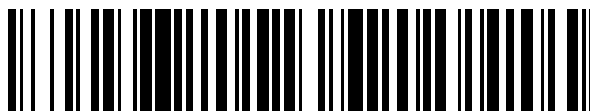


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 732**

51 Int. Cl.:

C07K 14/00 (2006.01)

C12P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2010 E 10715379 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.09.2014 EP 2414384**

54 Título: **Control de composiciones de copolímeros**

30 Prioridad:

30.09.2009 US 247321 P
03.04.2009 US 166608 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.12.2014

73 Titular/es:

MOMENTA PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
675 West Kendall Street
Cambridge, MA 02142, US

72 Inventor/es:

COLEMAN, CLAIRE;
SCHAECK, JOHN y
THOMPSON, ALICIA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 523 732 T3

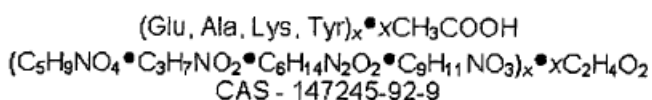
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Control de composiciones de copolímeros.

Antecedentes

5 El acetato de glatiramer (conocido también como copolímero-1 y comercializado como el ingrediente activo en COPAXONE® por Teva Pharmaceutical Industries Ltd., Israel) se utiliza en el tratamiento en la forma recurrente-remitente de la esclerosis múltiple (RRMS). De acuerdo con la etiqueta del producto COPAXONE®, el acetato de glatiramer (GA) está constituido por las sales acetato de polipéptidos sintéticos que contienen cuatro aminoácidos existentes naturalmente: L-ácido glutámico, L-alanina, L-tirosina y L-lisina, con una fracción molar media consignada de 0,141, 0,427, 0,095, y 0,338, respectivamente. Químicamente, el acetato de glatiramer se designa como polímero
10 de L-ácido glutámico con L-alanina, L-lisina y L-tirosina, acetato (sal). Su fórmula estructural es



WO 2007/022193 A2 y WO 2006/029393 A2 dan a conocer métodos de producción de acetato de glatiramer.

Sumario de la invención

15 La invención está basada, al menos en parte, en la identificación de métodos para controlar el nivel de L-ácido piroglutámico (piro-Glu) en acetato de glatiramer (GA). Piro-Glu está presente en GA, y la capacidad para controlar el nivel de piro-Glu en GA es útil para controlar a la vez la calidad del producto y el proceso en la fabricación de GA.

Se describe en esta memoria un método para preparación de una composición que comprende acetato de glatiramer, que comprende: polimerizar N-carboxianhídridos de L-alanina, L-ácido glutámico protegido con bencilo, L-lisina y L-tirosina protegidas con ácido trifluoroacético (TFA) para generar un copolímero protegido (Compuesto Intermedio-1); tratar el copolímero protegido para despolimerizar parcialmente el copolímero protegido y desproteger los grupos protegidos con bencilo generando con ello un producto parcialmente despolimerizado y desprotegido de bencilo (Compuesto Intermedio-2); tratar el producto parcialmente despolimerizado para desproteger las lisinas protegidas con TFA generando con ello un producto desprotegido de TFA (Compuesto Intermedio-3) y procesar
20 ulteriormente el Compuesto Intermedio-3 para crear acetato de glatiramer, en donde la mejora comprende: controlar el agua presente durante al menos una parte del paso de despolimerización que está dentro de un intervalo predeterminado.
25

