REPUBLICA DE COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA
DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

INVENTARIO

00 788

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00000788 00000000 Folios: 24
Fecha (AMD): 2000-01-07 15:11:19
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombre y Apellidos o Razón Social: JIAN LIU

Nº de Identificación:

Representante Legal (Persona Jurídica):

País de Domicilio: CANADA

Departamento o Estado: NEW BRUNSWICK

Ciudad: FREDERICTON

Dirección: 470 CHERRY AVENUE FREDERICTON, NEW BRUNSWICK E3A 5N9 CANADA

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre: DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

Dirección: Carrera 11 numero 93-43 oficina 404, Santafe de Bogotá, S.A.

DATOS DEL INVENTOR Son (1) Inventores

Nacionalidad

(72) Nombre del Inventor (es): 1) JIAN LIU- CANADIENSE

Dirección y Domicilio: 1) 470 CHERRY AVENUE, FREDERICTON, NEW BRUNSWICK E3A 5N9, CANADA

Identificación:

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención: AISLACIÓN Y PURIFICACIÓN DE PACLITAXEL Y OTROS TAXANOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE BAJA PRESIÓN DE PREPARACIÓN INDUSTRIAL EN UNA COLUMNA DE RESINA POLIMÉRICA

PRIORIDAD REIVINDICADA Sí ☒ No ☐

(33) ESTADOS UNIDOS (32) ENERO 7, 1999 (31) Nº Solicitud 09/226,192

Fuente Normativa: Convenio de París Art.4°

CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D 305/14; A61K 31/335

SOLPA290 SRR

2

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 00000788 00000000 Folios: 24
Fecha (AMD): 2000-01-07 15:11:10
NIT : 8001760[illegible] Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 62,510
FECHA : NOVIEMBRE 12 DE 1999

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MEDET T CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	423240	12/11/1999	1,152,000.00
CLARKE MEDET T CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	734424	11/11/1999	2,407,600.00

***** C O N C E P T O *****

Cant.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	553,000.00
		TOTAL : $	553,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. 23 _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

3

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00000788 - 00000000 Folios: 24
Fecha (AMD): 2000-01-07 15:11:10
Tracite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 70,096
FECHA : DICIEMBRE 21 DE 1999

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	895772	21/12/1999	2,066,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-08 PRORROGA DE TERMINOS	31 PRORROGA DE TERMINOS	45,000.00
		TOTAL : $	45,000.00

SON: CUARENTA Y CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

NIT : 900176998 2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00000788 00000000 Folios: 24
Fecha (AMD): 2000-01-07 15:11:10
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 49,326
FECHA : SEPTIEMBRE 8 DE 1999

***** C O N S I G N A C I O N *****

CLIENTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
HOYOS VALENCIA ABOGADOS CONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00021-9	771004	08/09/1999	821.000,00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	CENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	99005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	44 CONSULTA BANCO DE MARCAS FIG. 011 5.000,00
		TOTAL : $	5.000,00

SON: CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

5

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00000788 00000000 Folios: 24
Fecha (AMD): 2000-01-07 15:11:10
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 65,633
FECHA : DICIEMBRE 1 DE 1999

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
MONICA VALENCIA ABONDANO CONSIGNACION	CAJA AGRARIA	070-020010-		35267	01/12/1999	116,050.00
MONICA VALENCIA ABONDANO CONSIGNACION	CAJA AGRARIA	070-020010-		35342	01/12/1999	733,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	66	CONSULTA BANCO DE MARCAS FIG. SIJ	5,000.00
			TOTAL : $	5,000.00

SON: CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Un método de alta producción y alta pureza para obtener análogos de taxano a partir de una fuente que contiene taxano. El método emplea una membrana de resina polimérica para separar los análogos a baja presión sin el uso de etapas de separación/purificación costosas actualmente provistas en el arte.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea PersonaJurídica	☐
Poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la S.I.C.	☐
Recibo de la tasa respectiva	☒
Si se reivindica prioridad, el certificado respectivo (copia legalizada)	☐
Traducciòn oficial	☐
Capítulo descriptivo	☒
Dibujos, planos necesarios	☒
C tulo reivindicatorio	☒
Tarjeta archivo propietario según formato	☒
Tarjeta archivo temático según formato	☒
Extracto para resumen o para publicación según formato	☒
Arte final 12 x 12 cms	☐

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA DEL APODERADO C.C. 41.654.882 TP Nº 20824 CSJ

AISLACIÓN Y PURIFICACIÓN DE PACLITAXEL Y OTROS TAXANOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE BAJA PRESIÓN DE PREPARACIÓN INDUSTRIAL EN UNA COLUMNA DE RESINA POLIMÉRICA.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una técnica de separación y más particularmente, la presente invención se refiere a técnicas para separar paclitaxel y otros taxanos relacionados.

ARTE PREVIO

El paclitaxel es una droga quimioterapéutica bien conocida para el tratamiento de varios cánceres metastásicos. Ha sido aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) y la HPB (Hematologic Product Branch) para el tratamiento de cánceres de ovario y de mama.

El componente es un producto natural, extraído primariamente de la corteza del árbol de tejo del Pacífico, Taxus brevifolia, y también es encontrado en T. Baccata, T. Walichiana, T. Yunnanensis y T. Canadensis.

La concentración del paclitaxel en varias materias primas es típicamente baja, por ejemplo en el orden de entre 0,0004 y 0,01% (p/p) en la corteza del tejo del Pacífico. Dicha baja concentración hace que la extracción y la purificación del componente a un grado farmacéutico a partir de la materia prima sean un gran desafío y, hasta ahora, que no sean prácticas a escala comercial. Se han desarrollado varias técnicas de cromatografía de fase normal y de cromatografía de fase inversa, como así también de cromatografía de columna de baja y alta presión, para purificar el paclitaxel a partir de un extracto crudo de materia prima.

