1776
167

Señor
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00025248 00000004 Folios: 23
Fecha (AMD): 2004-01-09 16:21:08
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 REPUESTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Re: P1.-**ABBOTT LABORATORIES**.-Solicitud de Patente de Invención para "**RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C PARA DETECTAR EL LIGAMIENTO DE UNA MOLECULA OBJETIVO Y UN LIGANDO PUTATIVO**".-Clase **G01N 24/08**.- Expediente número **00-025.248**.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista el 16 de Octubre de 2003.

2. De acuerdo con los numerales 3 y 4 del Concepto Técnico No. **1527**, se tiene que:

"3. DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

"Consultadas las bases de datos y los archivos con que cuenta la entidad se encontró que antes del 9 de abril de 1999, fecha presentación de la solicitud prioritaria, habían sido publicados los documentos FEJZO J. ET AL. Protein Science volumen. 5, no. 9, 1996, páginas 1917-1921 y WO97/18471 los cuales se relacionan con pruebas que utilizan NMR para el estudio de las interacciones ligando/receptor.

"De acuerdo con lo establecido en el artículo 16 se determinó el estado de la técnica y se encontraron los siguientes antecedentes:

168

No.	Documento	Título	Fecha de Publicación
1	Protein Science vol.5, no. 9, 1996, páginas 1917-1921 Todo el documento	"Dynamic NMR studies of ligand-receptor interactions: Design and analysis of a rapidly exchanging complex of FKBP-12/FK506 with a 24kDa calcineurin"	1996
2	WO97/18471 Pág 1623 a 1631	"Use of nuclear magnetic resonance to identify ligand to target biomolecules"	1997-12-16

***Si se trata de una solicitud colombiana esta fecha corresponde también a la fecha de presentación de la solicitud colombiana aún sin haber sido publicada o sin habérsele cumplido el plazo previsto en el art 40.**

"4. EVALUACIÓN DE LOS REQUISITOS DE PATENTABILIDAD

"4.1 EVALUACIÓN DE LA NOVEDAD

"Las reivindicaciones 1 a 3 de la solicitud reclaman un método para detectar el ligamiento entre un ligando putativo y una molécula objetivo preseleccionada y enriquecida con ^{13}C, que comprende la generación de un primer espectro de correlación RMN $^{13}C/^{1}H$ bidimensional de dicha molécula objetivo, formación de una mezcla de dicha molécula objetivo con al menos un compuesto ligando putativo, generación de un segundo espectro de correlación y comparación del primero y el segundo.

"El documento "Dynamic NMR studies of ligand-receptor interactions: Design and analysis of a rapidly exchanging complex of FKBP-12/FK506 with a 24kDa calcineurin" (ahora en adelante como D1) evidencia que es conocido

169

en el estado de la técnica un método para detectar uniones entre un ligando putativo, como es la subunidad B de calcineurina (CnB) y una molécula objetivo preseleccionada FKBP-$^{12/13}$C-FK506, la cual había sido previamente enriquecida con ^{13}C.

"Según advierte esta anterioridad, el método comprende la generación de un primer espectro de correlación RMN ^{13}C/^{1}H bidimensional (HSQC) de dicha molécula objetivo, la formación de una mezcla de dicha molécula blanco con al menos un compuesto ligando putativo, la generación de un segundo espectro de correlación RMN ^{13}C/^{1}H bidimensional (HSQC) de dicha mezcla y la comparación de los espectros.

"Teniendo en cuenta que el objeto reclamado en las reivindicaciones 1 a 3 de la solicitud en estudio es el método que comprende un espectro de la molécula objetivo, la mezcla de dicha molécula, un segundo espectro de dicha mezcla y la comparación entre el primer y el segundo espectro, y la anterioridad reporta un método con los mismos pasos, esta oficina encuentra que el método reclamado en las reivindicaciones 1 a 3 de la invención en estudio y la formulación reportada en el documento D1 son exactamente iguales, ambos estudian la interacción o unión entre un ligando y una molécula objetivo, los dos se basan en la marcación de la molécula objetivo con ^{13}C, la realización de dos espectros, uno de ellos previo a la mezcla con el ligando y uno posterior a dicha mezcla y finalmente, una comparación los espectros. Siendo así, se establece que es conocido en el estado de la técnica el método que tiene los mismos componentes que la invención definida en las reivindicaciones 1 a 3 de la solicitud colombiana.

"Más aún cuando la molécula objetivo es una proteína tanto en la anterioridad como en las reivindicaciones en cuestión de la solicitud en estudio. Por consiguiente se

170

establece que la anterioridad D1 afectaría la novedad de las reivindicaciones 1 a 3 y por ende se considera que dichas reivindicaciones no cumplirían con el requisito de novedad exigido por el artículo 14 y definido en el artículo 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

"4.2 EVALUACIÓN DEL NIVEL INVENTIVO

"Las reivindicaciones 4 a 24 reclaman el método definido en el numeral anterior, donde la molécula objetivo se prepara mediante el cultivo de una línea de céulas transformadas con un vector a partir del cual se expresa dicha molécula, en un medio que contiene fuentes asimilables de ^{13}C, tales como U-^{13}C-glucosa, yoduro de metilo enriquecido, aminoácidos o sus sales, precursores biosintéticos de aminoácidos y sus sales tales como el ácido 4(^{13}C)-butírico y el ácido 4-(^{13}C)-3(^{13}C)-metilbutírico.