En diversas realizaciones del método que antecede está presente agua, ajustada o controlada al comienzo del paso de despolimerización; se añade agua durante el paso de despolimerización; el agua presente durante el paso de despolimerización está presente dentro de un intervalo predeterminado (v.g., el intervalo predeterminado es 4-25%,
30 5-25%, 4-20%, 4-16%, 7-15%, 8-14%, 9-13%, 10-12%, 13-19%, 14-18% p/p frente al Compuesto Intermedio-1); la despolimerización procede durante 16-64 horas, preferiblemente al menos 25 horas (v.g., 25-55 horas, al menos 30 horas, 30-50 horas, al menos 40 horas, 43-47 horas); la reacción de despolimerización se lleva a cabo a 17-35°C, v.g., 18-30°C, 18-22°C; el paso de despolimerización comprende poner en contacto el copolímero protegido con una solución que comprende fenol, HBr y ácido acético; la concentración de piro-Glu en el acetato de glatiramer purificado es 2000-7000 ppm (v.g., 2500-6000 ppm; 2500-5500 ppm; 3000-5000 ppm; 3500-4500 ppm, 2400-6500 ppm); el PM del acetato de glatiramer purificado es 5000-9000 Da (v.g., 6500-7500 Da); en una realización está presente agua durante el paso de despolimerización en 11,2% p/p frente al Compuesto Intermedio-1, la despolimerización transcurre durante 43-47 horas a 18-22°C y el proceso produce acetato de glatiramer purificado en el cual está presente piro-Glu en 0,24-0,65% p/p (2400-6500 ppm). La mejora comprende adicionalmente:
40 preparar una composición farmacéutica que comprende al menos una parte del acetato de glatiramer purificado; y en algunos casos el método incluye adicionalmente medir la cantidad de agua en el paso de despolimerización al menos una vez.

Se describe también un método para preparación de una composición que comprende acetato de glatiramer, que comprende: polimerizar N-carboxianhídridos de L-alanina, L-ácido glutámico protegido con bencilo, L-lisina y L-tirosina protegidas con ácido trifluoroacético (TFA) para generar un copolímero protegido; tratar el copolímero protegido para despolimerizar parcialmente el copolímero protegido y desproteger los grupos protegidos con bencilo generando con ello un producto parcialmente despolimerizado; tratar el producto parcialmente despolimerizado para desproteger las lisinas protegidas con TFA generando con ello un producto desprotegido de TFA; y procesar el producto desprotegido de TFA para crear acetato de glatiramer, en donde está presente agua durante al menos una
45 parte del paso de despolimerización.
50

Un método adicional es un método para preparar una composición que comprende acetato de glatiramer, que comprende: polimerizar N-carboxianhídridos de L-alanina, L-ácido glutámico protegido con bencilo, L-lisina y L-tirosina protegidas con ácido trifluoroacético (TFA) para generar un copolímero protegido; tratar el copolímero protegido para despolimerizar parcialmente el copolímero protegido y desproteger los grupos protegidos con bencilo

generando con ello un producto parcialmente despolimerizado; tratar el producto parcialmente despolimerizado para desproteger las lisinas protegidas con TFA generando con ello acetato de glatiramer; y purificar el acetato de glatiramer para crear acetato de glatiramer purificado, en donde está presente agua durante al menos una parte del paso de despolimerización dentro de un intervalo predeterminado.

- 5 Un método adicional descrito es un método para preparar una composición que comprende acetato de glatiramer, que comprende: polimerizar N-carboxianhídridos de L-alanina, L-ácido glutámico protegido con bencilo, L-lisina y L-tirosina protegidas con ácido trifluoroacético (TFA) para generar un copolímero protegido; tratar el copolímero protegido para despolimerizar parcialmente el copolímero protegido y desproteger los grupos protegidos con bencilo generando con ello un producto parcialmente despolimerizado; tratar el producto parcialmente despolimerizado para desproteger las lisinas protegidas con TFA generando con ello un producto desprotegido de TFA; y procesar el producto desprotegido de TFA; para crear acetato de glatiramer, en donde el agua presente durante al menos una parte del paso de despolimerización se controla de modo que esté dentro de un intervalo predeterminado.

