recuperación de entre un 30% a 35% del antídoto derivado de FXa expresado en el cultivo celular, lo cual resulta en una producción de entre 22mg a 33mg de la proteína por cada litro de cultivo celular (Pág. 25, Líneas 15 a 29), (ii) generar un rendimiento acumulado de 60% en un cultivo con escala de referencia (10L) y un rendimiento acumulado de entre 66% a 69% para dos ensayos piloto de 400L (Pág. 29, líneas 1 a 17) y (iii) reducir considerablemente el porcentaje de isoformas truncadas o con pérdida de residuos en el C terminal como la SEQ ID NO: 9 de un valor de 9% a 2.7% debido a una mayor eficacia en la purificación (Pág. 30, Líneas 23 a 26). Sumado a lo anterior, la materia reivindicada, es susceptible de aplicación industrial.

En consecuencia, las reivindicaciones 1 a 39 cumplen los requisitos de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial establecidos en la normatividad citada en precedencia y este Despacho encuentra procedente conceder para las mismas la patente solicitada.

6.1 Análisis de la Oposición

Argumentaciones de LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.S.

El opositor señala que: “(...) La solicitud de la referencia incumple los requisitos materiales de patentabilidad establecidos en el Título II, Capítulo I de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, estos son: Novedad, Nivel Inventivo y Aplicación Industrial. Vale recordar que por Novedad se entiende aquella invención que no se encuentra comprendida dentro del estado de la técnica, siendo ésta última la que comprende todo lo que haya sido accesible al público por una descripción escrita u oral, utilización, comercialización o cualquier otro medio antes de la fecha de presentación de la solicitud de la patente. Con respecto al Nivel Inventivo, cabe señalar que dicho requisito se cumple cuando a una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, no se le hubiese resultado dicha invención obvia o derivada de manera evidente del estado de la técnica. Por último, se entiende que una aplicación es susceptible de aplicación industrial cuando su objeto puede ser producido o utilizado en cualquier tipo de industria, entendiéndose por industria la referida a cualquier actividad productiva.”

Posteriormente, sostiene que: “La solicitud de patente relativa al Expediente NC2019/0000120, señala la siguiente prioridad: US201662351841P del 17/06/2016.

Esta solicitud de patente pretende proteger en Colombia, un método para preparar un producto de polipéptido expresado a partir de una construcción de polinucleótidos que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 7 o una secuencia de ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 7,

(...)

La memoria descriptiva, señala el «Factor Xa» o «fXa» o «proteína fXa» es una serina proteasa en la vía de coagulación de la sangre, que es producida a partir del factor X inactivo (fX, SEQ ID NO. 1, Tabla 1). La secuencia de nucleótidos que codifica el factor X humano («fX») puede encontrarse en GenBank con el número de acceso «NM_000504». Tras la escisión catalítica de los primeros 52 residuos de la cadena pesada, fX se activa en fXa. FXa contiene una cadena ligera y una cadena pesada. Los primeros 45 residuos de aminoácidos (residuos 1-45 de la SEQ ID NO. 1) de la cadena ligera se denomina el dominio Gla porque contiene 11 residuos de ácido γ-carboxiglutámico (Gla) modificados de manera postraducciona. También contiene una secuencia de pila aromática (6



Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

residuos de aminoácidos) (residuos 40-45 de la SEQ ID NO. 1). La digestión de quimotripsina retira de manera selectiva los residuos 1-44 que dan como resultado fXa sin dominio Gla. El dominio catalítico de serina proteasa de fXa se ubica en la cadena pesada de extremo C. La cadena pesada de fXa es altamente homóloga a otras serinas proteasas tales como trombina, tripsinas y proteína C activada.

(...)

Todo lo publicado antes del 17/06/2016 es parte del estado de la técnica."

A continuación, se refiere el opositor a antecedentes que respaldan la oposición y menciona el documento: "1. US2015025011 del 22/01/2015.

"Unit dose formulation of antidotes for factor XA inhibitors and methods of using the same".

Prioridad: US20090225887P del 15/07/2009.

Esta solicitud de patente, que es parte del estado de la técnica, pretende proteger una formulación de dosis unitaria que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y de aproximadamente 200 miligramos a aproximadamente 1 gramo de un polipéptido de dos cadenas que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO. 13.

