(11) Número de Publicação: **PT 2361924 E**

(51) Classificação Internacional:
C07K 1/00 (2013.01) ***C07K 1/14*** (2013.01)
C07K 14/00 (2013.01) ***C08G 69/10*** (2013.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2005.09.09**

(30) Prioridade(s): **2004.09.09 US 608843 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2011.08.31**

(45) Data e BPI da concessão: **2013.12.11**
051/2014

(73) Titular(es):
TEVA PHARMACEUTICAL INDUSTRIES LTD.
5 BASEL STREET P.O. BOX 3190 49131 PETAH TIQVA **IL**

(72) Inventor(es):
BEN-ZION DOLITZKY **IL**

(74) Mandatário:
NUNO MIGUEL OLIVEIRA LOURENÇO
RUA CASTILHO, Nº 50 - 9º 1269-163 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE MISTURAS DE ACETATO DE GLATIRÂMERO TRIFLUOROACETIÍLICO UTILIZANDO ÁCIDO BROMÍDRICO PURIFICADO**

(57) Resumo:
PRESENTE INVENÇÃO PROVIDENCIA UM PROCESSO MELHORADO PARA OBTENÇÃO DE UMA MISTURA DE POLIPÉPTIDOS QUE POSSUEM SEQUÊNCIAS DE AMINOÁCIDOS NÃO UNIFORMES, EM QUE CADA POLIPÉPTIDO É CONSTITUÍDO ESSENCIALMENTE POR ALANINA, ÁCIDO GLUTÂMICO, TIROSINA E LISINA EM QUE A MISTURA DE POLIPÉPTIDOS RESULTANTE COMPREENDE MENOS DE 0,3 % DE TIROSINA BROMADA E MENOS DE 1000 PPM DE IMPUREZAS DE IÃO METÁLICO.

RESUMO

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE MISTURAS DE ACETATO DE GLATIRÂMERO TRIFLUOROACETIÍLICO UTILIZANDO ÁCIDO BROMÍDRICO PURIFICADO"

A presente invenção providencia um processo melhorado para obtenção de uma mistura de polipéptidos que possuem sequências de aminoácidos não uniformes, em que cada polipéptido é constituído essencialmente por alanina, ácido glutâmico, tirosina e lisina em que a mistura de polipéptidos resultante compreende menos de 0,3 % de tirosina bromada e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico.

DESCRIÇÃO

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE MISTURAS DE ACETATO DE GLATIRÂMERO TRIFLUOROACETIÍLICO UTILIZANDO ÁCIDO BROMÍDRICO PURIFICADO"

Fundamentos da Invenção

Uma mistura de polipéptidos em que nem todos possuem a mesma sequência de aminoácidos conhecida como acetato de glatirâmero (GA) é comercializada sob a marca comercial Copaxone® e compreende os sais de acetato de polipéptidos que contêm ácido L-glutâmico, L-alanina, L-tirosina e L-lisina a fracções molares médias de 0,141, 0,427, 0,095 e 0,338, respectivamente. O peso molecular médio de Copaxone® está entre 4 700 e 11 000 daltons. ("Copaxone", Physician's Desk Reference, (2000), Medical Economics Co., Inc., (Montvale, NJ), 3115.) Quimicamente, o acetato de glatirâmero é designado polímero de ácido L-glutâmico com L-alanina, L-lisina, L-tirosina, acetato (sal). A sua fórmula estrutural é:

$(Glu, Ala, Lys, Tyr)_{\chi} \cdot \chi CH_3COOH$

$(C_5H_9NO_4 \cdot C_3H_7NO_2 \cdot C_9H_{11}NO_3)_{\chi} \cdot \chi C_2H_4O_2$

CAS - 147245-92-9

("Copaxone", Physician's Desk Reference, (2000), Medical Economics Co., Inc., (Montvale, NJ), 3115.)

O acetato de glatirâmero está aprovado para redução da frequência de recaídas em pacientes com esclerose múltipla remitente - recorrente. A esclerose múltipla foi

classificada como uma doença autoimune. O acetato de glatirâmero foi também revelado para uso no tratamento de outras doenças autoimunes (Publicação N.° US 2002/0055466 A1 de R. Aharoni *et al.*), doenças inflamatórias não autoimunes (Publicação N.° US 2005/0014694 A1 de V. Wee Yong *et al.*; e Pedido de Patente U.S. N.° 2002/0077278 A1, publicada a 20 de Junho de 2002 (Young *et al.*)) e para promover a regeneração de nervos e/ou para prevenir ou inibir a degeneração secundária que poderá surgir após a lesão primária do sistema nervoso (Publicação N.° US 2003/0004099 A1 de M. Eisenbach-Schwartz *et al.*; e Pedido de Patente U.S. N.° 2002/0037848 A1, publicada a 28 de Março de 2002 (Eisenbach-Schwartz)). Além disso, o acetato de glatirâmero foi descrito como um tratamento para doenças mediadas pelo sistema imunitário (*e.g.*, Patente U.S. N.° 6,514,938 B1, publicada a 4 de Fevereiro de 2003 (Gad *et al.*); Publicação Internacional PCT N.° WO 01/60392, publicada a 23 de Agosto de 2001 (Gilbert *et al.*); e Publicação Internacional PCT No. WO 00/27417, publicada a 19 de Maio de 2000 (Aharoni *et al.*) bem como doenças associadas com a desmielinização (Publicação Internacional PCT N.° WO -1/97846, publicada a 27 de Dezembro de 2001 (Moses *et al.*).