- 10 En variaciones de los métodos que anteceden está presente agua, ajustada o controlada al comienzo del paso de despolimerización; se añade agua durante el paso de despolimerización; el agua presente durante el paso de despolimerización está presente dentro de un intervalo predeterminado (v.g., el intervalo predeterminado es 4-25%, 5-25%, 13-19%, 14-18% p/p frente al Compuesto Intermedio-1); la despolimerización transcurre durante al menos 25 horas (v.g., al menos 30 horas o al menos 40 horas); el paso de despolimerización comprende poner en contacto el copolímero protegido con una solución que comprende fenol, HBr y ácido acético; la concentración de piro-Glu en el acetato de glatiramer purificado es 2000-7000 ppm (v.g., 2500-6000 ppm; 2500-5500 ppm; 3000-5000 ppm; 3500-4500 ppm, 2400-6500 ppm (0,24%-0,65% p/p); el PM del acetato de glatiramer purificado es 5000-9000 Da (v.g., 6500-7500 Da); la mejora comprende adicionalmente: preparar una composición farmacéutica que comprende al menos una parte del acetato de glatiramer purificado; el paso de tratamiento del producto parcialmente despolimerizado para desproteger las lisinas protegidas con TFA comprende tratar el producto despolimerizado con piperidina; el copolímero protegido se aísla y se seca al menos parcialmente antes de tratar el copolímero protegido para despolimerizar parcialmente el copolímero protegido y desproteger los grupos protegidos con bencilo; el producto parcialmente despolimerizado se aísla y se seca al menos parcialmente antes del paso del tratamiento del producto parcialmente despolimerizado para desproteger las lisinas protegidas con TFA; en algunos casos, el método incluye adicionalmente medir la cantidad de agua en el paso de despolimerización al menos una vez.

- 15 Como se utiliza en esta memoria, un "copolímero", "copolímero de aminoácidos" o "preparación de copolímero de aminoácidos" es una mezcla heterogénea de polipéptidos que comprende una pluralidad definida de diferentes aminoácidos (típicamente entre 2-10, v.g. entre 3-6, aminoácidos diferentes). Un copolímero puede prepararse a partir de la polimerización de aminoácidos individuales. El término "aminoácido" no se limita a los aminoácidos existentes naturalmente, sino que puede incluir derivados de aminoácidos y/o análogos de aminoácidos. Por ejemplo, en un copolímero de aminoácidos que comprende aminoácidos de tirosina, uno o más de los aminoácidos pueden ser una homotirosina. Adicionalmente, un copolímero de aminoácidos que tiene uno o más enlaces no peptídicos o peptidomiméticos entre dos residuos adyacentes está incluido dentro de esta definición.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 representa la estructura de piro-Glu.

- 20 La Figura 2 es un gráfico que representa los resultados de estudios acerca del efecto de la presencia de agua en la reacción de despolimerización utilizada en la producción de acetato de glatiramer.

Descripción detallada de la invención

- 25 Además de una exposición acerca del peso molecular y la composición de aminoácidos, que se citan en la etiqueta aprobada para el producto por la FDA, la etiqueta y otra bibliografía disponible para COPAXONE® no proporciona información detallada acerca de las características fisicoquímicas del producto. Se ha encontrado previamente que piro-Glu (Figura 1) es un componente de COPAXONE® (acetato de glatiramer o GA) que está presente dentro de un intervalo predeterminado (US Serial No. 12/408058). Por ejemplo, en muchos casos el contenido de piro-Glu de una preparación de GA puede estar comprendido entre 2000 ppm y 7000 ppm o 2400-6500 ppm.

- 30 La producción de GA implica polimerización de aminoácidos para producir una mezcla de péptidos, a la que se hace referencia como Compuesto Intermedio-1, seguido por despolimerización y desprotección parciales del Compuesto Intermedio-1 para producir Compuesto Intermedio-2. Se ha encontrado ahora que el nivel de piro-Glu en GA puede ser controlado eficazmente por control del agua presente durante el paso de despolimerización del proceso de fabricación de GA, por ejemplo, por ajuste del contenido de agua al comienzo de y/o durante el paso de polimerización; v.g., por adición de agua a un nivel predeterminado al comienzo o durante el paso de despolimerización. Además, se ha encontrado ahora que por un control (v.g. ajuste) apropiado de la cantidad de agua presente durante el paso de despolimerización y la duración del paso de despolimerización es posible producir GA con un contenido especificado de piro-Glu y un peso molecular (PM) máximo especificado. En muchos casos se especifica que el contenido de piro-Glu del copolímero o GA sea 2000 a 7000 ppm, v.g., 2500-5500 ppm, v.g., 3000-5000 ppm, v.g., 3500-4500 ppm, 2400-6500 ppm, y el agua presente durante la reacción de despolimerización o