"También es parte de la invención el método para investigar de una mezcla de compuestos cual o cuales se ligan a una molécula objetivo preseleccionada enriquecida con ^{13}C que comprende los mismos pasos que el método definido en el numeral anterior, complementando con la exposición de dicha molécula objetivo individualmente a cada compuesto y la comparación entre el espectro originado por la molécula objetivo sola y el realizado a la molécula luego de enfrentarla co el compuesto individual.

"Adicionalmente, la solicitud se refiere al método para determinar la constante de disociación para un ligando que se liga a una molécula objetivo pre-seleccionada que comprende los pasos del método explicado en el numeral anterior, seguido por el cálculo de la constante de disociación, y al método para la determinación de residuos aminoácidos específicos en una molécula

171

objetivo pre-seleccionada enriquecida con ^{13}C y afectada por el ligamento de un ligando a dicha molécula objetivo, el cual comprende la generación de un primer espectro de correlación RMN en donde dichos valores de corrimiento químico de las señales de $^{13}C/^{1}H$ en dicho espectro de correlación bidimensional corresponden a por lo menos una ubicación específica conocida de agrupamientos atómicos presentes en dicha molécula objetivo, y seguido los pasos son los mismos que los del método definido en el numeral anterior.

"El documento WO9718471 revela el método para detectar la unión entre un ligando putativo y una molécula blanco enriquecida con el isótopo ^{15}N. El método para identificar compuestos que son ligandos específicos de una molécula objetivo preseleccionada y enriquecida con ^{15}N, que comprende la generación de un primer espectro de correlación RMN $^{15}N/^{1}H$ bidimensional de dicha molécula objetivo, formación de una mezcla de dicha molécula objetivo con al menos un compuesto ligando putativo, generación de un segundo espectro de correlación y comparación del primero y el segundo cualquier diferencia entre ellos implica la presencia de un compuesto que es un ligando. Según esta anterioridad el método comprende adicionalmente el paso de exposición de la molécula objetivo individualmente a cada compuesto y la comparación entre el espectro originado por la molécula objetivo sola y el realizado a la molécula luego de enfrentarla con el compuesto individual. Ahora bien, la anterioridad también se refiere a un proceso para determinar la constante de disociación entre la molécula blanco y el ligando, el cual consiste en el método principal explicado anteriormente, en el cual adicionalmente se calcula la constante de disociación.

172

"Complementando la información anterior, el ejemplo 1 de D2 (líneas 29 a 34) señala que para preparar la molécula objetivo enriquecida con ^{15}N, se insertó en un plásmido una secuencia polinucleótida que codifica para la producción de dicho fragmento de proteína, luego se introdujo dicho plásmido en una cepa de E.coli, se cultivó la célula transformada en un medio de cultivo enriquecido con $^{15}NH_4Cl$ y ^{13}C-glucosa y se aisló el fragmento de proteína enriquecido isotípicamente y con el se realizó el método definido anteriormente. Esta anterioridad también plantea que la proteína sea obtenida a partir de una bacteria recombinante cultivada en medio con ^{15}N-proteína o ^{15}N-cloruro de amonio, entre las proteínas recombiantes marcadas se encuentra la proteína FKBP.

"Teniendo en cuenta que el documento D2 evidencia que es reconocido en el estado de la técnica un método que comprende los mismos pasos que el método reclamado en la invención en estudio, es decir, el proceso que comprende la generación de un primer espectro de correlación RMN $^{13}C/^{1}H$ bidimensional de dicha molécula objetivo, formación de una mezcla de dicha molécula objetivo con al menos un compuesto ligando putativo, generación de un segundo espectro de correlación y comparación del primero y el segundo, se encuentra que la única diferencia entre la anterioridad D2 y la solicitud en estudio es que en la anterioridad se utiliza una molécula marcada con un isótopo ^{13}C mientras que la anterioridad D2 emplea ^{15}N.

"Siendo que el problema a ser solucionado es la provisión de un método basado en la NMR para detectar la unión entre un ligando putativo y una molécula objetivo enriquecida con un isótopo, resulta evidentemente derivado de la técnica el reemplazar el isótopo ^{15}N por otro isótopo ya conocido en el estado de la técnica y según D1 ya empleado en la determinación

173

de la unión ligando molécula objetivo isotópicamente marcada, como es el isótopo ^{13}C. Efectuar los mismos pasos con un isótopo ya diferente es lógico para cualquier persona versada en la materia, y es obvio que si la molécula objetivo no contiene nitrógeno, no es factible utilizar como isótopo de marcaje ^{15}N. Siendo que la anterioridad D1 había indicado que el isótopo ^{13}C era adecuado para el estudio mediante NMR de la unión de moléculas marcadas isotópicamente y ligandos putativos, resulta evidentemente derivado del estado de la técnica, utilizar dicho isótopo en variaciones del método D1 como son los métodos revelados en D2.