Dicha formulación, que tiene de aproximadamente 400 miligramos a aproximadamente 900 miligramos del polipéptido.

Por otro lado, reivindica un paquete o kit que comprende un recipiente que contiene una formulación de dosis unitaria que comprende de aproximadamente 200 miligramos a aproximadamente 1 gramo de un polipéptido de dos cadenas que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO. 13 y un prospecto que indica que la formulación en dosis unitaria es adecuado para prevenir, reducir o encapsular el sangrado en un sujeto humano que se somete a un tratamiento anticoagulante con un inhibidor del factor Xa (fXa), ya sea que el inhibidor de fXa sea un inhibidor directo de fXa o un inhibidor indirecto de fXa.

La memoria descriptiva señala, en una realización, la invención se dirige a una formulación de dosis unitaria que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido de dos cadenas que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO. 13 o un polipéptido que tiene al menos un 80% de homología con la SEC ID NO. 13, en una cantidad, aproximadamente de 10 miligramos a aproximadamente 2 gramos. En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 100 miligramos a aproximadamente 1,5 gramos o de aproximadamente 200 miligramos a aproximadamente 1 gramo o de aproximadamente 400 miligramos a aproximadamente 900 miligramos.

De igual manera, en otra realización, la invención se dirige a una formulación de dosis unitaria para administración a un sujeto que se somete a una terapia anticoagulante con una cantidad neutralizante, una formulación que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad neutralizadora de un polipéptido de dos cadenas que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC. ID NO. 13 o un polipéptido que tenga al menos un 80% de homología con la SEC ID NO. 13.

Luego indica, ciertas realizaciones, el polipéptido es liofilizado.



Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

Asimismo, indica, el "Factor Xa" o "fXa" o "proteína fXa" se refiere a una serina proteasa en la vía de coagulación de la sangre que se produce a partir del factor X inactivo (fX). El factor Xa es activado por el factor IXa con su cofactor, factor VIIIa, en un complejo conocido como Xasa intrínseca, o factor VIIa con su cofactor, factor tisular, en un complejo conocido como Xasa extrínseca. fXa forma un complejo de protrombinasa unido a membrana con factor Va y es el componente activo en el complejo de protrombinasa que cataliza la conversión de protrombina a trombina. La trombina es la enzima que cataliza la conversión de fibrinógeno a fibrina, lo que finalmente conduce a la formación de coágulos sanguíneos.

La secuencia de aminoácidos correspondiente y la estructura de dominio de fX se describen en Leytus et al., Biochemistry, 1986, 25: 5098-5102. La estructura de dominio de fX maduro también se describe en Venkateswarlu, D. et al., Biophysical Journal, 2002, la escisión catalítica de los primeros 52 residuos (aminoácidos 143 a 194 de la SEQ ID NO. 3) de la cadena pesada, fX se activa para fXa (SEQ ID NO. 6). FXa contiene una cadena liviana (SEQ ID NO. 8) y una cadena pesada (SEQ ID NO. 9). Los primeros 45 residuos de aminoácidos (residuos 1-45 de la SEQ ID NO 6) de la cadena ligera se denominan dominio Gla porque contienen 11 residuos de ácido γ-carboxiglutámico (Gla) modificados después de la traducción. La cadena pesada de fXa es altamente homóloga a otras serina proteasas como la trombina, la tripsina y la proteína C activada.

El término "aislado" como se usa en este documento con respecto a los ácidos nucleicos, como el ADN o el ARN, se refiere a las moléculas separadas de otros ADN o ARN, respectivamente, que están presentes en la fuente natural de la macromolécula. El término "ácido nucleico aislado" significa incluir fragmentos de ácido nucleico que no son naturalmente fragmentos y no podrían encontrarse en el estado natural. El término "aislado" también se usa en el presente documento para referirse a polipéptidos y proteínas que se aíslan de otras proteínas celulares y se pretende que abarque tanto polipéptidos recombinantes como purificados.

Mas adelantes, señala, esta formulación emplea un polipéptido liofilizado (..) e incluye la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 13, para finalmente resaltar que, este antecedente le resta nivel inventivo a la solicitud NC2019/0000120.