añadida al final de la reacción de despolimerización se controla o se ajusta preferiblemente para alcanzar este contenido de piro-Glu especificado. En muchos casos es deseable tener un peso molecular (PM) máximo de GA que es 5000 a 9000 Da, v.g., 6000 a 8000 Da, cuando se mide como se describe en la Patente U.S. 7.074.580.

Fabricación de Acetato de Glatiramer

5 Generalmente, el proceso para la fabricación de acetato de glatiramer incluye los pasos siguientes:

Paso 1: polimerización de N-carboxianhídridos de L-alanina, L-ácido glutámico protegido con bencilo, L-lisina y L-tirosina protegidas con ácido trifluoroacético (TFA) (a los que se hace referencia colectivamente como NCAs) para dar como resultado un copolímero protegido (Compuesto Intermedio-1),

10 Paso 2: despolimerización y desprotección de bencilo del Compuesto Intermedio-1 utilizando ácido bromhídrico en ácido acético (v.g. HBr al 33%/ácido acético tratado con fenol), y

Paso 3: desprotección de las lisinas protegidas con TFA en el Compuesto Intermedio-2 (v.g. por tratamiento con piperidina) para crear Compuesto Intermedio-3, seguido por procesamiento para generar GA y purificación y secado ulteriores de la sustancia fármaco GA aislada.

15 En el Paso 1 de la fabricación de GA, los NCAs se co-polimerizan en una ratio predeterminada utilizando dietilamina como iniciador. Después del consumo de los componentes NCA, la mezcla de reacción se apaga en agua. El polímero protegido resultante (Compuesto Intermedio-1) se aísla y se seca. En el Paso 2 de la fabricación de GA, el Compuesto Intermedio-1 se trata con HBr al 33% tratado con fenol en ácido acético (HBr/AcOH). Esto da como resultado la escisión del grupo protector bencilo en los ácidos glutámicos así como la escisión de los enlaces peptídicos en todo el polímero. Después de cierto periodo de tiempo, la reacción se apaga con agua, y el polímero producido se aísla por filtración y se lava con agua. El polímero producido, Compuesto Intermedio-2, tiene un peso molecular reducido con relación al Compuesto Intermedio-1. El Compuesto Intermedio-2 se seca antes de proceder al Paso 3. En el Paso 3, el Compuesto Intermedio-2 se trata con piperidina acuosa para eliminar el grupo trifluoroacetilo en las lisinas. El copolímero resultante, Compuesto Intermedio-3, se purifica subsiguientemente utilizando diafiltración/ultrafiltración y la sal acetato resultante se seca para producir la sustancia fármaco Acetato de Glatiramer.

20

25

Métodos para la fabricación de GA se describen en las publicaciones siguientes: Patente U.S. No. 3.849.550; WO 95/031990 y US 2007-0021324.

Control de piro-Glu y despolimerización con Agua

30 Como se muestra más adelante, GA con un contenido de piro-Glu de aproximadamente 4000 ppm y un peso molecular (PM) máximo aproximado de 7000 Da puede prepararse teniendo agua presente en la reacción de despolimerización en aproximadamente 16% p/p frente al Compuesto Intermedio-1. Si bien la cantidad de agua presente se expresa aquí con relación a la cantidad de Compuesto Intermedio-1, la cantidad de agua presente puede expresarse de cualquier manera convencional, por ejemplo: p/p frente al peso de Compuesto Intermedio-1 añadido a la reacción de despolimerización; p/p frente al peso de fenol utilizado para tratar el HBr/ácido acético

