

Reivindicaciones

1. Procedimiento de obtención de heparinas de bajo peso molecular (HBPM) con una distribución de peso molecular medio de entre aproximadamente 3,0 y aproximadamente 5,0 KDa que comprende las siguientes etapas:
 - 5 a) proporcionar una solución de heparina despolimerizada cruda con un rango de distribución de cadenas oligosacarídicas de entre aproximadamente 0,6 a aproximadamente 10 KDa y una concentración de heparina de hasta aproximadamente 4% p/v;
 - b) realizar al menos una etapa de concentración mediante filtración de flujo tangencial (TFF) en fase acuosa utilizando una membrana de ≤ 1 KDa de corte nominal hasta conseguir una concentración de la heparina de hasta aproximadamente 25% p/v, proporcionando así dicha HBPM;
- 10 donde el término aproximadamente significa $\pm 10\%$ del valor indicado.
- 15 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la etapa (b) se realiza una primera etapa de concentración mediante TFF hasta conseguir una concentración de la heparina de hasta aproximadamente 10% p/v y una segunda etapa de concentración mediante TFF hasta conseguir una concentración de la heparina de entre aproximadamente 10% a aproximadamente 25% p/v; y donde el término
20 aproximadamente significa $\pm 10\%$ del valor indicado.
3. Procedimiento según la reivindicación 2, en el que la segunda etapa de concentración se realiza hasta una concentración de heparina de entre aproximadamente 12% a aproximadamente 22% p/v; y donde el término
25 aproximadamente significa $\pm 10\%$ del valor indicado.
4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que se realiza una etapa de clarificación de la solución de heparina de la etapa (a).
- 30 5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que se realiza al menos una etapa de filtración de profundidad.
6. Procedimiento según la reivindicación 5, en el que la etapa de filtración de profundidad se realiza previamente a la etapa de concentración mediante TFF si sólo

se realiza una o posteriormente a la primera etapa de concentración mediante TFF si se realiza más de una etapa de concentración mediante TFF.

7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que se realiza al menos una etapa de diafiltración con agua.

8. Procedimiento de obtención de heparinas según la reivindicación 7, en el que la etapa de diafiltración se realiza previamente a la etapa de concentración mediante TFF si sólo se realiza una o posteriormente a la primera etapa de concentración mediante TFF si se realiza más de una etapa de concentración mediante TFF.

9. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende al menos una etapa de tratamiento con H_2O_2 .

10. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que la etapa de tratamiento con H_2O_2 se realiza previamente a la etapa de concentración mediante TFF si sólo se realiza una o posteriormente a la primera etapa de concentración mediante TFF si se realiza más de una etapa de concentración mediante TFF.

11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que se realiza una etapa de liofilización del concentrado obtenido.

12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la heparina despolimerizada cruda no haya sido preparada por precipitación fraccionada.

13. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el procedimiento entero excluye precipitación fraccionada de la heparina.

14. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el peso molecular (Mw) de la HBPM obtenida cae dentro de los rangos siguientes

	Mw, Da	M1 <2000 Da, %	M2 2000-8000 Da, %	M3 >8000 Da, %
HBPM	3800-5000	12.0-20.0	68.0-82.0	≤18.0.

15. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el

peso molecular (Mw) de la heparina despolimerizada cruda cae dentro de los rangos siguientes

	Mw, Da	M1 <2000 Da, %	M2 2000-8000 Da, %	M3 >8000 Da, %
heparina despolimerizada cruda	3000-5000	≤25	60-80	≤20.

16. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el
5 peso molecular (Mw) de la HBPM obtenida cae dentro de los rangos siguientes

	Mw, Da	M1 <2000 Da, %	M2 2000-6000 Da, %	M3 >6000 Da, %
HBPM	3000-4200	<35.0	50.0-75.0	<15.0.

17. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 o 16, en el
que el peso molecular (Mw) de la heparina despolimerizada cruda cae dentro de los
10 rangos siguientes

	Mw, Da	M1 <2000 Da, %	M2 2000-6000 Da, %	M3 >6000 Da, %
heparina despolimerizada cruda	2500-5000	<40	50-75	<25.

18. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que en
la concentración mediante filtración de flujo tangencial (TFF) se utiliza una membrana
15 de 0,7 a 1 KDa.

19. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que se utiliza una membrana de
0,9 a 1 KDa, preferiblemente de 1KDa.