O processo de fabrico como detalhado nas patentes acima envolve a reação de polipéptidos protegidos com ácido bromídrico a 33 % em ácido acético (Patente U.S. N.° 5,800,808, concedida a 1 de Setembro de 1998 por Konfino, *et al.*) Esta reação de desproteção remove o grupo de proteção gama-benzilo do 5-carboxilato do resíduo glutamato e quebra o polímero em polipéptidos mais pequenos para formar um polipéptido de trifluoroacetilo. (Patente U.S. N.° 5,800,808, publicada a 1 de Setembro de 1998 de Konfino, *et al.*) O tempo necessário para se obter o GA de

um peso molecular médio adequado de entre 7 000 ± 2 000 daltons depende da temperatura reacional e do perfil do peso molecular do acetato de glatirâmero protegido. (Patente U.S. N.° 5,800,808, publicada a 1 de Setembro de 1998 de Konfino, *et al.*) A desproteção ocorre a uma temperatura de entre 20 °C e 28 °C (Patente U.S. N.° 5,800,808, publicada a 1 de Setembro de 1998 de Konfino, *et al.*). É realizada uma reação de teste em cada lote a diferentes períodos de tempo para determinar o tempo de reação necessário a uma dada temperatura para se atingirem os polipéptidos de trifluoroacetilo com um perfil de peso molecular adequado. (Patente U.S. N.°. 5,981,589, publicada a 9 de Novembro de 1999 de Konfino, *et al.)*. O tempo necessário para a reação vária, por exemplo, entre 10 e 50 horas. (Patente U.S. N.° 5,800,808, publicada a 1 de Setembro de 1998 de Konfino, *et al.*). Adicionalmente, as Patentes U.S. N.°s 5,981,589, 6,048,898, 6,054,430, 6,342,476, 6,362,161, e 6,620,847, também se relacionam com composições e métodos de fabrico de misturas de polipéptidos, incluindo GA.

Esta invenção providencia um processo de fabrico melhorado.

Sumário da Invenção

A presente invenção providencia um processo para se obter uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacético, em que a mistura possui um peso molecular médio desejado e em que durante o processo um lote de uma mistura de polipéptidos, cada um dos quais é constituído por alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina é desprotegido com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,1 % de bromo livre.

A presente invenção também providencia um processo para se obter uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico em que a mistura tem um peso molecular médio desejado e em que durante o processo um lote de uma mistura de polipéptidos, cada um dos quais é constituído por alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina é desprotegido com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

A presente invenção providencia adicionalmente um processo de produzir uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico em que a mistura tem um peso molecular médio desejado compreendendo a desproteção de uma mistura de polipéptidos cada um consistindo de alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

Aqui também é revelada uma composição que compreende o produto trifluoroacetilo produzido por qualquer um dos processos da presente invenção, e um veículo.

A presente invenção providencia adicionalmente uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico em que a mistura tem um peso molecular médio desejado, não superior a 0,1 % de tirosina bromada e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico. É também revelada aqui uma composição que compreende a mistura de trifluoroacetilo e um veículo.

A presente invenção também providencia um processo para se obter uma composição farmacêutica que contém uma mistura de

acetato de glatirâmero, e em que a mistura tem um peso molecular médio desejado, que compreende

a) polimerizar N-carboxianidridos de tirosina, alanina, glutamato de γ-benzilo e N-trifluoroacetilisina para formar uma mistura de polipéptidos protegidos;

b) desproteger os polipéptidos protegidos com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, a solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico, para formar uma mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo;

c) fazer reagir uma mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo com piperidina aquosa para formar uma solução de mistura aquosa de polipéptidos, cada dos quais é constituído por alanina, ácido glutâmico, tirosina e lisina; e

d) purificar a mistura de polipéptidos.

A presente invenção providencia adicionalmente um processo de produzir acetato de glatirâmero que compreende os passos de:

a) polimerizar N-carboxianidridos de tirosina, alanina, glutamato de γ-benzilo e N-trifluoroacetilisina para formar o acetato de glatirâmero protegido;

b) desproteger o acetato de glatirâmero protegido com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético,

a solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico, para formar o acetato de glatirâmero trifluoroacetílico;

c) fazer reagir o acetato de glatirâmero trifluoroacetílico com piperidina aquosa para formar uma solução de acetato de glatirâmero; e

d) purificar o acetato de glatirâmero.

A presente invenção também providencia um processo para preparar uma composição farmacêutica que contém uma mistura de polipéptidos, em que a mistura tem uma percentagem pré-determinada de tirosina bromada aceitável para inclusão numa composição farmacêutica, que compreende a obtenção de um lote de uma mistura de polipéptidos possuindo sequências de aminoácidos não uniformes, em que cada polipéptido é constituído por ácido glutâmico, alanina, tirosina e lisina; medição da percentagem de tirosina bromada do lote por um processo que compreende

a) hidrolisar o lote para se obter um hidrolisado;

b) eluir o hidrolisado através de uma coluna cromatográfica;

c) medir o nível de bromotirosina no hidrolisado;

d) preparar soluções de amostra dos componentes de aminoácidos do lote e de bromotirosina;

e) eluir as soluções de amostra através da coluna do passo b); e

f) calcular a percentagem de tirosina bromada no lote; e

incluir na composição farmacêutica um lote apenas se a sua percentagem de tirosina bromada assim medida for inferior a 0,3 %.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção providencia um processo para se obter uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura possui um peso molecular médio desejado e em que durante o processo é desprotegido um lote de uma mistura de polipéptidos, cada um dos quais é constituído por alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, o melhoramento compreendendo a utilização de uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,1 % de bromo livre.