"Adicionalmente, se advierte que D2 demuestra que era conocido el método de producir moléculas marcadas mediante su expresión en células transformadas y cultivadas en medios que comprenden una fuente asimilable del isótopo ^{15}N y del isótopo ^{13}C, tal como es la ^{13}C-glucosa. Siendo así se encuentra que es derivado de la técnica el concepto de detectar él ligamiento entre un ligando putativo y una molécula objetivo marcada isotópicamente. Partiendo de este hecho, reemplazar un isótopo por otro resulta evidente y producir dicha molécula marcada de forma recombinante a través del cultivo de la célula transformada en un medio con una fuente asimilable marcada, resulta evidente, más cuando la anterioridad D2 había dejado en claro que se podían producir moléculas isotópicamente marcadas empleando como fuente asimilable la ^{13}C-glucosa. Incluso usar dicho isótopo en forma de otra fuente asimilable, como ^{13}C-proteína, ^{13}C-aminoácido sería absolutamente obvio para una persona versada en la mateira.

"Por lo expuesto anteriormente se afirma que los documentos D1 y D2 afectarían el requisito de nivel inventivo del método cuya característica esencial es comprender los mismos pasos que revela la anterioridad

174

D2 y precisa que el isótopo empleado en el marcaje es el que había reportado la anterioridad D1 como isótopo para la detección mediante RMN de la unión de una molécula objetivo marcada y un ligando putativo. En consecuencia, se consideraría que la invención de las reivindicaciones 4 a 24 de la solicitud en estudio no cumpliría con el requisito del nivel inventivo definido en el artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

"Anexo copia de los documentos D1 y D2 citado como anterioridad.

No.	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Protein Science vol. 5, no. 9, 1996, páginas 1917-1921 Todo el documento.	1 a 3 4 a 24	Novedad Nivel Inventivo
D2	WO97/18471 Pág 1623 a 1631.	4 a 24	Nivel Inventivo

3. Con el fin de realzar la novedad y el nivel inventivo de la presente solicitud, se realizó un estudio más detallado de la presente invención como también de los documentos de las referencias citadas y se encontraron los siguientes hechos:

Antecedentes de la invención

Es bien conocido en el estado de la técnica que una de las herramientas más poderosas en la obtención de nuevos prospectos de drogas es el tamizaje (investigación) aleatorio de librerías de productos naturales y sintéticos a fin de descubrir compuestos que se liguen a una molécula objetivo en particular. Usando este método, los ligandos pueden identificarse por su capacidad para formar una asociación física con una molécula objetivo o por su capacidad para alterar una función de una molécula objetivo.

Para realizar la determinación de la existencia de un ligamiento físico, una molécula objetivo típicamente será expuesta a uno o más compuestos, los cuales se sospecha que son posibles ligandos, y se realizarán ensayos para determinar sí se forman complejos entre la molécula objetivo y uno o más de tales compuestos. Dichos ensayos, como es bien conocido en este campo de la industria, analizan la presencia de cambios notorios en la molécula objetivo (por ejemplo, cambios en el tamaño, la carga, la movilidad) que indiquen la formación de un complejo.

En aquellos casos en los cuales se pueden medir tales cambios, las condiciones del ensayo se establecen de modo que permitan la medición de un evento biológico o químico relacionado con la molécula objetivo (por ejemplo, una reacción catalizada por una enzima, la activación de una enzima mediada por receptores, y similares). A fin de identificar una alteración, y por ende llevar a cabo la medición del cambio, la función de la molécula objetivo se determina antes y después de la exposición a los compuestos de prueba.

Los ensayos físicos y funcionales han sido usados exitosamente para identificar nuevos prospectos de drogas para su uso en el diseño de compuestos terapéuticos. Existen, sin embargo, limitaciones inherentes a aquellos ensayos que comprometen su precisión, confiabilidad y eficiencia. **Un problema importante con los ensayos existentes, es la generación de "falsos positivos"**. En un ensayo funcional típico, un resultado "falso positivo" se genera en el caso de un compuesto que active el ensayo pero que luego dicho compuesto no resulta efectivo en la practica al no producir la respuesta fisiológica deseada. En un ensayo físico típico, un "falso positivo" se presenta cuando, por ejemplo, el ligando se une de por sí a la molécula objetivo (blanco) pero no lo hace de una manera específica (por ejemplo, un ligamiento no específico). Los falsos positivos son particularmente prevalentes y problemáticos cuando se investigan concentraciones altas de ligandos putativos debido a que muchos compuestos presentan efectos no específicos a dichas concentraciones.

De manera similar, **los ensayos existentes también se encuentran afectados por el problema de "falsos negativos"**, los cuales resultan cuando un compuesto produce una respuesta negativa en el ensayo pero, tal como se encontrará subsecuentemente por algún otro método, sí corresponde realmente a un ligando de la molécula objetivo o blanco. Los resultados del tipo de "falsos negativos" típicamente ocurren en ensayos que usen concentraciones de compuestos de prueba que sean demasiado altas (dando lugar a toxicidad) ó demasiado bajas, respecto del ligamiento con el blanco o molécula objetivo, o respecto de la constante de disociación del compuesto.