20. 20. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en el que la
heparina es enoxaparina sódica.

Evidencia experimental adicional

La enoxaparina sódica utilizada en los ejemplos de la solicitud de patente presenta una distribución cadenas oligosacáridicas de pesos moleculares en el rango de 1,2 a 10 kDa, tal como se muestra en el cromatograma obtenido al someter dicho producto a cromatografía de permeación en gel (GPC, por sus siglas en inglés *gel permeation chromatography*)

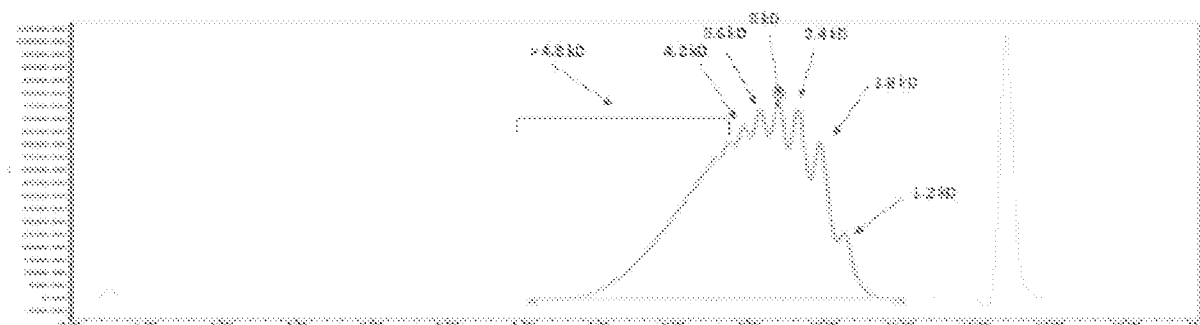


Fig. 1. GPC de enoxaparina sódica de partida.

Resultados de la cromatografía de permeación en gel de las diferentes fracciones de permeados y retenidos obtenidas en el ejemplo 3 de la solicitud de patente

A continuación se presentan los cromatogramas de GPC de las diferentes soluciones de permeados (P3'-P12') y retenidos (R3'-R12') obtenidas en el Ejemplo 3 (Tabla 5) de la presente solicitud de patente.

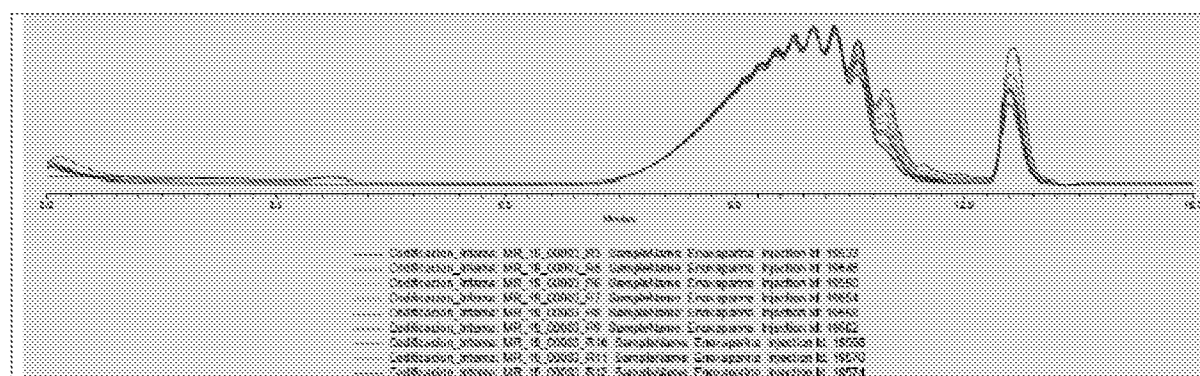


Fig. 2. Cromatogramas GPC de las soluciones de retenidos R3' a R12'.

En la Figura 2 se observa que a medida que se va concentrando la solución (R3' → R12'), el contenido de las fracciones de enoxaparina con pesos moleculares de 1,2 kDa, 1,8 kDa y 2,4 kDa se va reduciendo. Es decir, se consigue perfilar la molécula de heparina.