Numa concretização, o melhoramento compreende adicionalmente a utilização de uma solução de ácido bromídrico em ácido acético que compreende menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

A presente invenção providencia adicionalmente um processo para obtenção de uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado e em que durante o processo é desprotegido um lote de uma mistura de polipéptidos, cada um dos quais é constituído por alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, o melhoramento compreendendo a utilização de uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

A presente invenção providencia ainda adicionalmente um processo de produzir uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura possui um peso molecular médio desejado que compreende desproteger uma mistura de polipéptidos cada um consistindo de alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

Numa concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 0,1 % de bromo livre.

Noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 0,05 % de bromo livre.

Numa concretização adicional, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 0,01 % de bromo livre.

Ainda noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 0,001 % de bromo livre.

Numa concretização adicional, a solução de ácido bromídrico em ácido acético está isenta de bromo livre.

Noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico.

Ainda noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

Numa concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 100 ppm de impurezas de ião metálico.

Noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 30 ppm de impurezas de ião metálico.

Ainda noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 20 ppm de impurezas de ião metálico.

Numa concretização adicional, a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 10 ppm de impurezas de ião metálico.

Noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético está isenta de impurezas de ião metálico.

Ainda noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo é acetato de glatirâmero trifluoroacetilíco ("TFA GA").

Numa concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético é desde 10 % a 36 % de ácido bromídrico em ácido acético. Noutra concretização, o ácido bromídrico em ácido acético é desde 16 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 18 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 20 % a 37 % de ácido bromídrico em ácido acético; 20 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 22 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 24 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 25 % a 35 % de ácido bromídrico em ácido acético; 26 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 28 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 30 % a 34 % de ácido

bromídrico em ácido acético; 30 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; ou 32 % a 33 % de ácido bromídrico em ácido acético. Numa concretização adicional, a solução é 33 % de ácido bromídrico em ácido acético. Noutra concretização, a solução é 16 % de ácido bromídrico em ácido acético.

Noutra concretização, a solução é pré-tratada com um sequestrante de bromo de modo a remover o bromo livre.

Numa concretização, o sequestrante de bromo é fenol.

Numa concretização adicional, a solução é produzida num reator não metálico.

Noutra concretização, a solução é preparada num reator revestido com vidro ou revestido com Teflon.

Ainda noutra concretização, a cor do ácido bromídrico na solução de ácido acético é inferior a 2000 APHA.

Numa concretização adicional, a cor do ácido bromídrico na solução de ácido acético é inferior a 1000 APHA.

Noutra concretização, a cor do ácido bromídrico na solução de ácido acético é inferior a 700 APHA.

Ainda noutra concretização, a cor do ácido bromídrico na solução de ácido acético é inferior a 500 APHA.

A presente invenção também providencia um produto de trifluoroacetilo produzido por qualquer um dos processos revelados.

A presente invenção também providencia um produto de acetato de glatirâmero produzido por qualquer um dos processos revelados.

A presente invenção também providencia a utilização de qualquer uma das misturas reveladas de acetato de glatirâmero de trifluoroacetílico no fabrico de acetato de glatirâmero.

É também aqui revelada uma composição que compreende o produto de trifluoroacetilo produzido por qualquer um dos processos revelados, e um veículo.

A presente invenção providencia adicionalmente uma composição que compreende o produto de trifluoroacetilo produzido por qualquer uma dos processos revelados, e um veículo.

A presente invenção providencia ainda adicionalmente uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado, não superior a 0,1 % de tirosina bromada e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico.

A presente invenção providencia também uma mistura de acetato de glatirâmero, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado, e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico.

Numa concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo possui um peso molecular médio desde 2 000 daltons até 40 000 daltons.

Noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo possui um peso molecular médio desde 4 000 daltons até 18 000 daltons.

Numa concretização adicional, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo possui um peso molecular médio desde 4 000 daltons até 13 000 daltons.

Noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo possui um peso molecular médio desde 13 000 daltons até 19 000 daltons.

Ainda noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo possui um peso molecular médio desde 13 500 daltons até 18 500 daltons.

Numa concretização adicional, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo tem um peso molecular médio de 7 000 ± 2 000 daltons.

Ainda noutra concretização adicional, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo tem um peso molecular médio de 7 000 daltons.

Noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo tem um peso molecular médio de 14 000 daltons.

Ainda noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo tem um peso molecular médio de 4 700 – 11 000 daltons.

Numa concretização adicional, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo compreende menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico.

Ainda noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo compreende menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

Numa concretização adicional, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo compreende menos de 100 ppm de impurezas de ião metálico.

Noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo compreende menos de 30 ppm de impurezas de ião metálico.

Numa concretização adicional, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo compreende menos de 20 ppm de impurezas de ião metálico.

Noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo compreende menos de 10 ppm de impurezas de ião metálico.

Ainda noutra concretização, a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo está isenta de impurezas de ião metálico.

Numa concretização, a cor da mistura é inferior a 1000 APHA.

Noutra concretização, a cor da mistura é inferior a 700 APHA.

Ainda noutra concretização, a cor da mistura é inferior a 500 APHA.

Também é aqui revelado uma composição compreendendo a mistura acima de polipéptidos de trifluoroacetilo e um veículo.

A presente invenção providencia adicionalmente um processo para obtenção de uma composição farmacêutica que contém uma mistura de acetato de glatirâmero, e em que a mistura tem um peso molecular médio desejado, que compreende,

a) polimerizar os *N*-carboxianidridos de tirosina, alanina, glutamato de γ-benzilo e N-trifluoroacetilisina para formar uma mistura aquosa de polipéptidos protegidos;

b) desproteger os polipéptidos protegidos com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico, para formar uma mistura aquosa de polipéptidos de trifluoroacetilo;

c) fazer reagir uma mistura aquosa de polipéptidos de trifluoroacetilo com uma piperidina aquosa para formar uma solução de mistura aquosa de polipéptidos, cada um dos quais é constituído por alanina, ácido glutâmico, tirosina e lisina; e

d) purificar a mistura aquosa de polipéptidos.