El éxito de la cromatografía de baja presión depende en gran medida de la naturaleza de la columna. Con el uso de gel de sílice y trióxido de alúmina se asocian varios problemas, todos los cuales son soportes clásicos de la fase estacionaria en los sistemas de partición. Ellos forman una fase estacionaria estable con la mayoría de los sistemas solventes, pero es un gran absorbente y puede participar en el proceso de separación hasta el punto que sean afectados el comportamiento cromatográfico y la recuperación de muestras.

Los métodos cromatográficos han sido desarrollados para detectar y aislar el paclitaxel de varias especies de Taxus en fases analítica y de preparación. Estos procesos de aislación son conducidos principalmente en una pequeña escala de laboratorio y adolecen de baja selectividad, y alto costo de recuperación y de producción, presentando en consecuencia una seria e insatisfecha necesidad para un método económicamente practicable para la separación del valorable compuesto anti-tumoroso paclitaxel, como así también de otros taxanos cercanamente relacionados, de su análogo cercano cefalomanina.

Los métodos del arte previo revelan el uso de varios tipos de técnicas cromatográficas para separar paclitaxel y otros taxanos relacionados, incluyendo cromatografía de fase normal y de fase inversa en una columna de gel de sílice o de gel de sílice cohesionado. Los métodos del arte previo terminan con un bajo rendimiento, a un alto costo de producción, o involucran pasos de separación múltiple que dificultan su aplicación a una escala de alta producción industrial.

La patente de los Estados Unidos de Norteamérica No. 5.620.875, concedida el 15 de abril de 1997 a Hoffman y otros, es característica del arte previo. El documento enseña la separación del paclitaxel y otros taxanos por extracciones de hexano de pasos múltiples y cromatografía líquida de alto performance (HPLC). El proceso es complejo, de mano de obra intensiva y sólo proporciona moderados rendimientos de los compuestos deseados.

En la patente de los Estados Unidos No. 5.670.673, concedida el 23 de septiembre de 1997 a Rao, se delinea la aislación y la purificación del Taxol y sus análogos. El proceso incluye el uso de cromatografía líquida de fase inversa en un adsorbente con elución de los análogos adsorbidos. Aunque es un proceso meritorio, existen limitaciones con esta técnica en términos de productividad y de pureza de los componentes obtenidos.

La presente invención provee un método de separación simple basado en una columna de resina polimérica que está exenta de las limitaciones de la metodología existente.

OBJETOS DE LA INVENCIÓN

Es, en consecuencia, un objeto de esta invención proveer un método simple y de costo más efectivo para una aislación y purificación económica de los taxanos importantes, tales como el 13-acetil-9-dihidrobaccatin III, 10-deacetilobaccatin III, baccatin III, cefalomanina y paclitaxel.

Los métodos convencionales para la aislación de taxanos, incluyendo el paclitaxel, 13-acetil-9-dihidrobaccatin III y baccatin III generalmente comprenden los pasos de extractar taxanos de las materias primas con un solvente alcohólico, desgrasar el extracto y separar y purificar el taxano individual por cromatografía.

Un objeto de la presente invención es proveer un método de aislar y purificar análogos de taxano de una fuente que contiene taxanos, comprendiendo los pasos de:

extractar una fuente de taxanos en un extractante orgánico;

impregnar un medio absorbente de producto con el extractante y cargar el medio en una columna, conteniendo dicha columna un agente absorbente;

eluir, en un primer paso, con una mezcla de solvente orgánico a una presión de entre 10 y 20 psi para generar fracciones conteniendo compuestos de taxano;

cristalizar las fracciones para proveer un compuesto de taxano sólido y un licor madre;

concentrar el licor madre; y

eluir, en un segundo paso, con una mezcla de solvente polar el licor madre a través de una

resina polimérica para proveer por lo menos un segundo compuesto de taxano.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un método de aislar y purificar taxanos a partir de una fuente que contiene taxanos, comprendiendo:

proveer una fuente de taxanos;

extractar los taxanos de la fuente a un medio de extracción orgánico para proveer una capa orgánica que contenga compuestos de taxano;

tratar una materia de soporte con la capa orgánica;

proveer una columna de baja presión conteniendo un agente absorbente;

eluir, en un primer paso, un solvente orgánico a través de la columna para eluir fracciones de taxano purificado;

cristalizar las fracciones para proveer un primer análogo de taxano y un licor madre;

eluir, en un segundo paso, el licor madre a través de una resina polimérica en una columna cromatográfica para purificar y eluir por lo menos un segundo análogo de taxano y un tercer análogo de taxano; y

recoger análogos de taxano separados.

Es también un objeto adicional de la presente invención proveer un método de aislar y purificar taxanos a partir de una fuente que contenga taxanos, comprendiendo:

proveer una fuente de taxanos;

extractar los taxanos de la fuente a un medio de extracción orgánico para proveer una capa orgánica que contenga compuestos de taxano;

tratar una materia de soporte con la capa orgánica;

proveer una columna de baja presión conteniendo un agente absorbente;

eluir, en un primer paso, a una presión de entre 10 y 20 psi, un solvente orgánico a través de la columna para eluir fracciones de taxano purificado y remover impurezas de flavonoide y lignano;

cristalizar las fracciones de taxano para proveer un primer análogo de taxano y un licor madre;

eluir, en un segundo paso, a una presión de 30 psi, el licor madre a través de una resina DVD poliestireno en una columna cromatográfica para purificar y eluir por lo menos un segundo análogo de taxano y un tercer análogo de taxano

eluir, en un tercer paso, el segundo análogo de taxano y el tercer análogo de taxano a través de una columna de gel de sílice de fase normal para purificar el segundo análogo de taxano y el tercer análogo de taxano; y

recoger análogos de taxano separados.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS MATERIALIZACIONES PREFERIDAS

La fuente inicial de taxanos fue el material de planta Taxus canadensis, que es abundante en el Este de Canadá. Se utilizaron las ramillas y espinas del Taxus canadensis, o una mezcla de ellas. El material puede ser natural o deshidratado.