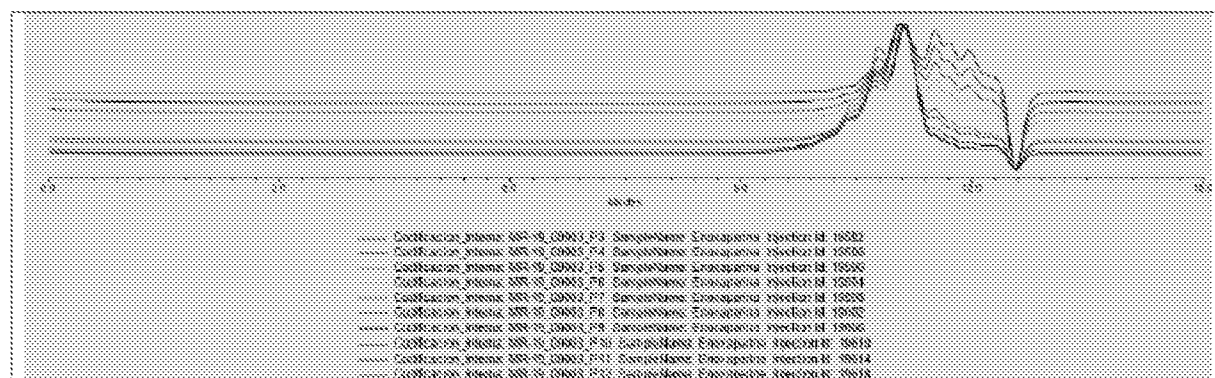


Fig. 3. Cromatogramas GPC de las soluciones de permeados P3' a P12'.

En la Figura 3 se observa un alto contenido de la fracción de enoxaparina de 1,2 kDa en las fracciones de los permeados (P3'-P12') obtenidos al someter la enoxaparina a filtración y concentración mediante TFF, pero también de las fracciones de enoxaparina con pesos moleculares de 1,8 kDa y 2,4 kDa. Estos resultados son particularmente inesperados teniendo en cuenta que la filtración se realiza utilizando una membrana con un corte nominal de ≤ 1 kDa.

Como se puede observar claramente en los cronogramas anteriores, la concentración por TFF utilizando un filtro con un corte nominal de ≤ 1 kDa, sorprendentemente se logra perfilar la distribución de pesos moleculares de la heparina despolimerizada, reduciendo selectivamente la concentración de las fracciones de heparina despolimerizada con pesos moleculares de 1,2 kDa, 1,8 kDa y 2,4 kDa.

SOLICITUD DE PATENTE INTERNACIONAL PCT/ES2020/070263

Argumentos para el Examen Preliminar Internacional

Por la presente se solicita que la solicitud de patente internacional PCT/ES2020/070263 sea tramitada bajo el Capítulo II del Tratado de Cooperación en materia de Patentes. Solicitamos por tanto el Examen preliminar internacional para la presente solicitud ante la Oficina Española de Patentes y Marcas (OEPM) actuando como Administración Internacional de Examen.

La solicitud identificada en el asunto está siendo tramitada ante la Oficina Española de Patentes y Marcas (OEPM) actuando como Administración Internacional de Búsqueda.

En respuesta a la Opinión Escrita que acompaña al Informe de Búsqueda Internacional, el solicitante desea realizar los siguientes comentarios para que sean tenidos en cuenta cuando se lleve a cabo el Examen Preliminar Internacional.

Además, se adjunta una copia de trabajo del juego de reivindicaciones modificado donde se resaltan las modificaciones en comparación con el juego de reivindicaciones anterior. En dicha copia de trabajo, las adiciones están subrayadas y las eliminaciones se han tachado.

En el Informe de Búsqueda Internacional (IBI), elaborado por parte de la Administración Internacional de Búsqueda (Oficina Española de Patentes y Marcas (OEPM)) citó los siguientes documentos:

- **D1:** ES 2161615 A1 (Laboratorios Farmacéuticos Rovi S.A.)
- **D2:** US 2009/0105194 A1 (Universitetet For Miljo-Og Biovitenskap)
- **D3:** "Protein Concentration and Diafiltration by Tangential Flow Filtration", Millipore.
- **D4:** US 5767269 A (Hamilton Civic Hospitals Research Development Inc.)
- **D5:** CN 103342761 A (Hebei Changshan Biochemical Pharmaceutical Co. Ltd.)
- **D6:** WO 2010/111710 A1 (Solazymen Inc.)
- **D7:** US 2007/154492 A1 (Baxter International Inc.)