Numa concretização, a fracção molar média na mistura é ácido glutâmico 0,129-0,159; alanina 0,392-0,462; tirosina 0,086-0,100; e lisina 0,300-0,374. Numa concretização específica, a fracção molar média na mistura de ácido glutâmico é 0,141, de alanina é 0,427, de tirosina é 0,093, e de lisina é 0,337.

A presente invenção também providencia um processo de produção do acetato de glatirâmero compreendendo os passos de:

a) polimerização de N-carboxianidridos de tirosina, alanina, glutamato de γ-benzilo e *N*-trifluoroacetilisina para formar o acetato de glatirâmero protegido;

b) desproteção do acetato de glatirâmero protegido com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, a solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico, para formar acetato de glatirâmero trifluoroacetílico;

c) reação de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico com piperidina aquosa para formar uma solução de acetato de glatirâmero; e

d) purificação do acetato de glatirâmero.

Numa concretização, o produto do passo d) é sujeito adicionalmente a ultrafiltração para remover espécies polipeptídicas com peso molecular de menos de 5 000 daltons.

Numa concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético é desde 10 % até 36 % de ácido bromídrico em ácido acético. Noutra concretização, o ácido bromídrico em ácido acético é desde 16 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 18 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 20 % até 37 % de ácido bromídrico em ácido acético; 20 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 22 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 24 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 25 % até 35 % de ácido bromídrico em ácido

acético; 26 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 28 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; 30 % até 34 % de ácido bromídrico em ácido acético; 30 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético; ou 32 % até 33 % de ácido bromídrico em ácido acético. Numa concretização adicional, a solução é 33 % de ácido bromídrico em ácido acético. Noutra concretização, a solução é 16 % de ácido bromídrico em ácido acético.

Noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético é pré-tratada com um sequestrante de bromo de modo a remover o bromo livre.

Ainda noutra concretização, o sequestrante de bromo é fenol.

Numa concretização adicional, a solução de ácido bromídrico em ácido acético é produzida num reator não metálico.

Noutra concretização, a solução de ácido bromídrico em ácido acético é preparada num reator revestido com vidro ou com Teflon.

Numa concretização, a cor da solução de ácido bromídrico em ácido acético é menos de 2000 APHA.

Noutra concretização, a cor do ácido bromídrico na solução de ácido acético é inferior a 1000 APHA.

Ainda noutra concretização, a cor do ácido bromídrico na solução de ácido acético é inferior a 700 APHA.

Numa concretização adicional, a cor do ácido bromídrico na solução de ácido acético é inferior a 500 APHA.

Também é revelado aqui um método de análise da percentagem de tirosina bromada na amostra de acetato de glatirâmero compreendendo os passos de:

a) hidrólise do acetato de glatirâmero para se obter um hidrolisado;
b) eluição do hidrolisado através de uma coluna cromatográfica;
c) medição do nível de bromotirosina no hidrolisado;
d) preparação de soluções de amostra dos componentes de aminoácido do acetato de glatirâmero e de bromotirosina;
e) eluição das soluções da amostra através da coluna do passo b); e
f) cálculo da percentagem de tirosina bromada no acetato de glatirâmero.

A presente invenção também providencia um processo para preparar uma composição farmacêutica contendo uma mistura de acetato de glatirâmero, em que a mistura tem uma percentagem pré-determinada de tirosina bromada aceitável para inclusão numa composição farmacêutica, que compreende a obtenção de um lote de uma mistura de acetato de glatirâmero; medição da percentagem de tirosina bromada do lote por um processo que compreende

a) hidrolisar o lote para se obter um hidrolisado;
b) eluir o hidrolisado através duma coluna cromatográfica:
c) medir o nível de bromotirosina no hidrolisado;
d) preparar soluções da amostra dos componentes aminoácidos do lote e da bromotirosina;

e) eluir as soluções de amostra através da coluna do passo b); e

f) calcular a percentagem de tirosina bromada no lote; e

inclusão na composição farmacêutica um lote apenas se sua percentagem de tirosina bromada medida for inferior a 0,3 %.

Numa concretização, o lote é aceitável para inclusão na composição farmacêutica apenas se a sua percentagem de tirosina bromada medida for inferior a 0,2 %.

Noutra concretização, o lote é aceitável para inclusão na composição farmacêutica apenas se sua percentagem de tirosina bromada medida for inferior a 0,1 %.

Numa concretização adicional, a mistura de polipéptidos é acetato de glatirâmero ("GA").

TERMOS

O termo "peso molecular médio" como usado neste pedido significa o peso molecular das espécies de polipéptidos presente na mistura na maior proporção relativa (*i.e.* o máximo do pico) quando a mistura é sujeita a separação por peso molecular numa coluna de permeação de gel por HPLC. Este valor pode ser obtido por diversas vias, *e.g.* a partir do tempo de retenção numa coluna calibrada; ou a partir de uma correlação entre a localização do pico e a localização dos marcadores de co-polímero sujeito a co-cromatografia de sequência e peso molecular definidos. Poderão ser empregues outros métodos de determinação de um peso molecular médio tais como a dispersão de luz e irá substancialmente corresponder ao valor obtido a partir do máximo do pico.

Uma mistura de polipéptidos como exemplificado é o sal de acetato de polipéptidos sintéticos preparados através de fazer reagir quimicamente quatro derivados de aminoácidos (dois dos quais ácido L-glutâmico e L-lisina protegidos): ácido L-glutâmico (L-Glu), L-alanina (L-Ala), L-tirosina (L-Tyr) e L-lisina (L-Lys) (dois dos quais protegidos *i.e.* derivado 5Bz-Glutamato e derivado 6N-TFA-Lisina) numa razão específica. O termo "mistura" como utilizado neste documento refere-se geralmente a na "mistura de polipéptidos da invenção" que compreende ácido L-glutâmico, L-alanina, L-tirosina, e L-lisina, e ambos os termos pretendem incluir impurezas residuais do processo de fabrico.