La materia prima fue puesta en el piso y extractada con metanol a 60°C durante cinco horas y filtrada. El extracto de metanol fue mezclado con carbón de leña y dejado a temperatura ambiente durante una hora. Éste, entonces, fue filtrado. El filtrado fue concentrado a aproximadamente 15% del volumen original por evaporación. Una mezcla agua diclorometano 1:1 (v/v) se agregó al concentrado para obtener una porción enriquecida de paclitaxel (capa orgánica).

La capa orgánica fue concentrada a un volumen reducido e impregnada en un material de soporte, en este caso, el material de soporte es Celite 545.

El material impregnado fue cargado en la parte superior de una columna de preparación industrial, por ejemplo una columna 150 mm x 1500 mm y llenada con un agente absorbente Al_2O_3. La columna fue eluida con una mezcla de hexano:acetona (comienzo 100:0 fin a 45:55) bajo una presión de entre 10 psi y 20 psi. Las fracciones conteniendo taxanos fueron recogidas y analizadas por cromatografía de capa delgada (TLC) y subsecuentemente combinadas de acuerdo a los resultados TLC.

Las fracciones recolectadas fueron entonces concentradas bajo vacío, el material resultante fue disuelto en metanol y mantenido a temperatura ambiente durante la noche. El cristal formado fue filtrado y lavado con metanol, luego recristalizado a partir de acetona. Se obtuvo 13-Acetil-9-dihidrobaccatin III como cristal blanco.

El licor madre fue concentrado hasta la sequedad y el residuo fue disuelto en acetona. La solución de acetona fue mezclada con una resina polimérica (Dowex™, poliestireno-DVB). La mezcla fue evaporada en vacío para remover la acetona. El polvo resultante fue sometido a cromatografía de baja presión. La columna cromatográfica de escala industrial (150 mm x 1500mm) fue rellenada con resina Dowex™ y eluida con acetona:agua (45:55, v/v) a una tasa de flujo de 150 ml/min bajo una presión operativa de 30 psi. Las fracciones de aproximadamente 2L cada una fueron recogidas y éstas fueron monitoreadas por TLC y HPLC. Las fracciones que contenían baccatin III y 10-deacetilobaccatin III fueron combinadas y evaporadas bajo vacío para remover substancialmente todo del solvente orgánico, luego diluidas con agua y extraídas con CH_2Cl_2. El extracto fue entonces concentrado hasta sequedad y el residuo resultante fue luego disuelto en $EtOA_c$ y purificado por columna de gel de sílice de fase normal con hexano: $EtOA_c$ como sistema solvente (comienzo 5:5 fin a 35:65). El baccatin III y el 10-deacetilobaccatin-III fueron finalmente obtenidos como polvo blanco con una pureza de más de 98%.

Las fracciones que contenían paclitaxel y cefalomanina fueron combinadas y evaporadas en vacío para remover substancialmente toda la acetona, luego particionadas entre agua y CH_2Cl_2. La

capa orgánica fue separada y evaporada hasta sequedad bajo vacío. El residuo fue disuelto en metanol. A la solución de metanol fue agregada aproximadamente 30% (p/v) de agua y la mezcla fue calentada a 60°C durante cinco minutos, y luego mantenida a temperatura ambiente durante la noche. El sólido cristalino crudo de la solución de metanol fue extraído por filtración y secado bajo vacío entre 70°C y 75°C. El sólido fue analizado por HPLC. Consistió aproximadamente en 70% de paclitaxel, 25% de cefalomanina y algunos otros taxanos.

El paclitaxel crudo puede ser procesado de acuerdo a uno de tres procedimientos alternativos. En una primera posibilidad, fue disuelto en acetona y purificado por cromatografía de columna de fase inversa. La columna fue llenada con resina polimérica (resina Diaion, HP2MG) y eluida con acetonitrilo:agua (45:55). El paclitaxel fue obtenido como cristal blanco con una pureza mayor a 99%. La cefalomanina fue obtenida como un polvo blanco a una pureza mayor que el 98%.

Alternativamente, como una segunda aproximación de procesamiento, la purificación de paclitaxel y cefalomanina fue llevada a cabo a través de un proceso de reacción química y luego purificado por cromatografía de columna de fase reversa de gel de sílice aglutinado. La mezcla de paclitaxel crudo y cefalomanina fue disuelta en CH_2Cl_2 o $CHCl_3$ (1:10p/v), y reaccionado con equivalente 10 de bromo en un frasco de fondo redondo puesto en un baño de hielo (entre 0°C y 5°C) durante aproximadamente 40 minutos. La mezcla resultante de paclitaxel y 2",3"-bromocefalomanina fue rápidamente separado por una columna cromatográfica de fase inversa (C_{18} o fenilo), eluyendo solvente $CH_3CN:H_20$ (45:55). El paclitaxel fue obtenido como cristal blanco en una pureza superior a 99%. La 2",3"-bromocefalomanina fue obtenida como una mezcla de diasterómeros, que fueron reaccionados con zinc activado en ácido acético a temperatura ambiente, y luego purificado por cromatografía de columna de chispa. Para obtener cefalomanina pura que tiene una pureza superior a 95%.

En una tercer alternativa, el paclitaxel y la bromocefalomanina fueron purificados a través de una columna de gel de sílice de fase normal. Los sistemas solventes de elución pueden comprender hexano: $EtOA_c$ (comienzo 6:4 fin a 4:6), o CH_2Cl_2:Me_2CO (comienzo 8:2 fin a 65:35) o CH_2Cl_2: $EtOA_c$ (comienzo 75:25, fin a 6:4). A partir de este método, se obtuvo paclitaxel como cristal blanco con una pureza por encima del 99%, con cefalomanina presente en una cantidad de menos de 0.2%.