Los documentos **D1-D5** fueron clasificados con la categoría 'Y' en relación con las reivindicaciones de la solicitud, es decir, como particularmente relevantes para la actividad inventiva cuando se consideran en combinación con otro documento de la misma categoría. Los documentos **D6 y D7** fueron clasificados con la categoría 'A' con respecto a las reivindicaciones de la solicitud.

Juego de reivindicaciones modificado:

En el juego de reivindicaciones modificado se han realizado las siguientes modificaciones:

- Se han modificado las reivindicaciones 1-3 para incluir el significado del término “aproximadamente”. Existe base para esta modificación en el párrafo [00106] de la solicitud originalmente presentada.
- Se han modificado las anteriores reivindicaciones 6, 9 y 12 (reivindicaciones actuales 6, 8 y 10) para indicar que la etapa correspondiente de filtración de profundidad, diafiltración o tratamiento con H₂O₂ se realiza con posterioridad a la primera etapa de concentración mediante TFF si se realiza más de una etapa de concentración mediante TFF. La base para dicha modificación se puede encontrar en los párrafos [0035]-[0037] de la descripción de la solicitud de patente tal como fue presentada.
- Se han eliminado las reivindicaciones originales 7 y 11.
- La numeración de las reivindicaciones y su dependencia se ha modificado.

Las reivindicaciones modificadas cumplen los requisitos del artículo 34.2(b) PCT.

Opinión Escrita

Actividad Inventiva (Artículo 33(3) PCT)

El Examinador consideró que las reivindicaciones 1-13 y 16-22 carecían de actividad inventiva frente al documento **D1** en combinación con las enseñanzas de los documentos **D2** a **D5**.

Tal como reconoce el Examinador, la materia de la reivindicación 1 difiere de las enseñanzas del documento **D1** en las etapas de purificación de la heparina despolimerizada, ya que en la reivindicación 1 se somete a filtración de flujo tangencial (TFF) mientras que en **D1** se precipita con una disolución que comprende metanol.

En opinión del Examinador, de los documentos **D2** y **D3** ya es conocido el uso de TFF para la concentración y purificación de moléculas como la heparina. Por lo tanto, el Examinador consideró que a la vista de lo divulgado en cualquiera de los documentos **D2** o **D3**, un experto en la materia, si no quisiera utilizar disolventes alcohólicos para concentrar la heparina, se plantearía utilizar distintos tipos de filtración como la TFF que no necesita la presencia de dichos disolventes alcohólicos para concentrar o purificar los compuestos. En vista de lo anterior, el Examinador concluyó que las reivindicaciones 1-4, 8, 9, 13 y 16-22 carecían de actividad inventiva. Respecto a las reivindicaciones 5-7 y 10-12, el Examinador

además se refirió a los documentos **D4** y **D5**, en los que se divulgan distintos tipos de filtraciones y tratamientos con H_2O_2 para purificar heparinas.

Discrepamos de la conclusión del Examinador por los motivos que se exponen a continuación.

La presente invención se diferenciaría del procedimiento descrito en el documento **D1** en el uso de TFF para purificar la heparina despolimerizada, tal como señala el Examinador.

El efecto técnico derivado de la utilización de TFF es que permite definir selectivamente cadenas de peso molecular superior de la heparina. Este efecto técnico se muestra en los ejemplos de la presente solicitud. En dichos ejemplos se lleva a cabo el procedimiento de la presente invención utilizando un filtro con un corte nominal de ≤ 1 kDa y se observa cómo la disolución resultante se va enriqueciendo en las fracciones de peso molecular medio y alto de la enoxaparina sódica.

La enoxaparina sódica tiene cadenas oligosacáridicas desde 1,2 kDa hasta 10 kDa (véase la Fig. 1 de la Evidencia experimental adicional adjunta).

Al someter dicha enoxaparina cruda a concentración por TFF utilizando un filtro con un corte nominal de ≤ 1 kDa, sorprendentemente se logra definir un determinado perfil de pesos moleculares y distribución de cadenas oligosacáridicas. Este hecho se puede observar, por ejemplo, en el Ejemplo 3 (Tabla 5) y Ejemplo 5 (Tabla 6) de la descripción de la solicitud de patente, donde se observa que el producto final obtenido está enriquecido en las cadenas de peso molecular de 2000-8000 Da y de >8000 Da.