O intervalo de fracção molar de cada resíduo de aminoácido é: L-Glu 0,129-0,153, L-Ala 0,392-0,462, L-Tyr 0,086-0,100 e L-Lys 0,300-0,374.

Devido a nenhuma reação ser completada a 100% e embora sejam eliminadas praticamente todas as impurezas, podem permanecer pequenas quantidades. Tais impurezas poderão ser dos seguintes três tipos:

• Substâncias relacionadas com a estrutura, que são resíduos de aminoácidos protegidos tais como resíduos 5-BZ-L-glutamilo e/ou N6-TFA-L-Lisilo, originadas a partir da remoção incompleta dos grupos protetores. Adicionalmente, a mistura de polipéptidos das moléculas da invenção poderá conter resíduos de L-tirosilo bromados, formados durante a produção devido à presença de bromo livre no reagente de HBr /ácido acético.

As estruturas moleculares das impurezas identificadas relacionadas com a estrutura podem ser derivadas dos monómeros participantes *i.e.* materiais de partida.

Estas impurezas identificadas são quantificadas (após conversão química) por comparação com os Padrões de Referência específicos, que são quer derivados ou parte das próprias impurezas:

- Compostos de trifluoroacetilo residuais (expressos como fluoreto)

- Resíduos de glutamilo benzilado residual (expressos como brometo de benzilo)

- Resíduos de tirosilo bromado residual (expressos como bromotirosina)

• Substâncias relacionadas não identificadas (determinadas por RP-HPLC): estas são polipéptidos de tamanho molecular pequeno da mesma origem com estruturas semelhantes. Estas substâncias provavelmente possuem factores de resposta semelhantes e a concentração (%) de cada impureza pode ser calculada como a % relativa da área do pico em relação à área do pico da mistura de polipéptido da invenção. A caracterização das impurezas baseia-se no seu tempo de retenção cromatográfico relativo (RRT) em relação ao padrão de L-Triptofano.

• Solventes residuais e impurezas inorgânicas cobertas na especificação tal como o solvente residual 1,4 dioxano, piperidina residual e metais pesados.

DISCUSSÃO

Bromo livre

No processo de fabrico de misturas de polipéptidos, tais como GA, é utilizado ácido bromídrico a 33 % em ácido acético para desproteger o GA protegido. Por exemplo, durante o desenvolvimento do processo de produção de GA foi descoberto que alguns dos resíduos de tirosina em GA trifluoroacetilo (TFA GA) e em GA estavam bromados. Esta impureza foi isolada e identificada utilizando um procedimento analítico que está descrito em detalhe nos exemplos. Foi descoberto que o resíduo de tirosina reage com bromo para formar uma unidade de mono-bromotirosina compreendendo quer 2-bromotirosina ou 3-bromotirosina.

Após muita investigação os inventores descobriram que a impureza de tirosina bromada foi introduzida no GA através do bromo livre em HBr /ácido acético. O bromo livre estava presente em HBr a 33 % /ácido acético adquirido a um fornecedor e utilizado no processo de produção.

Foram tomadas medidas de modo a diminuir o nível de bromo livre e HBr a 33 % /ácido acético. Por exemplo, o pré-tratamento de HBr /ácido acético com um sequestrante de bromo foi efetivo na remoção de algum do bromo livre a partir da solução HBr /ácido acético.

Um dos sequestrantes de bromo utilizados no processo de purificação de HBr foi o fenol. Adicionalmente ao fenol, poderão ser usados outros agentes de redução, tais como o bissulfito de sódio. Foi escolhido o fenol como um sequestrante de bromo devido a que este e seu produto reacional com bromo (bromofenois) são ambos essencialmente

não reativos com os polipéptidos protegidos, tais como GA protegido, polipéptidos TFA, tais como TFA GA e polipéptidos, tais como GA, e são fáceis de remover da solução de GA durante o processo de purificação. Semelhantemente, poderá ser utilizado qualquer agente sequestrante de bromo na condição de que este, e o seu produto reacional com bromo, não reaja com polipéptidos protegidos tais como GA protegido, polipéptidos TFA, tais como TFA GA e polipéptidos, tais como GA, e seja facilmente removível durante o processo de purificação final.

Impurezas metálicas

O GA é comercializado em duas formas de dosagem farmacêuticas, pó liofilizado e seringas pré-cheias. As seringas, comercializadas sob a marca Copaxone® Injection, continham geralmente uma solução límpida. As instruções de armazenamento foram para manter as seringas refrigeradas. Contudo, foi detectada a cor vermelha em soluções aquosas de soluções pré-cheias de Copaxone®. A fonte da cor nas soluções foi desconhecida.

A cor apareceu quando as soluções foram mantidas à temperatura ambiente durante 12 a 24 horas.

Foi determinado que a produção de HBr em aparelhos metálicos conduziu a vestígios de impurezas de ião metálico no HBr. Quando o HBr foi posteriormente misturado com o GA protegido, as impurezas de ião metálico em HBr foram queladas por TFA GA e GA. Estes complexos de TFA GA e GA/metal contribuíram para a coloração.