Habiendo discutido la invención, se hará ahora referencia más precisa a ella por medio de los ejemplos.

EJEMPLO 1

Aproximadamente 200 Kilogramos de espinas y ramillas deshidratadas de Taxus canadensis fueron extractadas con 1.000 litros de metanol a 60°C en un extractor multi-funcional industrial durante 5 horas y luego filtrados. Las materias primas fueron extractadas con 700 litros

de metanol a una temperatura de entre 55°C y 60°C durante otras cuatro horas y filtradas. El filtrado fue combinado y mezclado con 10 kilogramos de carbón activado (5% p/p) y mantenido a temperatura ambiente durante una hora, luego filtrado y el carbón activado fue extraído. El filtrado fue luego concentrado a aproximadamente 100 litros en vacío, luego fueron agregados 300 litros de agua:diclorometano (1:1). La capa orgánica fue recogida y la solución acuosa fue extractada dos veces más con 200 litros de diclorometano. La solución de diclorometano fue combinada y evaporada en vacío hasta convertirse en una forma pastosa, y luego disuelta con 20 litros de acetona.

La solución de acetona fue impregnada a 20 kilogramos de Celite 545. El material impregnado fue secado en aire y cargado en el extremo superior de tres columnas cromatográficas industriales de baja presión (dimensión: 150 x 15 cm). Cada columna fue llenada con 15 kilogramos de absorbente de oxido de alúmina (Al_2O_3). Deberá considerarse que la dimensión exacta de las columnas no es crucial en tanto que las mismas sean suficientemente grandes como para contener la cantidad de Al_2O_3 requerida para la separación. El uso de óxido de alúmina es efectivo para absorber flavonoides y lignanos las que son co-extractadas del material fuente. Estas son también dificultades a resolver y resultan un problema para la pureza final del producto paclitaxel.

Las columnas fueron eluidas con el sistema solvente hexano:acetona (comienzo 100:0 fin en 45:55) bajo una presión de entre 10 y 15 psi con una tasa de flujo de aproximadamente 150 ml/min.

Las fracciones conteniendo taxanos fueron recolectadas y combinadas conforme a resultados de cromatografía de capa fina (TLC), y fueron luego concentradas bajo presión para eliminar todos los solventes. El material resultante fue disuelto en metanol y mantenido a temperatura ambiente durante la noche para producir cristales tipo agujas. Los cristales fueron filtrados y recristalizados de la acetona para producir adicionalmente cristales tipo aguja identificados como 13-acetil-9dihidrobaccatin III, teniendo una pureza de más de 96% (148 gramos) (0.074% basado en la materia prima).

El líquido madre de la cristalización de 13-acetil-9dihidrobaccatin fue concentrado hasta la sequedad bajo vacío. El residuo fue disuelto en tres litros de acetona. La solución de acetona fue mezclada con 1,5 kilogramos de una resina copolímera, poliestireno-divinilbenzeno. La mezcla fue evaporada para eliminar el solvente y el polvo resultante fue cargado en la parte superior de una columna cromatográfica industrial de baja presión llena de resina copolímera poliestireno-divinilbenzeno, y eluido con 45% de acetona en agua a una tasa de flujo de 150 ml/min bajo una presión de operación por debajo de 30 psi. Fracciones de 2L cada una fueron recogidas y monitoreadas por TLC y HPLC.

Las fracciones que contenían paclitaxel y cefalomanina fueron combinadas y evaporadas en vacío para eliminar la mayor parte de la acetona, luego diluidas con agua desionizada y extractadas

tres veces con 2,5 litros de diclorometano. La capa orgánica fue concentrada hasta la sequedad bajo vacío; el residuo fue disuelto en un litro de metanol.

A la solución de metanol, fue agregada aproximadamente 30% (p/v) de agua y la mezcla fue calentada a 60°C durante unos minutos y luego mantenida a temperatura ambiente durante la noche. El sólido cristalino crudo de la solución de metanol fue extraído por filtrado y secado en un horno de vacío a una temperatura de entre 70°C y 75°c. El sólido consistió en aproximadamente 70% de paclitaxel y 25% de cefalomanina en un producto de 31 gramos.

El paclitaxel crudo (30 g) fue disuelto en 200 ml de acetonitrilo y diluido con 250 ml de agua desionizada y bombeado a la parte superior de la columna cromatográfica de baja presión (tamaño: 10 x 150 cm) la que fue llenada con una resina polímera (Diaion, resina de polimetacrilato de macroporos). Luego de que la muestra fuera bombeada, la columna fue eluida con un gradiente de fase de 35, 40, 45 y 50% de acetonitrilo en agua. El cambio de solvente fue indicado por los resultados de TLC y HPLC de las fracciones.

Las fracciones de aproximadamente 1L cada una fueron recogidas y monitoreadas por análisis de TLC y HPLC. La tasa de flujo fue de 75 ml/min. Las fracciones de columna que contenían paclitaxel o cefalomanina fueron combinadas individualmente. Se permitió que las dos soluciones combinadas fueran mantenidas a una temperatura de aproximadamente 5°C hasta que fuera completada la cristalización de los compuestos.

Los cristales fueron filtrados separadamente y ambas soluciones fueron recristalizadas a partir de metanol en agua a 65°C.

El paclitaxel fue obtenido como cristales blancos tipo aguja con una pureza superior al 99% y un producto de 18,5 g (0,009%).

La cefalomanina fue obtenida como agujas blancas con una pureza de más de 98% y un producto de 6,5 g (0,003%).