Seguidamente se refiere el opositor al documento: "2. WO2014116275 del 31/07/2014.

"Inhibition of tissue factor pathway inhibitor with factor Xa derivatives". Prioridad: US201361756359P del 24/01/2013.

Esta solicitud de patente, que es parte del estado de la técnica, pretende proteger un método para tratar un efecto de sangrado en un sujeto que lo necesite, que comprende la administración al sujeto de una cantidad efectiva de un polipéptido factor derivado de Xa (fXa) (a) que comprende una cadena pesada fXa que comprende una modificación en un sitio activo y b) que no incluye una cadena ligera o consiste en una cadena ligera deficiente en Gla o des-Gla fXa.

La memoria descriptiva indica la tabla 3. Secuencia polipeptídica de un derivado fXa luego de remover la unión -RKRRKR (SEQ ID NO. 3) (...) y sostiene que este antecedente le resta nivel inventivo a la solicitud NC2019/0000120.

Luego, se refiere al opositor al documento: "3. US5589571 del 31/12/1996.



Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

"Process for production of inhibited forms of activated blood factors". Prioridad: US19940330978 del 28/10/1994.

Esta solicitud de patente, que es parte del estado de la técnica, en su memoria descriptiva indica, el factor X se puede purificar a partir de fuentes naturales, sintéticas o recombinantes mediante una serie de diferentes técnicas de extracción y cromatografía, como: una combinación de cromatografía de intercambio iónico, afinidad a heparina e hidroxapatita (Kosow, DP, Thromb. Res., 9 (6): 565-573 (1976); dextrano sulfatado; una combinación de adsorción de citrato de bario, precipitación con sulfato de amonio, cromatografía de intercambio iónico y afinidad a heparina, cromatografía de interacción hidrofóbica y como un subproducto en la purificación de otros factores de coagulación sanguínea.

La cadena pesada contiene la serina proteasa, el sitio activo similar a la tripsina y el péptido enzimático N-terminal que está glicosilado.

Este antecedente le resta nivel inventivo a la solicitud de Expediente NC2019/0000120."

Finalmente, el opositor se refiere al documento: "4. US5189019 del 23/02/1993.

"Antistasin derived anticoagulant protein" Prioridad: US19900512695 del 23/04/1990.

Esta solicitud de patente, que es parte del estado de la técnica, pretende proteger una proteína que tiene aproximadamente un peso molecular de 6000 daltons y tiene la siguiente secuencia:

(...)

Así como también protege, una composición terapéutica para inhibir la coagulación que comprende una cantidad efectiva de la proteína anterior y un portador farmacéuticamente aceptable.

Por otro lado, reivindica un método para inhibir la coagulación sanguínea en un mamífero que comprende administrar al mamífero una dosis efectiva de la composición anterior.

La memoria descriptiva señala, la presente invención describe la construcción por ingeniería genética y producción por tecnología de ADN recombinante de la proteína de la invención. La invención también incluye otras versiones de la proteína que conservan las características de la actividad inhibitoria del factor Xa y su actividad biológica.

Este antecedente le resta nivel inventivo a la solicitud de Expediente NC2019/0000120."

Concluye el opositor que: "Por todos los antecedentes expuestos (se adjunta una copia de todos los documentos citados en este informe), es evidente que la solicitud de Expediente NC2019/0000120 carece de nivel inventivo, considerando que la preparación de derivados del factor XA se desprenden del arte previo.

Siendo, la preparación de derivados del factor XA, según lo indicado en la solicitud relativa al Expediente NC2019/0000120, algo que se desprende del estado del arte, se reafirma el fundamento de la carencia de nivel inventivo, pues el objeto de la invención y los elementos que la componen son conocidos y forman parte del arte previo.



Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

Por consiguiente, podemos afirmar en forma categórica, que esta solicitud de patente debe ser denegada, debido a que no presenta nivel inventivo para gozar de un privilegio industrial en Colombia, ya que la preparación de derivados del factor Xa, según lo indicado en esta solicitud de patente, se desprenden del estado de la técnica (sic)”

Respuesta del solicitante a argumentos de LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.S.

El solicitante no dio respuesta a respuesta a la oposición presentada.