Como um resultado, foi tomada outra medida para garantir a pureza, *e.g.*, no produto GA, foi a utilização de um reator não metálico para a produção da solução de HBr a 33 %

/ácido acético. O reator utilizado para a produção da solução de HBr /ácido acético foi revestido com vidro de modo a prevenir a formação de impurezas que poderiam mais tarde afectar a pureza de, *e.g.*, o GA. De modo a prevenir o contacto da solução de HBr com o metal, parte da tubagem utilizada foi revestida com Teflon. Semelhantemente, podem ser utilizados outros tipos de aparelhos não metálicos resistentes a ácido para prevenir a formação de vestígios de iões metálicos na solução de HBr /ácido acético. A utilização de um aparelho não metálico para a produção da solução de HBr /ácido acético foi bem sucedida na eliminação da cor vermelha do GA. Quando foi utilizado um aparelho não metálico para a produção da solução de HBr /ácido acético, o resultado foi que a solução estava essencialmente livre de iões metálicos e não foi formado o GA vermelho.

Adicionalmente, é medida a cor de cada lote de HBr /ácido acético para se determinar o nível de impurezas antes de ser utilizado para desproteger o GA protegido. Foi descoberto que os níveis de impureza de ião metálico na solução de HBr poderiam ser determinados por análise visual. A solução de HBr com uma cor inferior a 2000 APHA mostrou produzir acetato de glatirâmero sem cor vermelha.

A invenção será exemplificada mas não limitada pelos exemplos seguintes.

DETALHES EXPERIMENTAIS

EXEMPLO 1 – INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE BROMO EM HBr /ÁCIDO ACÉTICO NUMA UNIDADE DE TIROSINA BROMADA EM TFA GA E EM GA

De modo a determinar o efeito do bromo livre em ácido bromídrico/ácido acético no nível de impureza da unidade de tirosina bromada em TFA-GA e GA, foi contaminado ácido bromídrico em ácido acético com várias quantidades de bromo. Na experiência, o HBr que não foi pré-tratado com o sequestrante de bromo foi utilizado no processo de fabrico. Foram adicionados vários níveis de impureza de bromo (medido como a percentagem de solução de HBr /Ácido acético). O nível de impureza da unidade de tirosina bromada em TFA GA e em GA foi medido por hidrólise de TFA GA e GA para os seus componentes de aminoácido, e utilizando seguidamente HPLC para determinar a quantidade de bromotirosina em relação ao TFA GA e GA.

PROCEDIMENTO

Preparação de soluções padrão

Foram preparadas soluções padrão contendo 2 µg/mL de Bromotirosina utilizando água destilada. A solução mãe padrão de aminoácido foi preparada utilizando os seguintes aminoácidos:

L-Glu	Cerca de 100 mg
L-Ala	Cerca de 130 mg
L-Tyr	Cerca de 75 mg
L- Lys HCl	Cerca de 200 mg

Os aminoácidos foram dissolvidos em água. Foram adicionadas umas quantas gotas de NaOH 5 N e foi adicionada água até um volume final de 25 mL.

Hidrólise

Foram pesados 10 mg de acetato de glatirâmero e 10 mg de TFA GA cada um independentemente em frascos de hidrólise de 5 mL. Foi preparado um frasco de controlo negativo por adição de 0,5 mL de solução mãe de padrão de aminoácido para um frasco de 5 mL. Foram adicionados 0,5 mL de água e 0,5 mL de HCl concentrado contendo 1 % de fenol a cada um dos frascos. Os frascos foram aquecidos a 110 °C durante 24 horas, sob atmosfera de N_2. As amostras foram seguidamente arrefecidas até à temperatura ambiente. Cada um dos hidrolisados foi transferido para balões volumétricos de 5 mL e cheios até ao volume com água destilada.

Cromotografia

O padrão de bromotirosina, e cada um dos hidrolisados, foram eluídos independentemente através de uma coluna de HPLC utilizando um eluente de acetonitrilo: água: ácido acético numa razão de 4:95:1. A coluna foi equipada com um detector de UV e um sistema de registo de dados. O padrão de aminoácido é utilizado como um controlo negativo para determinar qual o pico no acetato de glatirâmero hidrolisado que corresponde à bromotirosina.

Análise de Dados

A percentagem de unidades de tirosina bromada em cada amostra de TFA GA e GA foi calculada como se segue:

P = pureza de padrão de bromotirosina (em percentagem)
A*s* = Área do pico do padrão de bromotirosina
A*p* = Área do pico de bromotirosina em cada amostra
C*s* = Concentração do padrão de bromotirosina (µg/mL)
C*p* = Concentração do acetato de glatirâmero (ou de TFA GA).

$$\% \text{ de tirosina bromada} = p * \frac{Ap}{As} * \frac{Cs}{Cp}$$

A tabela 1 mostra o efeito do Bromo livre no nível da unidade de tirosina bromada em TFA Acetato de Glatirâmero e em Acetato de Glatirâmero

Tabela 1. Efeito de Bromo Livre no Nível da unidade de Tirosina Bromada

(%) de Bromo	(%) de Tirosina bromada	
	Glatirâmero TFA	Acetato de glatirâmero
Sem adição de Bromo	0,1	0,2
0,5	0,7	1,2
1	1,2	2,2
5	4	Sem dados

Resultados

Do exemplo acima pode ser observado que a contaminação de HBr com bromo conduz a elevados níveis de unidade de tirosina bromada em TFA GA e em GA, relativamente à reação padrão em que não foi adicionado bromo. Quando não foi adicionado bromo, dado que o HBr não foi tratado com um sequestrante de bromo, estava ainda disponível algum bromo livre e a contaminação da unidade de tirosina bromada de GA e TFA GA era ainda evidente.

De modo a produzir GA com impureza da unidade de tirosina bromada a um nível de menos de 0,2 %, o nível de bromo livre em HBr deveria diminuir por adição de um sequestrante de bromo.