En la evidencia experimental adicional anexa, se muestran los cromatogramas de cromatografía de permeación en gel de las diferentes fracciones (retenidos y permeados) separadas en el Ejemplo 3 de la presente solicitud de patente. En la Figura 2 de dicha evidencia experimental adicional, se observa cómo a medida que se va concentrando la solución ($R3' \rightarrow R12'$), el contenido de las fracciones de enoxaparina con pesos moleculares de 1,2 kDa, 1,8 kDa y 2,4 kDa en el retenido se va reduciendo. En la Figura 3 de la evidencia experimental adicional, se puede observar un alto contenido de la fracción de enoxaparina de 1,2 kDa en los permeados $P3'$ - $P12'$ obtenidos al someter la enoxaparina a filtración y concentración mediante TFF, pero también de las fracciones de las cadenas de enoxaparina con pesos moleculares de 1,8 kDa y 2,4 kDa.

Por tanto, se ha demostrado que la concentración mediante TFF utilizando un filtro con un corte nominal de ≤ 1 kDa según la presente invención, sorprendentemente logra perfilar la distribución de pesos moleculares de la enoxaparina, reduciendo la concentración de las cadenas oligosacáridicas de enoxaparina con peso molecular superior al corte nominal del filtro utilizado, es decir, se reduce el contenido de cadenas de pesos moleculares de 1,2 kDa, 1,8 kDa y 2,4 kDa de forma selectiva.

En vista de lo anterior, el problema técnico que resuelve la presente invención sería proporcionar un procedimiento mejorado de obtención de heparinas de bajo peso molecular, que no solo evita el uso de alcoholes de **D1**, sino que además permite perfilar la distribución de pesos moleculares de la heparina de bajo peso molecular para obtener el perfil deseado enriquecido en cadenas de mayor peso molecular.

El experto en la materia enfrentado con dicho problema no encontraría ninguna sugerencia en **D1** de utilizar un procedimiento de concentración por TFF ya que este documento no menciona esta técnica de concentración/purificación.

Es cierto que el uso de TFF para etapas de concentración y purificación es conocido. No obstante, ninguno de los documentos citados del estado de la técnica menciona o sugiere que se pueda utilizar un filtro con un valor nominal de corte de peso molecular inferior al de la fracción que se desea eliminar.

Por lo tanto, el experto en la materia no hubiera modificado el procedimiento de **D1** para sustituir la etapa de precipitación en metanol por filtración de flujo tangencial con expectativas razonables de llegar a un procedimiento que permita obtener una heparina de bajo peso molecular con una proporción reducida de las cadenas de bajo peso molecular, de entre 1,2 y 2,4 kDa.

La combinación de **D1** con el resto de documentos citados por el examinador tampoco haría obvia la invención, como se muestra a continuación.

El documento **D2** se refiere a un procedimiento de obtención de heparinas de bajo y muy bajo peso molecular a partir de heparina de animales marinos y en el que se reduce la proporción de heparinas con peso molecular superior a 8 kDa mediante despolimerización química, cromatografía o filtración (ver, por ejemplo, reivindicación 1 en **D2**). Sin embargo, en **D2** utilizan membranas de corte nominal de 1 kDa para desalar y concentrar (párrafos [0038] y [0043]), mientras que para perfilar los pesos moleculares se utiliza cromatografía de exclusión de tamaño (párrafos [0039] y [0044]). Además, dicho filtro de corte nominal de 1 kDa se utiliza con filtración convencional, y no con filtración TFF como en la presente invención.

Por lo tanto, el experto en la materia que quisiera obtener una heparina con una proporción reducida de las cadenas de bajo peso molecular, de entre 1,2 y 2,4 kDa, no hubiera encontrado ninguna motivación en **D2** para seleccionar filtración TFF con una membrana de corte nominal de 1kDa con expectativas razonables de lograr dicho resultado.

El documento **D3** es un resumen técnico de Millipore sobre el uso de filtración de flujo tangencial para la concentración y diafiltración de proteínas. Sin embargo, en este documento no se sugiere el uso de membranas de corte nominal de 1 kDa para eliminar componentes de peso molecular superior al valor de corte. En particular, las membranas

de valor de corte de $< 1\text{kDa}$ se describen para su uso en la eliminación de sales (Figura 2). Además, cabe destacar que la heparina no es una proteína sino un polisacárido y no hay ninguna evidencia de que el comportamiento de un polisacárido como la heparina pueda ser similar al descrito para proteínas. Por lo tanto, **D3** tampoco proporciona ninguna enseñanza que hubiera permitido al experto en la materia llegar a la presente invención.