Respuesta de la Oficina

Con relación a los argumentos presentados por la sociedad opositora que sostienen que, el objeto de la presente solicitud incumple con los requisitos materiales de patentabilidad: Novedad, Nivel inventivo y Aplicación industrial, sustentados en los documentos:

- US2015025011 que enseña formulaciones por unidad de dosis de antidotos para anticoagulantes que tienen como blanco el factor Xa y, métodos para detener o prevenir el sangrado en pacientes que experimentan terapias con anticoagulantes inhibidores del factor Xa (Pág. 1, Resumen);
- WO2014116275 que divulga composiciones y métodos para el tratamiento de desordenes relacionados con el sangrado tales como la hemofilia A, enfermedad de von Willebrand (vWF) y deficiencia en el factor XII mediante la reducción de la concentración circulante del inhibidor de la vía de (TFPI) con un derivado del factor Xa (Pág. 1, Resumen);
- US5589571 que se refiere a un proceso para la producir una forma de un factor sanguíneo activado altamente puro que comprende proveer una preparación parcialmente purificada que contiene el factor sanguíneo de interés, tratar la preparación parcialmente purificada para convertir el factor sanguíneo e inhibir su forma activa en un único paso y, luego, purificar factor sanguíneo activo resultante (Pág. 1, Resumen); y
- US5189019 que menciona una proteína de alto peso molecular con alrededor de 6000 daltons que es biológicamente activa en la inhibición del Factor Xa durante la cascada de coagulación, un método para producir la proteína y métodos para inhibir la coagulación de la sangre que comprenden la proteína y composiciones farmacéuticas adecuadas (Pág. 1, Resumen).

Esta Oficina se permite aclarar que, pese a que los documentos referidos por el opositor hacen parte del campo técnico en el que se enmarca la presente solicitud, ninguna de las anterioridades referidas por la oposición enseña un método para la preparación de un derivado de FXa expresado por la SEQ ID NO: 7 que comprenda las etapas técnicas descritas. Por lo anterior, ninguno de los documentos solo o en combinación con otras anterioridades, anticipa el objeto del método de preparación reclamado por el solicitante, ni refiere los efectos técnicos evidenciados. Por tal razón, el método para preparar un producto de polipéptido expresado por la SEQ ID NO: 7 es inventivo con respecto a lo divulgado en el estado de la técnica.

Con relación a la composición reclamada en las actuales reivindicaciones 28 a 39 radicadas bajo el N° NC2019/0000120 el 15 de septiembre de 2021, teniendo en cuenta las modificaciones y restricciones allí incorporadas, esta oficina ha establecido que ninguna de



Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

las anterioridades señaladas por la oposición anticipa dichas composiciones que comprenden rangos de concentración específicos para cada uno de los derivados de FXa. En este punto vale la pena resaltar que, las composiciones reivindicadas tienen concentraciones particulares de los derivados de FXa con rendimientos y porcentajes de pureza específicos que generan propiedades mejoradas con respecto a otras alternativas del estado de la técnica y, han sido obtenidas por el proceso de producción previamente descrito. En consecuencia, se reconoce que dichas composiciones son inventivas con respecto a lo ya conocido en el estado de la técnica.

SÉPTIMO: Que de acuerdo con la modificación presentada por el solicitante en el escrito radicado bajo el N° NC2019/0000120 el 15 de septiembre de 2021 y teniendo en cuenta el objeto concedido, se modifica el título de la invención el cual quedará de la siguiente manera: “MÉTODO PARA PURIFICAR UN POLIPÉPTIDO DERIVADO DEL FACTOR XA Y COMPOSICIONES QUE LO COMPRENDEN”.

Con fundamento en las anteriores consideraciones, el Superintendente de Industria y Comercio,

RESUELVE

ARTÍCULO PRIMERO: Declarar infundada la oposición presentada por LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.S. de acuerdo con las razones expuestas en la parte considerativa de la presente Resolución.

ARTÍCULO SEGUNDO: Otorgar patente de invención a la solicitud que entró en fase nacional en virtud del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), para la creación titulada:

“MÉTODO PARA PURIFICAR UN POLIPÉPTIDO DERIVADO DEL FACTOR XA Y COMPOSICIONES QUE LO COMPRENDEN”

Clasificación IPC: C12N 9/64, C07K 1/22.