Otro problema con los ensayos existentes es **la limitada cantidad de información que es proporcionada por el ensayo mismo**. Si bien el ensayo puede identificar de manera correcta compuestos que se unan a la molécula objetivo o que produzcan una respuesta con base en la molécula objetivo, dichos ensayos típicamente no proporcionan ninguna información acerca de los sitios de ligamiento específicos presentes en la molécula objetivo, o sobre las relaciones actividad/estructura entre el compuesto que está siendo sometido a prueba y la molécula objetivo. La incapacidad para proporcionar tal información es particularmente problemática cuando el ensayo de tamizaje (investigación de la presencia de compuestos con base en cierta propiedad) esté siendo usado para identificar prospectos de drogas que luego serán objeto de estudios adicionales.

Recientemente se ha sugerido que la cristalografía de rayos X puede emplearse para identificar los sitios de ligamiento de solventes orgánicos sobre las macromoléculas. Sin embargo, este método no permite determinar las afinidades relativas por el ligando en diferentes sitios de la molécula objetivo (blanco). Dicho método solamente es aplicable a proteínas objetivo muy estables que no se desnaturalicen en presencia de altas concentraciones de solventes orgánicos. Por otra parte, debido al prolongado tiempo necesario para determinar las estructuras individuales de los cristales, esta técnica no corresponde a un método apropiado para someter a ensayo rápidamente un gran número de compuestos que sean químicamente diversos. Este método se limita al mapeo (mapping)

177

de los sitios de ligamiento de tan solo unos pocos solventes orgánicos.

En las Patentes **US 5,698,401** y **5,804,390**, se revelan métodos rápidos, eficientes, y confiables para determinar el ligamiento de un ligando a una molécula objetivo, y para el mapeo de sitios de ligamiento ubicados en la molécula objetivo. Dichas patentes revelan métodos para la detección de ligamiento de un compuesto ligando a una biomolécula objetivo mediante la generación de un primero y un segundo espectros de correlación de resonancia magnética nuclear **(RMN)** correspondientes a las biomoléculas objetivo, las cuales han sido isotópicamente enriquecidas con el núcleo ^{15}N detectable por RMN. El primer espectro se genera a partir de los datos recolectados con base en la sustancia objetivo en ausencia de ligandos, y el segundo en presencia de uno ó más ligandos. Una comparación de los dos espectros permitirá la determinación de cual o cuales compuestos en la mezcla de ligandos putativos se ligan a la biomolécula objetivo, así como también proporcionará información específica acerca del sitio de ligamiento. Además, es deseable que los métodos puedan usarse para optimizar el diseño de nuevos ligandos putativos respecto de una molécula objetivo pre-seleccionada.

Debido a que algunos de los métodos RMN, exigen sustancias objetivo que contengan nitrógeno en razón de la dependencia de dichos métodos de enriquecimiento isotópico de la molécula objetivo con ^{15}N, la invención de la ptresente solicitud, constituye una valiosa contribución a este campo de la industria puesto que proporciona un método alternativo el cual empla un tipo diferente de molécula objetivo isotópicamente enriquecida con ^{13}C.

4. **Presente Invención**

La presente invención proporciona un novedoso método que emplea **RMN bidimensional** para detectar el ligamiento entre uno ó más ligandos putativos con una molécula objetivo preseleccionada, **la cual es isotópicamente enriquecida con ^{13}C**.

178

Adicionalmente, la presente invención proporciona también un método que permite la investigación o el tamizaje de una mezcla de compuestos a fin de encontrar aquellos que se ligan a una molécula objetivo que ha sido preseleccionada y ha sido isotópicamente enriquecida con ^{13}C. También se suministra un método para determinar la constante de disociación de un compuesto ligando que se ligue a una biomolécula objetivo que ha sido isotópicamente enriquecida con ^{13}C.

Así mismo, se enseñan métodos para la determinación de los aminoácidos específicos en una molécula objetivo enriquecida con isótopos de ^{13}C afectada por el ligamiento de un ligando. Y además, se suministra un compuesto identificado mediante un método de investigación de una mezcla de compuestos con base en el ligamiento a una molécula objetivo preseleccionada isotópicamente enriquecida.

En conclusión, es completamente claro que la presente invención se constituye como un novedoso método que sirve como alternativa a los métodos utilizados tradicionalmente para la investigación de las interacciones y para la identificación y selección de nuevos ligandos putativos y una biomolécula objetivo con el fin de proporcionar un método que sea rápido, eficaz, y preciso para obtener nuevos prospectos de drogas. En la presente solicitud, a diferencia de los métodos conocidos en el estado de la técnica, la biomolécula objetivo se ha enriquecido isotópicamente con ^{13}C, para identificar cuales de tales ligandos se unen efectivamente a dicha biomolécula objetivo y determinar la constante de disociación del complejo formado por el ligando y la biomolécula objetivo. Dicho método se caracteriza porque la determinación de las interacciones entre la biomolécula objetivo y el ligando se lleva a cabo por el enriquecimiento isotópico de la biomolécula objetivo con ^{13}C y empleando $^{13}C/^{1}H$ RMN en dos dimensiones.

Referencias Citadas

El señor Examinador cita los documentos **Protein Science vol. 5, no. 9, 1996, paginas 1917–1921 (D1) y WO 97/18471 (D2)**,

179

como relevantes para desvirtuar la novedad y el nivel inventivo de la presente solicitud.