Las fracciones que contenían baccatin III y 10-deacetilbaccatin III de los pasos anteriores fueron combinadas y evaporadas bajo vacío para eliminar substancialmente acetona, luego particionadas entre tres litros de agua y diclorometano (1:1 v/v). La capa orgánica fue concentrada hasta la sequedad y el residuo estuvo sujeto a cromatografía de fase normal. La columna usada tenía una dimensión 4"x 4', fue rellenada de gel de sílice (200-300 malla). El solvente de elución fue un gradiente de fase de hexano:etilacetato (comienzo 50:50, fin a 35:65). Las fracciones de aproximadamente 1.000 ml cada una fueron recolectadas y monitoreadas por TLC.

Las fracciones conteniendo baccatin III o 10-deacetilbaccatin III fueron recogidas separadamente y combinadas de acuerdo a los resultados TLC, y luego concentradas hasta la sequedad.

La parte de baccatin III fue disuelta en 200 ml de metanol y mantenida en un refrigerador durante la noche. Los cristales blancos formados fueron obtenidos por filtración y recristalizados a partir de metanol para producir baccatin III como cristales blancos en un producto de 7,5 g

(0,003%).

El 10-deacetilbaccatin III crudo fue disuelto en 150 ml de acetona y luego diluido con 150 ml de hexano. La mezcla fue mantenida a temperatura ambiente durante la noche. Los cristales blancos formados fueron filtrados y recristalizados del mismo solvente para producir 10-deacetilbaccatin III como cristales blancos. El producto fue 15 gr (0,007%).

EJEMPLO 2

Usando aparatos similares y la metodología como la utilizada en el Ejemplo 1, fue obtenido paclitaxel crudo. El paclitaxel crudo fue disuelto en 300 ml de diclorometano, el cual fue agregado a un frasco de fondo redondo de tres cuellos de 1.000 ml. El frasco fue repuesto en un baño de hielo y la solución agitada con un agitador magnético. Cuando la temperatura alcanzó aproximadamente 5°C, una solución de bromo (10 equivalentes) en diclorometano (1:1 v/v) fue agregada lentamente con agitación. El ratio de cefalomanina a bromo fue de 1 a 10 moles.

El brominado fue monitoreado por análisis TLC entre cinco y diez minutos. La mezcla de la reacción fue entonces diluida con 300 ml de diclorometano y transferido a un embudo separatorio después de que la reacción fuera completada (el tiempo de realización requirió entre 40 y 50 minutos). A la mezcla de reacción se le agregaron 350 ml de 10% de tiosulfato de sodio acuoso ($Na_2S_2O_3$) para absorber cualquier exceso de bromo. La capa de diclorometano fue separada y lavada con agua y salmuera, y luego concentrada hasta la sequedad bajo vacío. Se obtuvo un polvo marrón claro.

EJEMPLO 3

La materia cruda (10 g) del Ejemplo 2 fue disuelta en 120 ml de acetonitrilo el cual fue diluido con 150 ml de agua desionizada. La solución fue bombeada a la parte superior de una columna cromatográfica de fase inversa (5 x 100 cm) llena de C18 gel de sílice aglutinado.

La columna fue eluida con acetonitrilo:agua (45:55) bajo una presión de operación de entre 30 y 40 psi. La tasa de flujo fue de 30 ml/min. Las fracciones fueron recogidas (250 ml cada una), monitoreadas por TLC y combinadas.

Cada porción conteniendo paclitaxel fue refrigerada durante la noche; los cristales formados fueron filtrados y recristalizados de metanol 70%. El paclitaxel fue obtenido como cristales blancos de tipo aguja teniendo una pureza superior a 99% en un producto de 6:1 g.

Las fracciones conteniendo 2",3"-bromocefalomanina fueron combinadas, particionadas entre agua y diclorometano. La capa orgánica fue recogida y evaporada hasta la sequedad bajo vacío. El residuo fue disuelto en 150 ml de metanol, el cual fue diluido con 50 ml de agua para obtener cristales tipo aguja. Los cristales no blancos fueron recristalizados de metanol:agua para producir 2",3"-bromocefalomanina como cristales blancos.

Dos gramos de 2",3"-bromocefalomanina fueron disueltos en 30 ml de AcOH y fue agregado zinc recientemente activado (2g). La mezcla fue agitada durante tres horas a temperatura

ambiente y la reacción fue monitoreada por TLC. Después que el análisis mostrara que la reacción fue completada, la mezcla se particionó entre diclorometano y 10% $NaHCO_3$ (300 ml, 2:1). La capa orgánica fue lavada con agua y concentrada hasta la deshidratación. El producto crudo fue purificado por cromatografía de chispa para dar cefalomanina como polvo blanco.

EJEMPLO 4

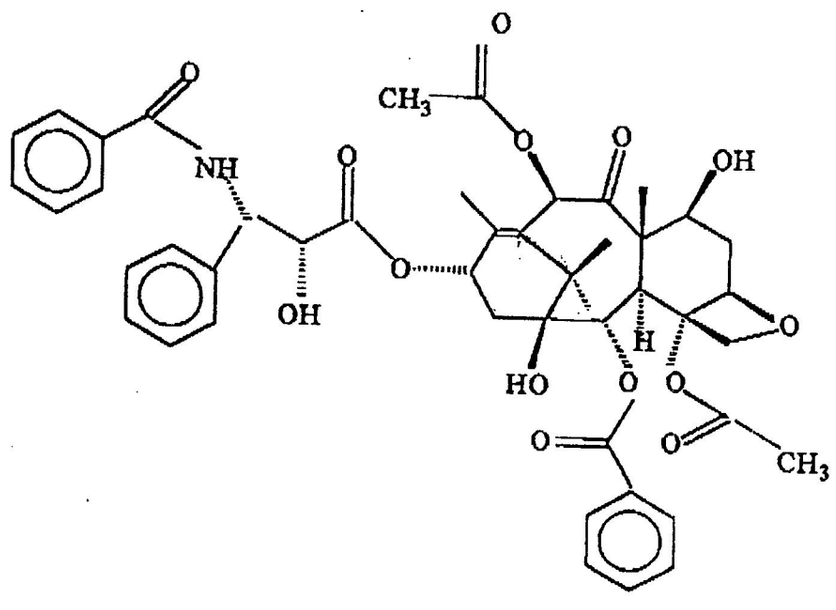
El material crudo (10 g) del Ejemplo 2 fue disuelto en 120 ml de diclorometano. La capa orgánica fue concentrada hasta la sequedad y el residuo fue sometido a cromatografía de fase normal. La dimensión de la columna usada fue 4"x 4'; la columna estaba llena de gel de sílice (entre 200 y 300 malla). El solvente de elución fue un gradiente de fase de diclorometano:acetato de etilo (comienzo 75:25 fin a 6:4); para la separación de paclitaxel y 2",3"-bromocefalomanina también puede ser usado un sistema de solventes de hexano:acetato de etilo (comienzo 6:4 fin a 4:6) y diclorometano:acetona (comienzo 8:2 fin a 65:35). Fueron recogidas las fracciones de aproximadamente 500 ml cada una, y monitoreadas por TLC.