35 añadido a la reacción de despolimerización; p/p frente al peso total de HBr/ácido acético añadido a la reacción de despolimerización; v/v frente al volumen total de HBr/ácido acético añadido a la reacción de despolimerización; o p/p frente al peso total de la reacción de despolimerización. Así pues, la cantidad de agua presente con relación a HBr/AcOH sobre una base v/v puede calcularse a partir de la cantidad de agua presente con relación al Compuesto Intermedio-1 sobre una base p/p como sigue:

40

$$\text{Vol}_{(\text{agua})}/\text{Vol}_{(\text{HBr/AcOH})} = (\text{P}_{(\text{agua})}/\text{P}_{(\text{Compuesto Intermedio-1})}) \times (\text{P}_{(\text{Compuesto Intermedio-1})}/\text{P}_{(\text{HBr/AcOH})}) \times (\text{P}_{(\text{HBr/AcOH})}/\text{Vol}_{(\text{HBr/AcOH})}) \times (\text{Vol}_{(\text{agua})}/\text{P}_{(\text{agua})}) = (\text{P}_{(\text{agua})}/\text{P}_{(\text{Compuesto Intermedio-1})}) \times (\text{P}_{(\text{Compuesto Intermedio-1})}/\text{P}_{(\text{HBr/AcOH})}) \times (\text{Densidad}_{(\text{HBr/AcOH})}/\text{Densidad}_{(\text{agua})})$$

45 El agua presente durante la reacción de despolimerización puede incluir agua presente en el Compuesto Intermedio-1 añadido a la reacción de despolimerización (v.g. por utilización de Compuesto Intermedio-1 que no está totalmente seco) y/o agua que se añade al comienzo o durante la reacción de despolimerización. Así pues, la cantidad de agua presente durante al menos una parte de la reacción de despolimerización puede controlarse por adición de agua a la reacción para alcanzar un nivel predeterminado de agua o por tener cierta cantidad de agua presente en el Compuesto Intermedio-1 añadido a la reacción o por una combinación de adición de agua y tener agua presente en el Compuesto Intermedio-1. Así pues, la cantidad de agua presente puede controlarse teniendo simplemente una cantidad razonablemente consistente de agua presente en el Compuesto Intermedio-1. El agua puede añadirse a la reacción de despolimerización en cualquier momento, pero más a menudo está presente a un nivel predeterminado, v.g., 4-25%, 5-25%, 10-20%, 4-20%, 4-16%, 7-15%, 8-14%, 9-13%, 10-12%, 13-19%, 14-18%, 15-17%, o 16% p/p frente al peso de Compuesto Intermedio-1, al comienzo de la reacción de despolimerización. Dado que la reacción

50

de despolimerización puede a la vez consumir y producir agua, la cantidad de agua presente puede cambiar ligeramente a lo largo del curso de la reacción de despolimerización.

La cantidad de agua presente durante el paso de despolimerización puede impactar en el contenido de piro-Glu y el peso molecular del GA resultante, como se muestra por los experimentos descritos a continuación. No obstante, la cantidad de agua presente durante el paso de despolimerización puede variar dentro de un intervalo razonable y ser compatible todavía con la producción de GA que tiene un contenido de piro-Glu y peso molecular deseables.