El documento **D1** se relaciona con un proceso que usa RMN para caracterizar las interacciones entre una proteína de gran tamaño **(calcineurina)** y un complejo de droga **(FKBP-12/FK506)** que son conocidos en el estado de la técnica.

El documento **D2** revela un proceso para identificar compuestos que están unidos a una molécula objetivo especifica. El proceso consiste en a) generar un primer espectro de correlación **^{15}N/^{1}H RMN** de una molécula objetivo preseleccionada, la cual es isotópicamente enriquecida con ^{15}N, b) exponer la molécula objetivo a uno o una mezcla de compuestos químicos, c) generar un segundo espectro de correlación **^{15}N/^{1}H RMN** de la molécula objetivo preseleccionada usada en el paso b, y d) comparar dichos espectros de correlación para determinar las diferencias entre ambos. Las diferencias identifican la presencia de uno o más compuestos que son ligandos que se unen a la molécula objetivo.

Las referencias citadas se desarrollan o están relacionadas con el mismo campo de aplicación de la presente invención en cuanto a que hacen referencia a métodos para determinar compuestos que son ligandos que se unen a una molécula objetivo. Sin embargo, las enseñanzas de dichos documentos no son suficientes para desvirtuar la novedad y el nivel inventivo de la presente invención, como me permito demostrar a continuación.

Novedad

El documento **D1** citado por el señor Examinador se relaciona con un proceso para caracterizar las interacciones entre una proteína de gran tamaño y un complejo de droga. Sin embargo, ninguna de las enseñanzas de este documento es relevante para desvirtuar la novedad de la materia objeto específica que se reivindica en la presente invención. En efecto, la referencia **D1** falla en mostrar el aspecto crucial que resalta la novedad de la presente invención y es el hecho de que por primera vez, los ligandos pueden ser

seleccionados, identificados y designados por medio del método de análisis de la presente invención **el cual utiliza $^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional**. Tal y como se anoto anteriormente, la técnica de RMN fue utilizada como una herramienta útil para analizar el comportamiento de un compuesto ligando **conocido e identificado** con respecto a una biomolécula objetivo igualmente ya conocida. Aún más, el documento D1 no enseña que la técnica de RMN bidimensional fuera usada antes o fuera considerada como una técnica de gran utilidad para seleccionar nuevos y hasta ahora desconocidos ligandos putativos en experimentos de tamizaje o trabajos de investigación dirigidos a encontrar nuevos ligandos para cualquier molécula objetivo dada usando la técnica de $^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional.

De esta manera, el documento **D1** no resulta relevante para desvirtuar la novedad de la presente invención, toda vez que sus enseñanzas son **completamente diferentes** a los objetos reivindicados en la presente invención. A pesar de que el documento **D1** se desarrolla en el mismo campo científico de la presente invención, dicho documento no enseña de forma directa y específica el método para detectar el ligamiento de un ligando putativo a una molécula objetivo de la presente invención que emplea RMN bidimensional para realizar la **identificación y el tamizaje o selección de nuevos y desconocidos ligandos putativos** que se ligan a una molécula objetivo dada. Por lo tanto, de manera contraria a lo establecido por el señor Examinador, ninguna de las enseñanzas de dicho documento revela integralmente la presente invención.

En vista de lo anterior, la presente invención es absolutamente **NOVEDOSA** con respecto a las enseñanzas de la referencia citada, toda vez que nada en dicho documento enseña de manera directa y nada ambigua el método para detectar el ligamiento entre un ligando putativo y una molécula objetivo enriquecida isotópicamente con ^{13}C, tal como se encuentra específicamente reivindicado.

181

Nivel Inventivo

Dadas las diferencias técnicas expuestas anteriormente en cuanto al método para detectar el ligamiento entre un ligando putativo y una molécula objetivo de la presente solicitud y las enseñanzas de los documentos citados por el señor Examinador, es claro que la presente invención con sus características específicas no habría podido ser derivada de manera evidente por la persona versada en la materia a partir de las enseñanzas de los documentos citados.

En efecto, la materia objeto de la presente invención no resulta de ninguna manera obvia sobre las enseñanzas de las referencias citadas toda vez que el nuevo método que emplea $^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional trae ventajas significativas tal y como se muestra en las paginas 9 y 10 de la descripción. Una ventaja particular es alcanzada por **el marcado del sitio especifico del blanco con ^{13}C**, realizado por la inclusión de aminoácidos marcados con ^{13}C disponibles comercialmente, en el medio nutriente. Esto es deseable en algunas circunstancias cuando el marcado de cierto tipo de residuos aminoacilo en la molécula objetivo, debido a que el grupo metilo tiene tres átomos de hidrógeno conectados a un átomo de carbono marcado (^{13}C) y las correspondientes señales RMN son particularmente fuertes y distintivas con respecto a ciertos aminoácidos tales como leucina, isoleucina y valina.