Reivindicaciones: 1 a 39 incluidas en el radicado bajo el N° NC2019/0000120 el 15 de septiembre de 2021, de acuerdo con el Anexo 1.

Titular: PORTOLA PHARMACEUTICALS, INC.

Domicilio: 270 E. GRAND AVE. SUITE 22 SOUTH, SAN FRANCISCO 94080 CALIFORNIA, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.

Inventores: Mark KARBARZ, Pamela B. CONLEY y Genmin LU.

Prioridad N°: 17/06/2016, US (ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA), 62/351,841.

Solicitud internacional N°: PCT/US2017/038169

Fecha: 19 de junio de 2017.

Vigente desde: 19 de junio de 2017

Hasta: 19 de junio de 2037.

ARTÍCULO TERCERO: El titular tendrá los derechos y las obligaciones establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina y en las demás disposiciones legales vigentes sobre propiedad industrial, precisando que para mantener vigente la patente se

Resolución N° **74351**

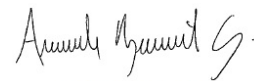
Ref. Expediente N° NC2019/0000120

deberá cancelar la tasa anual de mantenimiento, conforme lo dispone el artículo 80 de la referida norma comunitaria.

ARTÍCULO CUARTO: Notificar el contenido de la presente resolución a PORTOLA PHARMACEUTICALS, INC, y en calidad de Opositor a LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.S., advirtiéndole que contra ella procede el recurso de reposición, ante el Superintendente de Industria y Comercio, el cual podrá ser interpuesto en el momento de la notificación o dentro de los diez (10) días hábiles siguientes a ella.

NOTIFÍQUESE Y CÚMPLASE

Dada en Bogotá D.C., el 17 de noviembre de 2021



ANDRÉS BARRETO GONZÁLEZ
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Firmado digitalmente
por: ANDRÉS
BERNARDO BARRETO
GONZALEZ
Fecha: 2021.11.17
17:02:24 COT
Razón: Validez jurídica.
Ubicación: Bogotá,
Colombia.

ANEXO 1

REIVINDICACIONES CONCEDIDAS

1. Un método para preparar un producto de polipéptido expresado a partir de una construcción de polinucleótidos que comprende la secuencia de ácidos nucleicos de la SEQ ID NO: 7 o una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 7, caracterizado porque comprende: agregar un detergente a una muestra que contiene un producto de polipéptido expresado a partir de la construcción de polinucleótidos, en donde el detergente inactiva los virus con envoltura en la muestra; cargar la muestra en un cromatógrafo por afinidad basado en el inhibidor de la tripsina de soja (STI) y eluir el polipéptido con un primer amortiguador de elución para generar una primera muestra eluida, en donde la muestra cargada no contiene un solvente orgánico, y en donde el primer amortiguador de elución comprende arginina y disocia el polipéptido del cromatógrafo de afinidad basado en STI; cargar la primera muestra eluida en un cromatógrafo de modo mixto y de intercambio de iones que comprende hidroxipatita cerámica y eluir el polipéptido con un segundo amortiguador de elución que comprende 0,5M a 3M de una sal inorgánica para generar una segunda muestra eluida; y cargar la segunda muestra eluida en un cromatógrafo de interacción hidrofóbica y eluir el polipéptido con un tercer amortiguador de elución que comprende cloruro de sodio 2mM a 5M, preparando de este modo una muestra purificada que comprende el producto de polipéptido.
2. El método de la reivindicación 1, caracterizado porque el detergente comprende Tritón X-100 (p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil éter de polietilenglicol).
3. El método de la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el primer amortiguador de elución comprende arginina 0,5M a 2M.
4. El método de la reivindicación 3, caracterizado porque el primer amortiguador de elución tiene un pH de 5 a 5,4.
5. El método de cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque el cromatógrafo de modo mixto e intercambio de iones comprende un cromatógrafo de hidroxipatita cerámica tipo I.
6. El método de cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque el segundo amortiguador de elución comprende al menos 2M de la sal inorgánica.
7. El método de la reivindicación 6, caracterizado porque la sal inorgánica es cloruro de sodio.
8. El método de cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque el cromatógrafo de interacción hidrofóbica comprende un cromatógrafo de octil sefarosa.
9. El método de la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además una etapa de purificación con un cromatógrafo de intercambio de aniones.

Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

10. El método de la reivindicación 9, caracterizado porque el cromatógrafo de intercambio de aniones comprende una membrana de intercambio de iones.
11. El método de cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque comprende además someter las muestra a filtración con un filtro de nanopolar.
12. El método de la reivindicación 11, caracterizado porque la filtración con el filtro de nanopolar se realiza antes de cargar la muestra al cromatógrafo por afinidad basado en STI.
13. El método de cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque la muestra purificada contiene menos de 1 % de proteínas contaminantes no expresadas por la construcción de polinucleótidos.
14. El método de cualquier reivindicación precedente, caracterizado porque el producto de polipéptido se expresa en una célula que contiene la construcción de polipéptidos.
15. El método de la reivindicación 14, caracterizado porque la célula se cultiva en un medio en condiciones para producir al menos 100 mg del producto de polipéptido por litro de medio.
16. El método de la reivindicación 15, caracterizado porque la célula se cultiva en un medio en condiciones para producir al menos 200 mg del producto de polipéptido por litro de medio.
17. El método de la reivindicación 15 o 16, caracterizado porque la muestra purificada contiene más de 50 % del producto de polipéptido producido en el medio.
18. El método de la reivindicación 15 o 16, caracterizado porque la muestra purificada contiene más de 100 mg del producto de polipéptido de cada litro de producción del medio.
19. El método de la cualquier reivindicación precedente, donde el producto de polipéptido es un polipéptido de dos cadenas que comprende una cadena ligera y una cadena pesada.
20. El método de la reivindicación 19, caracterizado porque 20 % a 50 % del producto de polipéptido en la muestra purificada tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5.
21. El método de la reivindicación 20, caracterizado porque 5 %-95 % de la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 tiene dos glicosilaciones unidas a O y 5 %-95 % de la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 tiene una glicosilación unida a O.
22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 19-21, caracterizado porque 40 %-80 % del producto de polipéptido en la muestra purificada tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8.
23. El método de la reivindicación 22, caracterizado porque 90 % de la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 tiene una glicosilación unida a O.

Resolución N° 74351

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

24. El método de cualquiera de las reivindicaciones 19-23, caracterizado porque 2 %-12% del producto de polipéptido en la muestra purificada tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.
25. El método de cualquiera de las reivindicaciones 19-24, caracterizado porque 0,1 %-1,5 % del producto de polipéptido en la muestra purificada tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.
26. El método de cualquiera de las reivindicaciones 19-25, caracterizado porque 2 %-8 % del producto de polipéptido en la muestra purificada tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.
27. El método de cualquiera de las reivindicaciones 19-26, caracterizado porque 35%-60% del producto de polipéptido en la muestra purificada tiene una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.
28. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una parte de polipéptido de polipéptidos de dos cadenas donde.
 - 35 %-60 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4;
 - 20 %-60 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5;
 - 40 %-60 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; y
 - menos de 10 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.
29. La composición farmacéutica de la reivindicación 28, caracterizada porque menos de 5 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.
30. La composición farmacéutica de la reivindicación 28, caracterizada porque menos de 3 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.
31. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 30, caracterizada porque 0,1 %-1,5 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.
32. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 31, caracterizada porque 2 %-8 % de los polipéptidos de dos cadenas tiene una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.
33. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 32, caracterizada porque 30 %-70 % de la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 tiene dos glicosilaciones unidas a O.
34. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 33, caracterizada porque 30 %-70 % de la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 tiene una glicosilación unida a O.



Resolución N° **74351**

Ref. Expediente N° NC2019/0000120

35. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 34, caracterizada porque 90 % de la cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 tiene una glicosilación unida a O.
36. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 35, caracterizada porque la preparación está liofilizada.
37. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28 a 36, caracterizada porque comprende además HCl de L-arginina o acetato de L-arginina.
38. La composición farmacéutica de cualquiera de las modalidades 28 a 37, que comprende además sacarosa.
39. La composición farmacéutica de cualquiera de las modalidades 28 a 38, que comprende además manitol.