

AF



CSA126871

Organización y
Digitalización CSA Ltda

Industria y Comercio

Organización CSA Ltda

SUPERINTENDENCIA

[Handwritten signature]



SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. **EXPEDIENTE No.**

00-42309

54. **TITULO**

PREPARACIÓN FARMACÉUTICA QUE CONTIENE UNA DE LAS NEUROTOXINAS

BOTULINICAS DE CLOSTRIDIUM BOTULINUM DE LOS TIPOS A, B, C, D, E,

E, F, O G, O UNA MEZCLA DE DOS O MÁS DE ÉSTAS NEUROXINAS.

51. **CLASIFICACION INTERNACIONAL**

A61 A61K³⁵/74

*BioteCon Gesellschaft für Biotechnologische Entwicklung
und Consulting mbH.*

71. **SOLICITANTE**

DOMICILIO

POTSDAM, ALEMANIA

74. **APODERADO**

IGNACIO ESCOBAR URIBE

22. **SANTAFE DE BOGOTA, D.C.**

JUNIO 7 DE 2000

*30037
2070107*

CS

(51) CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A 61 K ³⁵/74 2346/P

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

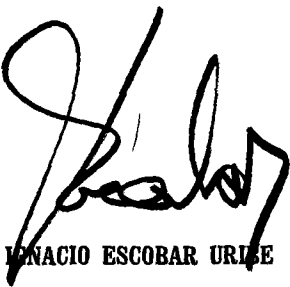
La presente invención se refiere a una preparación farmacéutica que contiene una de las neurotoxinas botulínicas de Clostridium botulinum de los tipos A, B, C, D, E, F, o G, o una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas, caracterizada porque la neurotoxina o bien la mezcla de neurotoxinas está libre de proteínas complejizantes que de manera natural forman los complejos de neurotoxina botulínica junto con las neurotoxinas.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica	No.	☐
Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC	No.	☐
Recibo de la tasa respectiva	No. 26,772	☒
Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación		☐
Si se reivindica prioridad Andina:		
Copia de la primera solicitud		☐
Traducción oficial		☐
Si se reivindica prioridad Unionista:		
Copia certificada de la primera solicitud:		☐
Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior		
Traducción simple		☐
Capítulo descriptivo		☒
Dibujos planos necesarios		☐
Capítulo reivindicatorio		☒
Tarjeta archivo propiedad según formato		☒
Tarjeta archivo temático según formato		☒
Extracto para publicación según formato		☒
Arte final 12 x 12 cms Y 6x6 cms		☐
Otros documentos		☐

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

**FIRMA
NOMBRE**


IGNACIO ESCOBAR URIBE

C.C. 2.886.770 de Bogotá

T.P. No. 12.772

2346

2



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176029-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 00042309 00000000

Folios: 26

Fecha (AMD): 2000-06-07 15:45:24

Trámite : 002 PATENTES : 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 01,772
FECHA : ABRIL 23 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	VA. PAGO
ESCORBAR URIBE ASOCIADOS	CONDIGNACION	BANCO POPULAR	BOSOTA	050-00024-9	00000000	10,145,000.00