Además, de la necesidad de **llegar a obtener nuevos prospectos de droga**, y en vista de las limitaciones de las tecnologías conocidas en el estado del arte, continua siendo una **necesidad proporcionar nuevos medios que sean rápidos, eficientes, exactos y confiables para la selección de nuevos compuestos que permitan identificar y diseñar nuevos ligandos putativos que específicamente se enlacen a una molécula objetivo en particular**. Por lo tanto, la presente invención se presenta como una novedosa alternativa que brinda una solución a esta necesidad, mediante el método reivindicado el cual utiliza la técnica de **$^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional** de acuerdo con la presente invención. Ninguna de las técnicas del arte anterior para identificar prospectos de droga se pueden describir como métodos tan confiables, y ninguno de los

182

procesos descritos en las referencias citadas enseña o sugiere la aplicación de **$^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional** como parte fundamental y especifica de un método para la identificación y selección de nuevos ligandos putativos que permitan a los investigadores obtener nuevos prospectos de drogas para múltiples aplicaciones médicas y terapéuticas.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, es completamente claro que una persona versada en la materia que pretendiera desarrollar **un método para detectar el ligamiento entre un ligando putativo y una molécula objetivo para la identificación y selección de ligandos putativos que permitan llegar a obtener nuevas drogas**, como el reivindicado en la presente invención, no encontraría ninguna motivación para emplear las referencias citadas que le enseñan el uso de **métodos dirigidos a medir interacciones específicamente entre proteínas de gran tamaño y complejos de droga, o técnicas que se valen de un isótopo diferente como el ^{15}N**. Además, tampoco seria obvio para una persona versada en la materia reemplazar el ^{15}N por el ^{13}C, toda vez que son dos isótopos que presentan grandes diferencias físicas que influyen en forma apreciable la aplicación especifica de la técnica del RMN, y que unido a lo anterior proporcionan información diferente debido a la existencia de pocos grupos nitrogenados frente a la gran cadena carbonada que presentan la mayoría de biomoléculas que pueden ser empleadas en la investigación de nuevas drogas.

De otra parte, la reivindicación 1 de la presente solicitud se refiere a la selección de nuevas drogas **detectando enlaces entre un ligando <u>putativo</u> y una molécula objetivo pre-seleccionada y la cual ha sido enriquecida isotópicamente en ^{13}C**. El documento **D1** no anticipa la reivindicación 1 debido a que **D1** revela estudios RMN de un ligando **<u>conocido</u>** e interacciones con receptores conocidos (calcineurina y FKBP-12FK506, ver pagina 1917, segundo párrafo del resumen y la mitad de la segunda columna). Además, **D1** no revela ni sugiere la generación de una correlación espectral de **$^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional** de una molécula objetivo, formando una mezcla de dicha molécula objetivo

183

con al menos un compuesto ligando putativo, y la generación de una segunda correlación espectral de **$^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional** de la mezcla y la comparación del primer y el segundo espectro, como se reivindica en la presente solicitud.

El señor Examinador objeta las reivindicaciones 4 a 24 por carecer de nivel inventivo. En este sentido, el señor Examinador puede notar que el problema resuelto por el documento **D1** es encontrar un método para estudiar efectivamente las interacciones entre dos moléculas ampliamente **conocidas**, calcineurina y FKBP-12FK506 (ver pagina 1917, segundo párrafo del resumen). La solución al problema presentado en **D1** es usar RMN para el estudio de interacciones entre estas dos moléculas especificas. Así, el problema y la solución presentada por el Solicitante de la presente solicitud y las enseñanzas reveladas en **D1 son completamente diferentes**.

Adicionalmente, el Examinador cita el documento **WO 97/18371 (D2)**, como relevante para desvirtuar el nivel inventivo de las reivindicaciones 4 a 24 de la presente invención. Sobre este particular, atentamente me permito manifestarle a ese Despacho que el Solicitante de la presente invención conoce perfectamente las enseñanzas reveladas en el documento **D2**, el cual revela un proceso para identificar compuestos que se enlazan a una molécula objetivo especifica que ha sido enriquecida isotópicamente con **^{15}N** y que usa **$^{15}N/^{1}H$ RMN**. Sin embargo, el documento **D2** no enseña ni sugiere el método para identificar y seleccionar nuevos ligandos putativos que emplea la técnica de **$^{13}C/^{1}H$ RMN** que sí es posible en el método reivindicado en la presente invención.

De acuerdo con lo anterior, resulta completamente claro que la presente invención si cumple con los requisitos de Novedad y Nivel inventivo requeridos sobre las enseñanzas de los documentos **D1** y **D2** en vista de los siguientes aspectos técnicos:

(a) El método para detectar el ligamiento entre un ligando putativo y una molécula objetivo preseleccionada, que comprende el

184

análisis de RMN bidimensional representa una mejor tecnología para identificar y seleccionar nuevos prospectos de drogas;

(b) En ninguno de los documentos del estado del arte se enseña un método como el de la presente invención que tiene como parte fundamental el empleo de la **RMN bidimensional para la identificación y selección de nuevos ligandos desconocidos que permitan obtener nuevas drogas**; y

(c) De los conocimientos existentes en el estado de la técnica no podría ser obvio o evidente que el método reivindicado en la presente invención proporcionaría las ventajas y el progreso técnico que fue de hecho observado por los Solicitantes de la presente solicitud a la hora de desempeñar su actividad inventiva.