Ejemplos

Ejemplo 1

El efecto del agua presente durante el paso de despolimerización, Paso 2, sobre el contenido de piro-Glu y el peso molecular del GA resultante se examinó como sigue. Se produjo Compuesto Intermedio-1 como se ha descrito arriba y se dividió entre dos reacciones de despolimerización (A y B). Para la reacción de Despolimerización A, no se añadió cantidad alguna de agua. Para la reacción de Despolimerización B, se añadió agua hasta 16% p/p medido frente al Compuesto Intermedio-1. Se dejó transcurrir la despolimerización a 20°C. Partes alícuotas retiradas periódicamente de cada reacción se apagaron con agua y se procesaron ulteriormente para producir GA. Se midieron el contenido de piro-Glu (ppm), medido como se describe a continuación, y el peso molecular (PM) máximo de cada una de las muestras de GA resultantes. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 2. La escala de peso molecular (PM) (Da) se encuentra en el eje de la izquierda, y la escala de concentración de piro-Glu (ppm) en el eje de la derecha. El tiempo de la reacción de Despolimerización A (sin agua añadida) se encuentra en el eje horizontal superior, y el tiempo de la reacción de Despolimerización B (con agua presente al 16% p/p frente al Compuesto Intermedio-1) se representa en el eje horizontal inferior. La escala del gráfico es tal que la línea horizontal marcada "punto medio del intervalo deseado de GPC-PM (Da)/punto medio del intervalo deseado de piro-Glu (ppm)" indica a la vez un peso molecular (PM) deseable (7000 Da) y una concentración de piro-Glu deseable para GA (4000 ppm). Las líneas marcadas MW_A y MW_B representan el peso molecular PM del GA producido a partir del material eliminado de la reacción de Despolimerización A y la reacción de Despolimerización B, respectivamente, en diversos momentos. Las líneas marcadas Py_A y Py_B representan la concentración de piro-Glu en el GA producido a partir del material eliminado de la reacción de Despolimerización A y la reacción de Despolimerización B, respectivamente, en diversos momentos.

En ausencia de agua añadida, no se alcanza la combinación deseada de peso molecular y concentración de piro-Glu. Como se puede ver en la Figura 2, después de aproximadamente 12 horas (escala en el eje horizontal superior) la reacción de Despolimerización A (sin agua añadida) produce un material que proporciona GA que tiene una concentración de piro-Glu deseada (aproximadamente 4000 ppm), pero el peso molecular (PM) del GA es aproximadamente 7400 Da, por encima del 7000 Da deseado. Como se puede ver también en la Figura 2, después de aproximadamente 26 horas (escala en el eje horizontal superior), la reacción de Despolimerización A (sin agua añadida) produce un material que proporciona GA que tiene un PM deseado (aproximadamente 7000 Da), pero la concentración de piro-Glu del GA es mayor que 6000 ppm, que está por encima de 4000 ppm (el punto medio del intervalo deseado). En contraste, cuando se añade agua a la reacción de despolimerización hasta 16% (p/p) frente al Compuesto Intermedio-1, se alcanza la combinación deseada de peso molecular y concentración de piro-Glu. Como se puede ver también por la Figura 2, después de aproximadamente 43 horas, la reacción de Despolimerización B (16% de agua p/p frente al Compuesto Intermedio-1) produce un material que proporciona GA que tiene un peso molecular deseado (PM aproximadamente 7000 Da) y una concentración de piro-Glu deseada (aproximadamente 4000 ppm).

Ejemplo 2

En el estudio arriba descrito, la concentración de GA en piro-Glu se midió como sigue. Se escindieron residuos piro-Glu N-terminales utilizando piro-glutamato-aminopeptidasa de *Pyrococcus furiosus*. Se aísla piro-Glu en el hidrolizado enzimático resultante por cromatografía líquida en fase inversa seguido por detección a 200 nm utilizando una curva estándar de referencia preparada con concentraciones conocidas de L-piro-glutamato. Se ensaya la neurotensina (un polipéptido disponible comercialmente que tiene 100% de piro-glutamato en el término N) como control para asegurar la aceptabilidad de la digestión y adecuación de la separación por HPLC. El análisis cromatográfico se realiza utilizando una columna de HPLC Waters Atlantis C18 y una fase móvil isocrática constituida por 100% de agua, ajustada a pH 2,1 con ácido fosfórico. Las muestras y los estándares se mantienen a 2-8°C. El pico correspondiente al resto piro-glutamato se eluye en un tiempo de retención de aproximadamente 12 minutos. La medida directa del contenido de piro-glutamato se realiza sobre una base p/p y los resultados se expresan como ppm (microgramos/gramo).