***** CONCEPTO *****

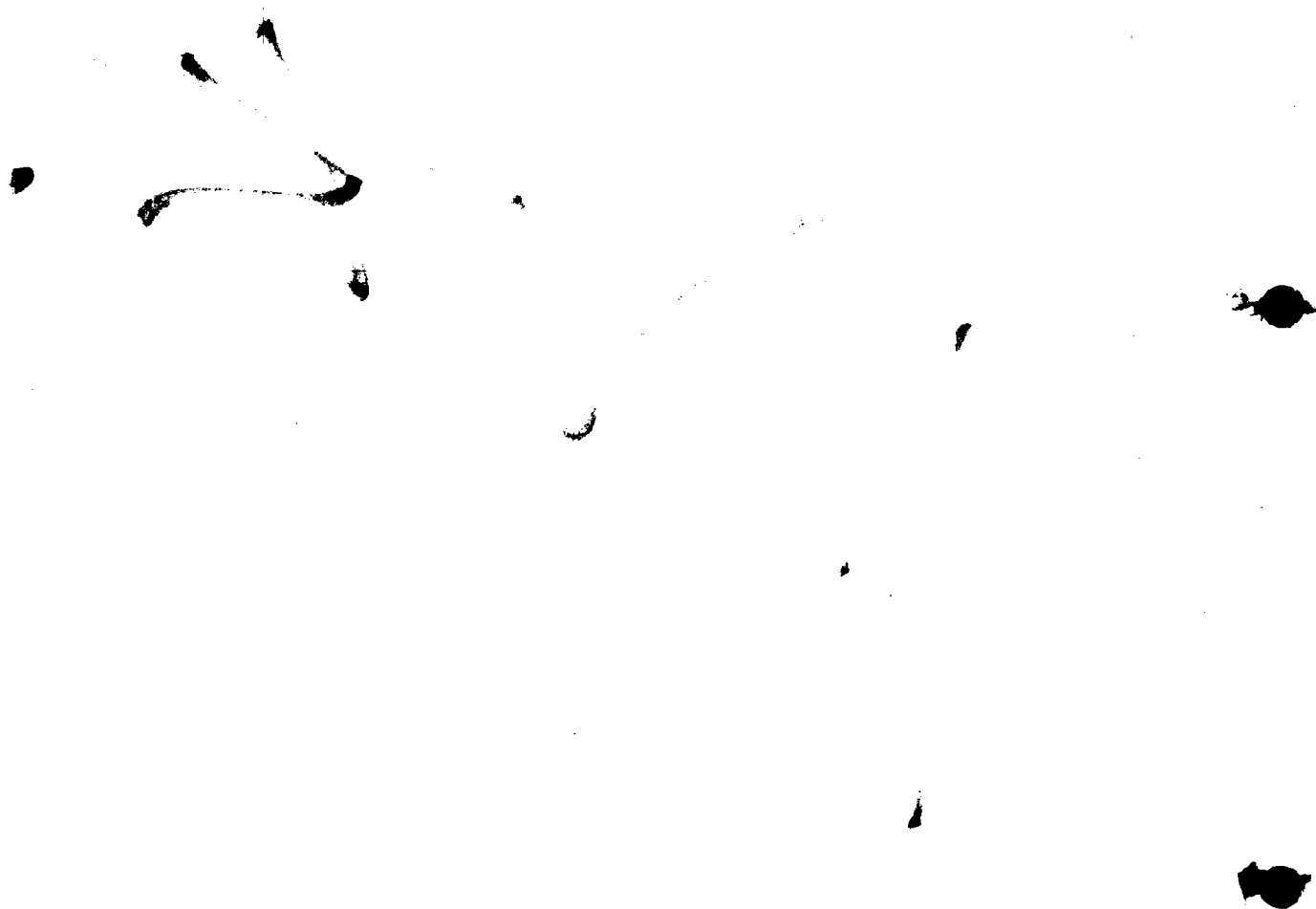
CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUD DE	100,000.00
1 TRAMITE DE SOL. DE PATENTE DE IN	100,000.00
TOTAL :	200,000.00

CON: SEISCIENTOS OCHO 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



Agente terapéutico con una neurotoxina botulínica

MEMORIA DESCRIPTIVA

El invento se refiere a preparaciones farmacéuticas que contienen una neurotoxina de *Clostridium botulinum*, donde la neurotoxina está libre de las proteínas complejizantes que están presentes de manera natural en el complejo. La consecuencia inmediata de ello es el reconocimiento en el cual se basa el presente invento, en el sentido de que la neurotoxina libre, contrariamente a lo que sucede con el complejo, no produce o produce en forma marcadamente disminuida, la inducción de anticuerpos neutralizadores en el paciente. El presente invento se refiere además al empleo de neurotoxinas botulínicas de *Clostridium botulinum* para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso. Otro aspecto del presente invento se refiere al empleo de la toxina botulínica de *Clostridium botulinum* para el tratamiento cosmético.