Las fracciones que contenían paclitaxel y 2",3"-bromocefalomanina fueron separadamente recogidas y combinadas conforme a los resultados de TLC, luego concentradas hasta la sequedad.

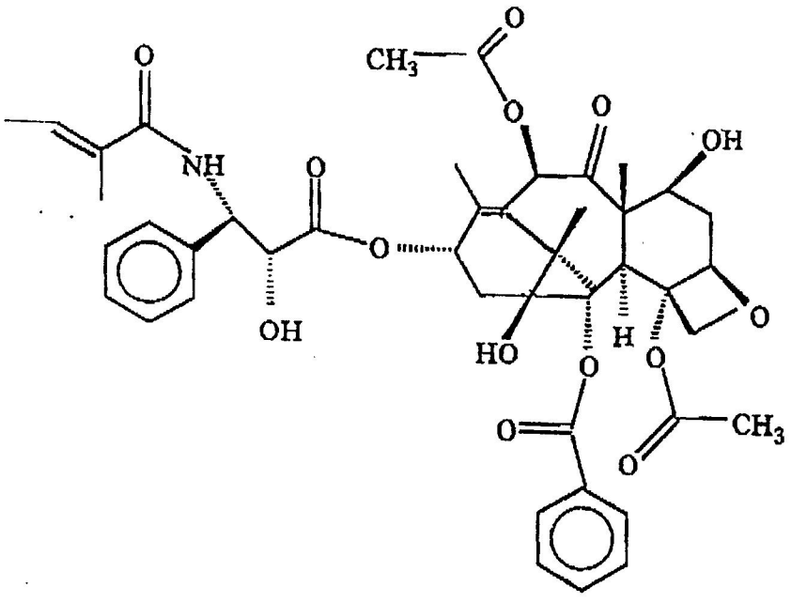
La parte de paclitaxel fue disuelta en 100 ml de metanol y diluida con 35 ml de agua, luego se mantuvo refrigerada. Los cristales blancos formados fueron filtrados y recristalizados a partir de metanol:agua para producir paclitaxel (5,5 g) como cristales blancos.

La 2",3"-bromocefalomanina cruda fue disuelta en 50 ml de acetona y luego diluido con 50 ml de hexano. La mezcla fue mantenida a temperatura ambiente durante la noche. Los cristales blancos formados fueron filtrados y recristalizados desde el mismo solvente para producir 2",3"-bromocefalomanina como cristales blancos.

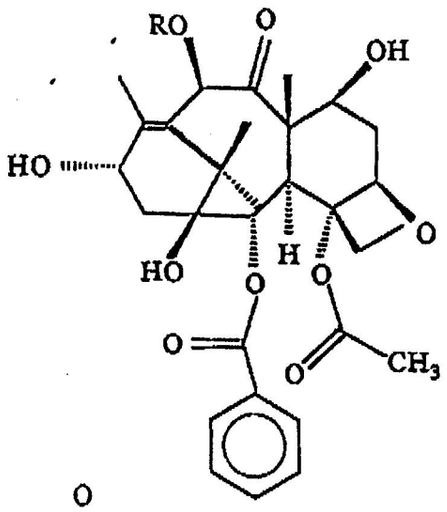
Los siguientes ejemplos ilustran los compuestos en forma estructural.

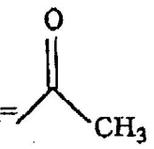


Paclitaxel

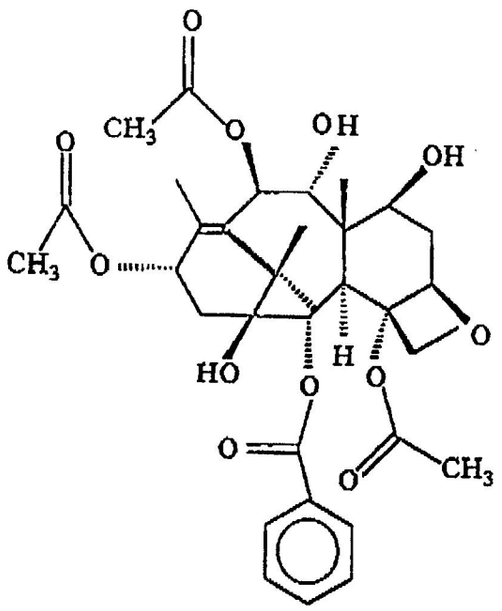


Cefalomanina



Baccatin III=R= 

10-deacetilbaccatin IV= R = H



13-acetil-9-dihidrobaccatin III

Aunque las realizaciones de la invención han sido descriptas más arriba, no está limitada a ellas y será evidente para aquellos experimentados en el arte que numerosas modificaciones forman parte de la presente invención siempre que ellas no se aparten del espíritu, naturaleza y alcance de la invención reivindicada y descripta.