En consecuencia, es completamente claro que el método para detectar el ligamiento entre un ligando putativo y una molécula objetivo reivindicado en la presente solicitud posee la **NOVEDAD y el NIVEL INVENTIVO** requeridos sobre las enseñanzas de las referencias citadas **D1** y **D2**, ya sean solas o en combinación, toda vez que existen claras diferencias técnicas que no pueden resultar obvias o evidentes para la persona versada en la materia que empleara dichos documentos. Más aún, la combinación de las enseñanzas de estas referencias solamente alejarían a la persona versada en la materia del objeto reivindicado y los sorprendentes resultados obtenidos con el método reivindicado en relación con las ventajas de optimización del procedimiento de identificación y selección de ligandos putativos no conocidos para ser ligados a moléculas objetivo y obtener nuevos prospectos de drogas, le serían completamente inesperados.

5. De conformidad con los argumentos expuestos anteriormente resulta evidente que **la presente invención sí posee la novedad requerida sobre el documento D1**, toda vez que nada en dicho documento citado como referencia revela el método reivindicado en la presente invención **que comprende componentes y etapas específicas para identificar y seleccionar los diferentes ligandos**

185

que se pueden ligar a una molécula objetivo, en la investigación de nuevos prospectos de drogas. Con respecto a la novedad, el señor Examinador agrega que el documento **D1** afecta la novedad de la presente invención afirmando que **"...es conocido en el estado de la técnica el método que tiene los mismos componentes que la invención definida en las reivindicaciones 1 a 3 de la solicitud colombiana"**.

Con respecto a lo anterior, atentamente me permito manifestar a ese Despacho que el Solicitante no esta de acuerdo con tal afirmación, la cual resulta totalmente incorrecta, toda vez que nada en dicho documento **D1** revela en forma directa el método para identificar y seleccionar ligandos putativos que se enlazan a biomoléculas objetivo, el cual se caracteriza fundamentalmente por emplear el análisis de **$^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional tal y como se reivindica en la presente solicitud**. El hecho de que el documento **D1** forme parte del estado de la técnica o se desarrolle bajo el mismo campo de aplicación de la invención en estudio **no implica de ninguna manera que ya sea conocido en el estado de la técnica el método con las características específicas reivindicadas en la presente invención**.

De otra parte, con respecto al nivel inventivo, el Examinador agrega que **" Siendo que la anterioridad D1 había indicado que el isótopo ^{13}C era adecuado para el estudio mediante RMN de la unión de moléculas marcadas isotópicamente y ligados putativos, resulta evidentemente derivado del estado de la técnica, utilizar dicho isótopo en variaciones del método D1 como son los métodos revelados en D2"**.

Sobre este particular, atentamente me permito manifestar que el Solicitante difiere de esta afirmación, toda vez que las ventajas en cuanto a la optimización del método reivindicado para identificar y seleccionar en forma rápida, efectiva, exacta y confiable nuevos ligandos putativos para obtener nuevas drogas como se reivindica en la presente solicitud eran totalmente inesperadas y solamente podían ser determinadas mediante un exhaustivo trabajo de laboratorio. El hecho de que los documentos citados formen parte del estado de la técnica o se desarrolle bajo el mismo campo de aplicación de la invención en estudio **no implica de**

136

ninguna manera que el problema propuesto ya tenga una solución. De hecho, el señor Examinador puede notar que ninguno de los documentos citados, ya sea solos o en combinación, enseña o sugiere las ventajas que se obtienen mediante la utilización del método reivindicado en la presente invención. Este hecho resulta evidente si se considera que los métodos enseñados en los documentos **D1** y **D2** no incluyen las características técnicas específicas requeridas por la presente invención para lograr dichos resultados mejorados, como lo es, **llegar a obtener nuevas drogas a través de la utilización del nuevo método que emplea $^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional para identificar y seleccionar ligandos putativos no conocidos que se liguen a una molécula objetivo marcada con ^{13}C**. En este sentido, la presente invención, tal como esta reivindicada, si presenta una altura inventiva que significa un aporte al estado de la técnica, toda vez que consiste en un método que proporciona una alternativa novedosa en las investigaciones que se llevan a cabo para obtener nuevas drogas proporcionando ventajas de identificación y selección de nuevos ligandos lo cual no era posible hasta el momento en el estado de la técnica.

En consecuencia, los argumentos técnicos expuestos anteriormente son contundentes en demostrar que la presente invención es absolutamente novedosa e inventiva sobre las enseñanzas de las referencias citadas, toda vez que no está contenida en las enseñanzas de **D1** y además no constituye una derivación evidente a partir de las enseñanzas de los documentos citados, **D1** y **D2**, ya sea solos o en combinación.

6. Adicionalmente, respecto a la objeción de novedad del método reivindicado, atentamente dirijo la atención de ese Despacho a la lectura de algunos párrafos de "Breuer, C.M. Tratado de Patentes de Invención. Volumen I. Abeledo-Perrot Editores. Buenos Aires. Argentina. 1957" de cuyas páginas 158 y 161 se anexa copia, en donde se establece lo siguiente: "**La novedad de los procedimientos, es decir, el invento, puede consistir: a) en la agregación de alguna nueva etapa; d) en tratar materiales en sí conocidos en forma también conocida en sí, pero que no había sido usada para el tratamiento de esos materiales.....En forma general, puede decirse que el nuevo procedimiento puede caracterizarse como invención: a) en la**

187

manera de operar; b) por los materiales que son operados, y c) por ambas cosas a la vez. En todos los casos – y como ocurre respecto de todas las demás invenciones – la pauta acerca de sí existe o no invención nos la dará el resultado.....El procedimiento químico puede producir un nuevo resultado y ser, por consiguiente, patentable: ...(c) cuando mediante una o más reacciones practicadas en forma conocida, se tratan productos que nunca habían sido empleados para obtener el resultado perseguido". En el presente caso, el modo de operar mediante las etapas del procedimiento de la presente invención y el empleo de la **RMN bidimensional** como técnica fundamental para la utilización del método reivindicado permiten llegar a obtener nuevos prospectos de drogas de manera rápida, eficaz, exacta y confiable, esto es, el resultado.