El documento **D4** describe un procedimiento de preparación de heparinas de bajo peso molecular, típicamente entre 3 y 8 kDa. Una vez obtenida la heparina de bajo peso molecular, como uno de los posibles métodos de purificación se menciona la ultrafiltración para desalar y perfilar el peso molecular de la heparina final seleccionando membranas de diferente corte nominal (ver, por ejemplo, col. 9, líneas 37-40). No obstante, en el documento **D4** (col. 9, líneas 46-51; col. 10, líneas 34-39; y col. 11, líneas 6-10) se describe el uso de una membrana de valor de corte de 3 kDa en el contexto de la invención de **D4** en la que las heparinas están definidas por un límite inferior de peso molecular de 3 kDa. Además, este documento únicamente hace referencia a ultrafiltración y no menciona específicamente filtración de flujo tangencial.

Por lo tanto, **D4** tampoco menciona o sugiere la utilización de filtración TFF con membranas de 1kDa para perfilar la distribución de pesos moleculares de una heparina de bajo peso molecular. A la vista de este documento, el experto en la materia nunca hubiera elegido una membrana de este corte para reducir la proporción de cadenas con un peso molecular mayor.

En el documento **D5**, se realizan dos etapas de ultrafiltración; primero con una membrana de corte nominal de 8 kDa para impurezas de peso molecular superior a 8 kDa y, después, con una membrana de corte nominal de 2 kDa para eliminar productos de peso molecular inferior a 2 kDa.

De nuevo, este documento sólo enseña el uso de membranas con un corte nominal igual al del peso molecular mayor que se desea eliminar. Por tanto, este documento tampoco incluye ninguna enseñanza o motivación que hubiera llevado al experto en la materia a elegir una membrana de corte de 1kDa para perfilar la distribución de pesos moleculares de una heparina reduciendo la proporción de cadenas con un peso molecular incluso superior a 1 kDa.

Tal como se deduce de los documentos citados, es evidente que el uso de filtros cuyo corte es de 3 kDa (**D4**) ó de 2 y 8 kDa (**D5**) perfila la molécula porque dichos pesos moleculares entran dentro del rango seleccionado en cada caso. Sin embargo, no sería esperable lograr perfilar las heparinas mediante TFF utilizando un filtro con un valor de corte nominal de $\leq 1\text{ kDa}$, que se conoce que es útil para desalar (eliminación de impurezas de bajo peso molecular) pero no para perfilar cadenas de mayor tamaño.

En vista de lo anterior, el experto en la materia enfrentado con el problema de proporcionar un procedimiento mejorado de obtención de heparinas de bajo peso molecular que permita además perfilar la distribución de pesos moleculares, no encontraría ninguna sugerencia en los documentos citados del estado de la técnica que le llevara a realizar un procedimiento de concentración por TFF utilizando un filtro con un valor de corte nominal de peso molecular inferior al de las fracciones que se desean eliminar.

De hecho, al realizar la filtración TFF con la membrana de corte nominal ≤ 1 kDa, los inventores de la presente solicitud de patente esperaban eliminar únicamente sales y otras impurezas de muy bajo peso molecular y no cadenas oligosacáridicas de la enoxaparaina, ya que para enoxaparina sódica las cadenas oligosacáridicas de menor peso molecular corresponden a un grado de polimerización, DP, de 4 que corresponde a tetrasacárido y a un peso molecular aproximado de 1,2 kDa.

Sorprendentemente, al hacer uso de membranas de corte nominal de ≤ 1 kDa, se observó que no solo tenía lugar una eliminación de impurezas de peso molecular ≤ 1 kDa (que era lo esperable), sino que también en la fracción de permeado se observaban cadenas correspondientes a tetrasacáridos (1,2 kDa), hexasacáridos (1,8 kDa), octasacáridos (2,4 kDa) y hasta decaesacáridos (3,0 kDa). Por lo tanto, el procedimiento de la presente invención que comprende una etapa de filtración TFF utilizando filtros con un corte nominal ≤ 1 kDa, además de permitir una purificación del producto por eliminación de impurezas de bajo peso molecular, también logra perfilar adecuadamente la heparina eliminando una porción de cadenas oligosacáridicas de bajo peso molecular que por su tamaño no deberían eliminarse al usar estos filtros.