EXEMPLO 2 - PRODUÇÃO DE HBr A 33 % EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO

O reator revestido com vidro é enxaguado com ácido acético, seguidamente esvaziado. São adicionados 1013 kg de ácido acético no reator. O ácido acético é mantido a uma temperatura de 10 – 20 °C. São introduzidos 522 kg de HBr gasoso no reator enquanto é misturada a solução. Após a introdução do gás, a solução é misturada durante 30 minutos adicionais. A solução é testada para determinar se o teor de HBr é 33 %.

EXEMPLO 3 - PURIFICAÇÃO DA SOLUÇÃO DE HBr/ ÁCIDO ACÉTICO UTILIZANDO FENOL COMO UM SEQUESTRANTE DE BROMO

Uma solução de HBr a 33 % em ácido acético foi vertida num reator revestido com vidro. Foi pesado fenol e adicionado à solução de HBr numa razão em peso de 1 para 100. A solução foi seguidamente agitada durante 12 até 24 horas. A solução de HBr purificada é seguidamente adicionada ao acetato de glatirâmero protegido. A reação de HBr com GA protegido forma TFA GA. O TFA GA reage com piperidina para formar GA.

EXEMPLO 4 – NÍVEIS DE TIROSINA BROMADA EM VÁRIOS LOTES

O nível de unidade de Tirosina bromada em vários lotes de acetato de glatirâmero foi medido utilizando o método descrito no exemplo 1.

Método de Produção	Número do Lote de GA	Concentração da unidade de tirosina bromada
MÉTODO ANTIGO	A	0,15
	B	0,19
	C	0,14
	D	0,15
	E	0,32
NOVO MÉTODO	X	Não detectável
	Y	Não detectável
	Z	Não detectável

Resultados

O HBr produzido utilizando o novo método, como descrito no exemplo 2 e tratado com fenol como no exemplo 3, estava isento de Bromo e de impurezas metálicas. Portanto o acetato de glatirâmero que foi produzido estava substancialmente isento da unidade de tirosina bromada.

O HBr que foi adquirido a partir de fornecedores externos (método antigo) tinha impurezas, e portanto o acetato de glatirâmero produzido utilizando este também tinha impurezas de unidades de tirosina bromada, mesmo quando se utilizou fenol como um sequestrante de tirosina.

EXEMPLO 5 - DETERMINAÇÃO DA COR

A cor da solução de HBr /ácido acético foi determinada utilizando técnicas padrão de determinação visual da cor.

O índice de cor da Associação de Saúde Pública Americana (APHA) é um índice de amarelamento de número único onde cada unidade de APHA se baseia numa diluição da solução mãe de 500 ppm de platina - cobalto (PtCo). (HunterLab, APHA

Background, Applications Note, Insight on Color November 16-30, 1996, Vol. 8, No. 16. disponível em http://www.hunterlab.com/appnotes/an1196br2.pdf). A medição de APHA é determinada por comparação visual da solução com padrões de PtCo que contêm quantidades controladas de cloroplatinato de potássio e de cloreto de cobalto. Cada unidade numérica é a equivalente a 1 mg de platina por litro de solução (ppm). Os padrões e correspondentes medições são designados de acordo com a sua medição em ppm, *i.e.* o padrão APHA No. 20 contém 20 ppm de platina. American Chemical Society, General Directions and Procedures: Measurement of Physical Properties disponível em http://pubs.acs.org/reagentdemo/secb002.html.), água destilada tem um valor de APHA de 0, e a solução mãe tem um valor de APHA de 500 ppm. (HunterLab, APHA Background, Applications Not, Insight on Color, 16-30 November 1996, Vol. 8, No. 16. disponível em http://www.hunterlab.com/appnotes/an1196br2.pdf.) As medições de APHA poderão ser feitas através de vários instrumentos bem conhecidos na técnica.

Foram preparados o padrão de cor APHA "500" e padrão de cor APHA "1000". O padrão de cor "500" foi preparado por dissolução de 1,246 g de cloroplatinato de potássio, K_2PtCl_6 (equivalente a 50 mg de platina metálica) e 1,00 g de cloreto de cobalto cristalizado, $CoCl_2$-$6H_2O$ (equivalente a cerca de 2,50 mg de cobalto metálico) em água destilada com 100 ml de HCl concentrado e foi diluído a 1000 mL com água destilada.

O padrão de cor APHA "1000" foi preparado por dissolução de 2,492 g de cloroplatinato de potássio K_2PtCl_6 e 2,00 g de cloreto de cobalto cristalizado $CoCl_2$-$6H_2O$ em água destilada com 200 mL de HCl concentrado e foi diluído a 1000 mL com água destilada.

Os lotes seguintes foram produzidos utilizando um aparelho não metálico como descrito previamente. Estas amostras foram analisadas visualmente relativamente à cor contra padrões de cor por visualização de tubos de Nessler de 100 mL verticalmente contra um fundo branco.

Número do lote	Cor (APHA)
M	< 500
N	< 500
P	700
Q	350
R	< 300

A cor destes lotes de HBr /ácido acético indicaram que eles estavam isentos de bromo e de impurezas de ião metálico. Devido a cor ter sido inferior a 2000 APHA, estes lotes foram considerados essencialmente isentos de impurezas de ião metálico.

Lisboa, 07 de Março de 2014

REIVINDICAÇÕES

1. Num processo para obtenção de uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado e em que durante o processo um lote de uma mistura de polipéptidos, cada um dos quais consiste em alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina é desprotegido com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, o melhoramento compreendendo o uso de uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,1 % de bromo livre.

2. O processo da reivindicação 1, em que o melhoramento compreende adicionalmente o uso de uma solução de ácido bromídrico em ácido acético que compreende menos que 500 ppm de impurezas de ião metálico.