De otra parte, es evidente que la argumentación presentada por el señor Examinador en su Concepto Técnico con respecto al nivel inventivo de la presente invención corrobora en forma clara que este es el resultado de un análisis del tipo "hindsight" como se le conoce ampliamente a este tipo de análisis en el campo de la propiedad intelectual. Como se ha expuesto en reiteradas ocasiones a esa Oficina, este tipo de análisis no es permitido para desvirtuar el concepto de altura inventiva de una invención determinada. En un análisis del tipo "hindsight", el Examinador no enfoca su análisis en el momento en el que el solicitante plantea un problema con el fin de solucionar las fallas técnicas existentes en los productos y procesos convencionales, sino en la solución dada al problema planteado. Además, en este tipo de análisis el Examinador no parte del problema mismo que existía en la técnica en el momento en que **el solicitante dirige todos sus esfuerzos para encontrar una solución, sino que enfoca su estudio en el momento en que el problema ya fue resuelto**. Por lo tanto, es necesario que el Examinador deba dar una mayor importancia al problema técnico planteado y a los medios realizados para llegar a la solución propuesta al momento de enfocar su análisis, en lugar de limitarse a la simple comparación de características técnicas del producto o procedimiento que es objeto de la patente solicitada con las características reveladas en las referencias citadas. Más aún, el señor Examinador no debe olvidar que una invención no deja de ser novedosa por el simple hecho de que para llegar a cumplir su objetivo **utilice**

materiales convencionales como materias primas. Tampoco debe limitar su examen al simple hecho de que en el estado de la técnica ya existen algunos métodos que se utilizan en las investigaciones para determinar las interacciones entre un ligando conocido y una molécula objetivo igualmente conocida. Por el contrario, la capacidad inventiva gira en torno al hecho de suministrar soluciones a los productos o procedimientos convencionales mediante la manipulación de los materiales comunes para la fabricación u obtención de un nuevo producto o droga de interés, de acuerdo con el presente caso.

Aún más, sobre este mismo particular, atentamente dirijo la atención del señor Examinador a la Interpretación prejudicial 21-IP-2000 del 27 de Octubre del 2000, páginas 24.35 a 35.36. Específicamente, el capitulo: I "INVENCION Y REQUISITOS DE PATENTABILIDAD" en la página 29.36 establece "**...el nivel inventivo, del cual se desprende que la invención, además de no ser obvia para un experto medio, debe ser siempre el resultado de una actividad creativa del hombre, sin que ello signifique que para alcanzar la regla técnica propuesta, no se puedan utilizar procedimientos o métodos comunes o ya conocidos en el área técnica correspondiente. Específicamente en el área de los inventos químicos y biotecnológicos sucede con frecuencia que aplicando procedimientos conocidos pueden obtenerse resultados inesperados para una persona normalmente versada en la materia. Por ello, el juicio del nivel inventivo no puede ser elaborado con criterios generales, sino que dependerá de las especiales circunstancias de cada caso**". (el subrayado es mío). En el presente caso, el método específico de la presente invención es el resultado de la creatividad del solicitante, sin embargo, para la persona normalmente versada no habrían sido obvios los componentes y las etapas específicas de dicho método que lo hacen útil para identificar y seleccionar nuevos ligandos en la investigación de nuevas drogas, en comparación con los métodos convencionales. Además, al tenor de lo dispuesto en esta interpretación, es claro que el análisis realizado por el señor Examinador con respecto al nivel inventivo de la presente invención se llevo a cabo con base en criterios generales sin demostrar con argumentos contundentes de que manera específica habría sido

198
189

obvia la presente invención a partir de las enseñanzas del estado de la técnica.

En consecuencia, los argumentos expuestos anteriormente son completamente claros en demostrar que la presente invención es **NOVEDOSA** sobre las referencias citadas, toda vez que ninguno de dichos documentos revela de manera directa y nada ambigua el método para detectar el ligamiento de un ligando putativo a una molécula objetivo que emplea **$^{13}C/^{1}H$ RMN bidimensional** que se reivindica en la presente invención. Además, si posee **EL NIVEL INVENTIVO** requerido sobre las enseñanzas de los documentos citados, ya sea solos o en combinación, toda vez que ninguno de dichos documentos habría podido anticipar a la persona versada en la materia el método reivindicados en la presente invención y sus ventajas para identificar y seleccionar nuevos ligandos putativos, en la obtención de nuevas drogas que solo son posibles con el empleo de dicho método.

7. En vista de todo lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las argumentaciones presentadas y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,

JOSE ANTONIO LLOREDA
T.P. 10.784
Código 231