En este sentido resulta totalmente inesperado haber encontrado que la filtración TFF con membranas de 1 kDa no solo sirve para eliminar las impurezas de bajo peso molecular, sino que además sirve para perfilar las heparinas dando lugar de una forma muy directa a un producto definitivo con la distribución de pesos moleculares adecuada, es decir, con la actividad anticoagulante y antitrombótica adecuadas.

Como consecuencia, el procedimiento de la presente invención supone una importante mejora frente al procedimiento de **D1**, ya que permite no sólo eliminar impurezas de bajo peso molecular sino también perfilar al mismo tiempo la distribución de pesos moleculares de la heparina, dando lugar por tanto a un proceso más eficiente de obtención de heparinas de bajo peso molecular.

Como se ha demostrado anteriormente, ninguno de los documentos citados menciona o sugiere que la utilización de filtración TFF con una membrana de corte nominal ≤ 1 kDa pudiera proporcionar este resultado.

Por tanto, solo mediante la aplicación de un análisis *ex post facto* podría un experto en la

materia llegar a la presente invención a partir del estado de la técnica, puesto que ninguno de los documentos citados menciona o sugiere la solución propuesta por la presente invención para perfilar la distribución de pesos moleculares en una heparina de bajo peso molecular, de manera que se obtenga una heparina con una proporción reducida de las cadenas de bajo peso molecular, incluidas cadenas de entre 1,2 y 2,4 kDa, y por tanto con la actividad anticoagulante y antitrombótica deseada.

En vista de lo anterior, la reivindicación 1 cumpliría con el requisito de actividad inventiva. Consecuentemente, las reivindicaciones modificadas 2-20 también serían inventivas ya que dependen directa o indirectamente de la reivindicación 1.

Claridad

Por un lado, el examinador objetó las reivindicaciones 1-3 por falta de claridad debido a la presencia del término “aproximadamente”.

En las reivindicaciones adjuntas se ha indicado el significado del término “aproximadamente” en base a la definición que se incluía en la memoria descriptiva. En vista de esta modificación, el experto en la materia podría determinar sin lugar a dudas cuáles son los límites de las reivindicaciones y, por lo tanto, determinar su ámbito de protección. Como consecuencia, las reivindicaciones cumplen con el requisito de claridad.

El examinador objetó las reivindicaciones originales 14 y 15 (reivindicaciones actuales 12 y 13) por falta de claridad alegando que pretende reivindicar la invención mediante una exclusión de lo que el solicitante no ha inventado en lugar de mediante una exposición clara y concisa de lo que ha inventado.

Discrepamos respetuosamente de la opinión del examinador. Estas reivindicaciones no pretenden reivindicar lo que no se ha inventado, sino que simplemente incluyen una limitación negativa, lo cual es admisible siempre que el elemento que se pretenda excluir se defina claramente por sus características técnicas y no produzca ambigüedad o falta de claridad sobre los límites de protección de esas reivindicaciones.

En este sentido, la materia de las reivindicaciones 14 y 15 está dirigida a la invención realizada debido a su dependencia de la reivindicación 1 (que ya incluye todas las características esenciales de la invención) y simplemente añaden como característica técnica una definición que excluye la precipitación fraccionada de la heparina. Además, en la presente invención dicha precipitación no se realiza. Por tanto, contrariamente a la opinión del examinador, las reivindicaciones originales 14 y 15 (reivindicaciones actuales 12 y 13) sí definen la invención realizada.

Soporte en la descripción

El examinador señaló que las reivindicaciones originales 6, 7, 9, 11 y 12 no estaban soportadas por la descripción de la invención.

En concreto, en estas reivindicaciones dependientes se definen realizaciones particulares en relación al momento en el que se realizan las etapas de filtración en profundidad, diafiltración y tratamiento con H_2O_2 , mencionándose que estas etapas se realizan previamente a la primera etapa de concentración mediante TFF cuando se realiza más de una etapa de concentración, mientras que en los ejemplos de la solicitud esas etapas se realizan posteriormente a la primera etapa de concentración mediante TFF cuando se realiza más de una etapa de concentración.

Para solventar esta objeción se han modificado las anteriores reivindicaciones 6, 9, y 11 para indicar que las etapas mencionadas se realizan con posterioridad a la primera etapa de concentración mediante TFF y se han eliminado las reivindicaciones anteriores 7 y 12.

Adjuntos:

- Reivindicaciones modificadas (copia de trabajo y copia en limpio).
- Evidencia experimental adicional.