REIVINDICACIONES:

1. Un método para aislar y purificar análogos de taxano a partir de una fuente que contiene taxanos comprendiendo los pasos de:

extractar una fuente de taxanos en un extractante orgánico;

impregnar un medio absorbente de producto con dicho extractante y cargar dicho medio en una columna, conteniendo la referida columna un agente absorbente;

eluir, en una primera etapa , con una mezcla de solvente orgánico a una presión de entre 10 y 20 psi para generar fracciones conteniendo compuestos de taxano;

cristalizar dichas fracciones para proveer un compuesto de taxano sólido y un licor madre; concentrar dicho licor madre; y

eluir, en una segunda etapa, con una mezcla de solvente polar el referido licor madre a través de una resina polimérica para proveer por lo menos un segundo compuesto de taxano.

2. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, incluyendo adicionalmente el paso de eliminar impurezas de lignano y flavonoide en dicha primera etapa.

3. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, en donde dicha fuente de dichos taxanos consiste en una fuente de planta.

4. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 3, en donde dicha fuente de planta está seleccionada de un miembro del grupo que comprende Taxus brevifolia, Taxus baccata, Taxus walichiana, Taxus yunnanensis y Taxus canadensis.

5. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 3, en donde dichos taxanos incluyen por lo menos 13-acetil-9-dihidrobaccatin III, 10 deacetilbaccatin III, baccatin III, cefalomanina, paclitaxel.

6. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, en donde dicho extractante orgánico comprende diclorometano. $Cl-CH_2-Cl$

7. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, en donde dicho medio absorbente de producto comprende Celite 545.

8. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, en donde dicho agente absorbente comprende oxido de aluminio.

9. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, en donde dicha mezcla de solvente orgánico de la primera etapa comprende hexano y acetona.

10. Un método de aislar y purificar taxanos a partir de una fuente conteniendo taxano, comprendiendo:

proveer una fuente de dichos taxanos;

extractar dichos taxanos desde dicha fuente a un medio de extracción orgánico para proveer una capa orgánica que contenga compuestos de taxano;

tratar una materia de soporte con dicha capa orgánica;

proveer una columna de baja presión conteniendo un agente absorbente;

eluir, en una primera etapa, un solvente orgánico a través de dicha columna para eluir fracciones de taxano purificado;

cristalizar dichas fracciones de taxano para proveer un primer análogo de taxano y un licor madre;

eluir, en una segunda etapa, dicho licor madre a través de una resina polimérica en una columna cromatográfica para purificar y eluir por lo menos un segundo análogo de taxano de taxano y un tercer análogo de taxano; y

recoger análogos de taxano separados.

11. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 10, incluyendo adicionalmente la etapa para eliminar impurezas de lignita y flavonoide en dicha primera etapa.

12. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 10, incluyendo adicionalmente la etapa de moler dicha fuente de taxanos y extraer con metanol.

13. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 12, incluyendo adicionalmente la etapa de mezclar extracto con carbón de leña, filtrar y evaporar para formar un concentrado.

14. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 13, en donde dicho material de soporte consiste en Celite 545.

15. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, en donde dicho solvente orgánico comprende una mezcla de acetona y hexano.

16. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 15, en donde dicho solvente orgánico es pasado por dicha columna a una presión de entre 10 y 20 psi.

17. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 1, incluyendo adicionalmente el paso de recoger y analizar dichas fracciones de taxano por cromatografía de capa fina.

18. Un método de aislación y purificación de taxanos a partir de una fuente que contiene taxanos, comprendiendo:

proveer una fuente de dichos taxanos;

extractar los referidos taxanos de dicha fuente a un medio de extracción orgánico para proveer una capa orgánica que contenga compuestos de taxano;

tratar una materia de soporte con la capa orgánica;

proveer una columna de baja presión conteniendo un agente absorbente;

eluir, en una primera etapa, a una presión de entre 10 y 20 psi, un solvente orgánico a través de dicha columna para eluir fracciones de taxano purificado y eliminar impurezas de flavonoide y lignano;

cristalizar dichas fracciones de taxano para proveer un primer análogo de taxano y un licor madre;

eluir, en una segunda etapa, a una presión de 30 psi, el mencionado licor madre a través de una resina DVD poliestireno en una columna cromatográfica para purificar y eluir por lo menos un segundo análogo de taxano y un tercer análogo de taxano

eluir, en una tercera etapa, dicho segundo análogo de taxano y dicho tercer análogo de taxano a través de una columna de gel de sílice de fase normal para purificar el mencionado segundo análogo de taxano y el referido tercer análogo de taxano; y

recolectar análogos de taxano separados.

19. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 18, en donde dicho segundo análogo de taxano comprende baccatin III y dicho tercer análogo de taxano comprende 10-deacetilbaccatin III.

20. El método, como se ha expuesto en la reivindicación 18, en donde dichos análogos tienen una pureza de por lo menos 18%.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Un método de alta producción y alta pureza para obtener análogos de taxano a partir de una fuente que contiene taxano. El método emplea una membrana de resina polimérica para separar los análogos a baja presión sin el uso de etapas de separación/purificación costosas actualmente provistas en el arte.

V. Los folios 23 y 24 son tarjetas de 202012 de febrero 24 de 2000.

Nota:

El folio 22 Extracto para publicación fue retirado para publicar

Marzo 06/02.