3. Num processo para obtenção de uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado e em que durante o processo um lote de uma mistura de polipéptidos, cada um dos quais consiste em alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina é desprotegido com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, o melhoramento compreendendo o uso de uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

4. Um processo de produção de uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado compreendendo a

desproteção de uma mistura de polipéptidos cada um consistindo em alanina, glutamato de γ-benzilo, tirosina e trifluoroacetilisina com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

5. Um processo para obtenção de uma composição farmacêutica contendo uma mistura de acetato de glatirâmero, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado que compreende

a) polimerizar N-carboxianidridos de tirosina, alanina, glutamato de γ-benzilo e *N*-trifluoroacetilisina para formar uma mistura de polipéptidos protegidos;

b) desproteger os polipéptidos protegidos com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, cuja solução compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico, para formar uma mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo;

c) fazer reagir a mistura de polipéptidos de trifluoroacetilo com piperidina aquosa para formar uma solução de mistura aquosa de polipéptidos, cada um dos quais consiste em alanina, ácido glutâmico, tirosina e lisina; e

d) purificar a mistura de polipéptidos.

6. Um processo para produzir acetato de glatirâmero, que compreende os passos de:

a) polimerizar N-carboxianidridos de tirosina, alanina, glutamato de γ-benzilo e *N*-trifluoroacetilisina para formar acetato de glatirâmero protegido;

b) desproteger o acetato de glatirâmero protegido com uma solução de ácido bromídrico em ácido acético, a solução que compreende menos de 0,5 % de bromo livre e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico, para formar o acetato de glatirâmero trifluoroacetílico;

c) fazer reagir o acetato de glatirâmero trifluoroacetílico com piperidina aquosa para formar uma solução da mistura aquosa de acetato de glatirâmero, e
d) purificar o acetato de glatirâmero.

7. Um processo de qualquer uma das reivindicações 1-6, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 0,01 % de bromo livre, mais preferencialmente menos de 0,001 % de bromo livre, ainda mais preferencialmente a solução de ácido bromídrico em ácido acético está isenta de bromo livre.

8. O processo da reivindicação 7, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 100 ppm de impurezas de ião metálico.

9. O processo da reivindicação 8, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 30 ppm de impurezas de ião metálico.

10. O processo da reivindicação 9, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 20 ppm de impurezas de ião metálico.

11. O processo da reivindicação 10, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético compreende menos de 10 ppm de impurezas de ião metálico.

12. O processo da reivindicação 11, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético está isenta de impurezas de ião metálico.

13. O processo de qualquer uma das reivindicações 1-12, em que a cor da solução de ácido bromídrico em ácido acético é inferior a 2000 APHA.

14. O processo da reivindicação 13, em que a cor da solução de ácido bromídrico em ácido acético é inferior a 1000 APHA.

15. O processo da reivindicação 14, em que a cor da solução de ácido bromídrico em ácido acético é inferior a 700 APHA.

16. O processo da reivindicação 14, em que a cor da solução de ácido bromídrico em ácido acético é inferior a 500 APHA.

17. O processo de qualquer uma das reivindicações 1-18, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético é produzida num reator não metálico.

18. O processo de qualquer uma das reivindicações 1-18, em que a solução de ácido bromídrico em ácido acético

é produzida num reator revestido a vidro ou revestido em Teflon.

19. Uma mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado, não superior a 0,1 % de tirosina bromada e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico.

20. Uma mistura de acetato de glatirâmero, em que a mistura tem um peso molecular médio desejado e menos de 1000 ppm de impurezas de ião metálico.

21. A mistura de qualquer uma das reivindicações 19-20, em que a mistura compreende menos de 500 ppm de impurezas de ião metálico.

22. A mistura da reivindicação 21, em que a mistura compreende menos de 100 ppm de impurezas de ião metálico.

23. A mistura da reivindicação 22, em que a mistura compreende menos de 30 ppm de impurezas de ião metálico.

24. A mistura da reivindicação 23, em que a mistura compreende menos de 20 ppm de impurezas de ião metálico.

25. A mistura da reivindicação 24, em que a mistura compreende menos de 10 ppm de impurezas de ião metálico.

26. A mistura da reivindicação 25, em que a mistura esta isenta de impurezas de ião metálico.

27. A mistura de qualquer uma das reivindicações 19-26, em que a cor da mistura é inferior a 1000 APHA, preferencialmente inferior a 700 APHA.

28. A mistura da reivindicação 28, em que a mistura é inferior a 500 APHA.

29. Um processo para preparar uma composição farmacêutica contendo uma mistura de acetato de glatirâmero, em que a mistura tem uma percentagem pré-determinada de tirosina bromada aceitável para inclusão numa composição farmacêutica, que compreende
obtenção de um lote de acetato de glatirâmero;
medição da percentagem de tirosina bromada do lote por um processo que compreende

a) hidrolisar o lote para se obter um hidrolisado;
b) eluir o hidrolisado através de uma coluna cromatográfica;
c) medir o nível de bromotirosina no hidrolisado;
d) preparar soluções amostra dos componentes aminoácidos do lote e da bromotirosina;
e) eluir as soluções amostra através da coluna do passo b); e
f) calcular a percentagem de tirosina bromada no lote; e

incluir na composição farmacêutica de um só lote se sua percentagem de tirosina bromada assim medida for inferior a 0,3 %.

30. Acetato de glatirâmero trifluoroacetílico produzido pelo processo de qualquer uma das reivindicações 1-4 ou 7-18.

31. Acetato de glatirâmero produzido pelo processo de qualquer uma das reivindicações 5-18.

32. Uso da mistura de acetato de glatirâmero trifluoroacetílico de qualquer uma das reivindicações 19 ou 21-28 ou acetato de glatirâmero trifluoroacetílico da reivindicação 30 no fabrico do acetato de glatirâmero.

Lisboa, 07 de Março de 2014