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una composición que comprende acetato de glatiramer purificado, que comprende: polimerizar N-carboxianhídridos de L-alanina, L-ácido glutámico protegido con bencilo, L-lisina y L-tirosina protegidas con ácido trifluoroacético (TFA) para generar un copolímero protegido (Compuesto Intermedio-1);
- 5 2. tratar el Compuesto Intermedio-1 para despolimerizar parcialmente el copolímero protegido y desproteger los grupos protegidos con bencilo generando con ello un producto parcialmente despolimerizado (Compuesto Intermedio-2); tratar el Compuesto Intermedio-2 para desproteger las lisinas protegidas con TFA generando con ello acetato de glatiramer; y
- 10 3. purificar el acetato de glatiramer para crear acetato de glatiramer, en donde está presente agua durante al menos una parte del paso de despolimerización, en donde el agua presente durante al menos una parte del paso de despolimerización se controla de modo que esté dentro de un intervalo predeterminado.
4. El método de la reivindicación 1 en el que está presente agua al comienzo del paso de despolimerización.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 en el que se añade agua durante el paso de despolimerización.
- 15 6. El método de la reivindicación 1, en el que el intervalo predeterminado es 4-25% p/p frente al Compuesto Intermedio-1.
7. El método de la reivindicación 1, en el que el intervalo predeterminado es 13-19% p/p frente al Compuesto Intermedio-1.
- 20 8. El método de la reivindicación 1, en el que el intervalo predeterminado es 14-18% p/p frente al Compuesto Intermedio-1.
9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en el que la despolimerización transcurre durante al menos 25 horas.
10. El método de la reivindicación 7, en el que la despolimerización transcurre durante al menos 30 horas.
11. El método de la reivindicación 8, en el que la despolimerización transcurre durante al menos 40 horas.
- 25 12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el paso de despolimerización comprende poner en contacto el copolímero protegido con una solución que comprende fenol, HBr y ácido acético.
13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la concentración de piroglutamato en el acetato de glatiramer purificado es 2000-7000 ppm.
- 30 14. El método de la reivindicación 11, en el que la concentración de piroglutamato en el acetato de glatiramer purificado es 2500-5500 ppm.
15. El método de la reivindicación 11, en el que la concentración de piroglutamato en el acetato de glatiramer purificado es 3000-5000 ppm.
16. El método de la reivindicación 11, en el que la concentración de piroglutamato en el acetato de glatiramer purificado es 3500-4500 ppm.
- 35 17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en el que el PM del acetato de glatiramer purificado es 5000 a 9000 Da.
18. El método de la reivindicación 15, en el que el PM del acetato de glatiramer purificado es 6500-7500 Da.
19. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en el que el Compuesto Intermedio-1 se aísla y se seca al menos parcialmente antes de tratar el Compuesto Intermedio-1 para despolimerizar parcialmente el copolímero protegido y desproteger los grupos protegidos con bencilo.
- 40 20. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en el que el Compuesto Intermedio-2 se aísla y se seca al menos parcialmente antes del paso de tratamiento del producto parcialmente despolimerizado para desproteger las lisinas protegidas con TFA.
- 45 21. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en el que el paso de tratamiento del producto Compuesto Intermedio-2 para desproteger las lisinas protegidas con TFA comprende tratar el Compuesto Intermedio-2 con piperidina.
22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que comprende adicionalmente medir la cantidad de agua en el paso de despolimerización al menos una vez.

21. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, que comprende adicionalmente: preparar una composición farmacéutica que comprende al menos una porción del acetato de glatiramer purificado.
22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, en el que está presente agua durante el paso de despolimerización en 11,2% p/p frente al Compuesto Intermedio-1.
- 5 23. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, que comprende despolimerizar el Compuesto Intermedio-1 durante 43-47 horas a 18-22°C.
24. El método de la reivindicación 1, en el que está presente agua durante la reacción de despolimerización en un nivel que produce acetato de glatiramer purificado con una concentración de piroglutamato de 2000-7000 ppm y un PM de 5000-9000 Da.
- 10 25. El método de la reivindicación 1, en el que está presente agua durante la reacción de despolimerización dentro de un intervalo predeterminado que proporciona acetato de glatiramer purificado con una concentración de piroglutamato de 2000-7000 ppm y un PM de 5000-9000 Da.
- 15 26. El método de la reivindicación 1, en el que el agua presente durante al menos una parte del paso de despolimerización se controla de modo que esté comprendida dentro de un intervalo predeterminado que proporciona acetato de glatiramer purificado con una concentración de piroglutamato de 2000-7000 ppm y un PM de 5000-9000 Da.

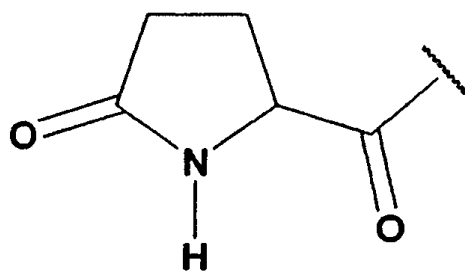


FIGURA 1

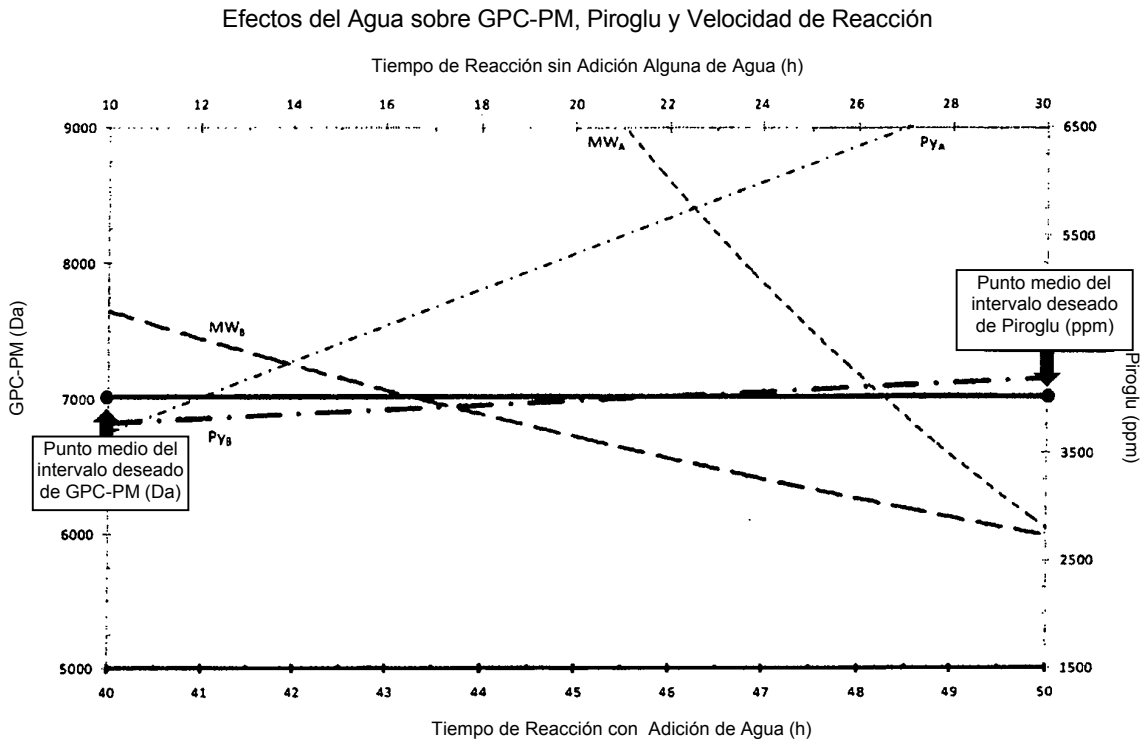


FIGURA 2