2275

REQUISITOS MÍNIMOS PARA ADMISIÓN/TRÁMITE

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00000788 00000000 Folios: 24
Fecha (AMD): 2000-01-07 15:11:10
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Patente de Invención ☑ **Modelo de Utilidad** ☐

- ☑ Nombre e identificación del solicitante ☐
- ☑ Nombre e identificación del inventor ☐
- ☑ Título o nombre de la invención ☐
- ☑ Descripción ☐
- ☑ Reivindicaciones ☐
- ☑ Resumen ☐
- ☑ Comprobante de pago ☐

COMPLETA ☑ INCOMPLETA ☐

Diseño Industrial ☐

- ☐ Nombre e identificación del solicitante
- ☐ Nombre e identificación del inventor o diseñador
- ☐ Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse
- ☐ Representación gráfica
- ☐ Comprobante de pago

COMPLETA ☐ INCOMPLETA ☐

FIRMA RESPONSABLE

Fecha

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

28

23

2000-02-24
372

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

1º EXAMEN DE FORMA

CONCEPTO TÉCNICO Nº319

EXPEDIENTE Nº 00-788 IPC: C07D 305/14; A61K 31/335

- -En la solicitud las unidades de presión deben venir en el sistema internacional de unidades.
- -En las reivindicaciones 1 y 16 las unidades de presión deben venir en el sistema internacional de unidades.
- -Las reivindicaciones 2 y 11, se refieren a la etapa de eliminar lignita y flavonoide, pero no conque y como se hace esta eliminación.
- -Las reivindicaciones 7 y 14 no son claras en la parte donde dice "Celite 545.", porque no se sabe a cual sustancia absorbente se refiere inequivocamente, ya que se esta dando el nombre de una marca de producto.
- -La reivindicación 10 esta definiendo la presión de manera ambigua con términos relativos como "baja presión", baja respecto a quien o a que? o baja para que?.

- -La reivindicación 25 se refiere a un paquete de paciente, lo cual no es claro lo que se quiere significar con esos términos, ya que los medicamentos que contienen los compuestos de la solicitud han sido reivindicados previamente y además en mezclas con otros principios activos.

- -Se debe adjuntar los artes finales de la estructura química principal.

202012

Santa Fe de Bogotá D.C., 24 de febrero de 2000.

Carrera 13 N° 27-00 Pisos 5° y 10°
Conmutador 334 1221-2-3-4
Fax 281 3125
Santafé de Bogotá, D.C. - Colombia

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

26
24

2000-01-11
430

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

PRIMER EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE 00-000788

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención:**

SI [ ]	**NO** [X]	**NO APLICABLE** [ ] Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a).
SI [ ]	**NO** [ ]	**NO APLICABLE** [X] Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94).
SI [X]	**NO** [ ]	**NO APLICABLE** [ ] Presentó, en forma correcta, el comprobante de pago por la tasa de presentación establecida (art. 13-f de la Decisión 344 y la Resolución 02 de 47 de enero del 2000).
SI [X]	**NO** [ ]	**EXTEMPORANEAMENTE** [ ] Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo Cuarto del Convenio de París.
SI [ ]	**NO** [X]	**NO APLICABLE** [ ] Presentó copia certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, al momento de radicar la solicitud nacional (Art. Cuarto - D 3o. del Convenio de París).
SI [ ]	**NO** [X]	**NO APLICABLE** [ ] Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. Cuarto - D 3o. del Convenio de París; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.).

SI [ ] **NO** [X] **CUMPLE LOS REQUISITOS JURÍDICOS**

OBSERVACIONES JURÍDICAS CONVENIO DE PARÍS: En todo caso, deberá presentar copia certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, **en cualquier momento dentro del plazo de tres (3) meses**, contados a partir de la fecha de depósito de la solicitud ulterior. La omisión de esta formalidad implicará la pérdida del derecho de prioridad.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

SI [ ] **NO** [X]	Se ajusta a los aspectos **FORMALES** indicados en la Decisión 344 y por tanto,
SI [ ] **NO** [X]	Se recomienda **PUBLICAR** el extracto correspondiente.

Santafé de Bogotá, D.C., 11 de enero del 2000

EXAMINADOR JURÍDICO DE PATENTES

Carrera 13 N° 27-00 Pisos 5° y 10°
Conmutador 334 1221-2-3-4
Fax 281 3125
Santafé de Bogotá, D.C. - Colombia

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 27

25

DIVISIÓN NUEVAS CREACIONES
1° EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE N° 00-788 **IPC:CO7D 305/14; A61K 31/335**

Concepto Técnico: N° 319

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención:**

2000-02-24
430

SI X NO ☐	Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a).
SI X NO ☐	Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a).
SI X NO ☐	Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e).
SI ☒ NO ☐	Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b).
SI ☒ NO ☐	Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c).
SI ☒ NO ☒	Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94).
SI ☐ NO ☒	Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980).
SI ☐ NO ☒	Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual se solicita la protección mediante la patente (Art.13-d).
SI ☒ NO ☐	Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94.
SI ☒ NO ☒	Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94.
SI ☒ NO ☐	Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
SI ☒ NO ☐	Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
SI ☐ NO ☒	**CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☐ NO ☐ ver hoja(s) anexa(s)

Santa Fe de Bogotá, D.C., febrero 24 de 2000.

202012

Carrera 13 N° 27-00 Pisos 5° y 10°
Conmutador 334 1221-2-3-4
Fax 281 3125
Santafé de Bogotá, D.C. - Colombia

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

2-6

28

2000-03-02
430

EXPEDIENTE 00-000788
AUTO 0003

LA JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE:

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería a XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX, como apoderado del solicitante, en los términos y para los efectos del poder conferido.

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérese al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles presente respuesta a las observaciones, complemente o aclare los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiendo que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE.

Dado en Santafé de Bogotá, D.C., a los 29 FEB. 2000.

LA JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES,

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Santafé de Bogotá D.C., 02 MAR 2[illegible] notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACIÓN ESTADO

SOLICITO PRÓRROGA TERMINO SI _____ NO _____

VENCIMIENTO TERMINO PRÓRROGA

Carrera 13 N° 27-00 Pisos 5° y 10°
Conmutador 334 1221-2-3-4
Fax 281 3125
Santafé de Bogotá, D.C. - Colombia