El complejo de toxinas de *Clostridium botulinum* del tipo A (M_r 900.000) es empleado desde hace varios años para el tratamiento de diversas distonías. Actualmente están autorizados dos preparados distintos que contienen este complejo, para el tratamiento del blefarospasmo (espasmo de los párpados), de los espasmos hemifaciales y del espasmo rotatorio (*Torticollis spasmodicus*): BOTOX® y DYSPORT®. La terapia de otras enfermedades del sistema nervioso

(espasticidades, migraña, lumbalgia, síndrome cervical, hipersalivación) está siendo examinada clínicamente en la actualidad. Los preparados se emplean además en indicaciones cosméticas tales como la hiperhidrosis y la formación pronunciada de arrugas. También los otros complejos de toxina *Clostridium botulinum* (de los tipos B, C, D, E, F, G) son apropiados para estas terapias. Sin embargo, hasta el momento, no existe en el mercado producto alguno autorizado, conteniendo toxina del tipo B-G.

Los complejos de toxina botulínica se componen de una mezcla de proteínas clostridiales. Estas son hemaglutininas con masas moleculares diferentes, una proteína no tóxica no hemaglutinante (M_r alrededor de 120.000) y una neurotoxina (M_r alrededor de 150.000). Las mismas conforman un complejo estable frente a ácidos que es responsable de la toxicidad oral en intoxicaciones por alimentos. Contrariamente a lo que ocurre con la neurotoxina pura, el complejo resiste el medio ambiente agresivo del tracto gastrointestinal y posibilita la resorción enteral de la neurotoxina, la que alcanza las células de destino a través del torrente sanguíneo o del sistema linfático y desencadena allí un bloqueo de la liberación de transmisores. Se llega así a la parálisis de la musculatura estriada y lisa y a la extinción de diversas funciones vegetativas. Los pacientes intoxicados mueren de una insuficiencia de la musculatura respiratoria.

Debido a que la neurotoxina pura se descompone en el tracto gastrointestinal y por lo tanto no se resorve enteralmente, no es venenosa después de una ingestión. Aplicados parenteralmente, no se diferencian los efectos terapéuticos de la neurotoxina y del complejo debido a que el complejo se desintegra en el tejido en sus partes componentes y solo la neurotoxina es absorbida en las células de destino.

Para la aplicación terapéutica, según el estado actual de la técnica, el complejo se inyecta directamente en los músculos distónicos o espásticos, donde la neurotoxina, a un pH fisiológico, es liberada del complejo y provoca la acción farmacológica deseada. A pesar de que el complejo es aplicado solo en dosis sumamente reducidas (1-25 ng, según la indicación y el tamaño del músculo) después de inyecciones reiteradas, se llega en un número considerable de pacientes a la formación de anticuerpos específicos neutralizadores que también están dirigidos contra la neurotoxina. La consecuencia inmediata es que los pacientes con anticuerpos positivos ya no reaccionan al complejo. Ellos podrían ser tratados con otros tipos de toxina, de los cuales sin embargo ninguno está autorizado para ser empleado terapéuticamente. Cuando el paciente ha probado todos los tipos de toxina y formado anticuerpos contra los mismos, entonces la aplicación ulterior de un complejo de toxina botulínica (cualquiera sea el tipo) ya no ofrece ayuda. Debe

ser tenido en cuenta que cada aplicación del complejo lleva a una elevación del índice de anticuerpos hasta llegar a un punto, en que otra aplicación del complejo ya no tiene sentido porque ya no se obtiene efecto alguno. Hasta que el título de anticuerpos desciende lo suficientemente, transcurren muchas veces años, de manera que estos pacientes no pueden ser tratados (con neurotoxina botulínica) por largos períodos de tiempo.

La formación de anticuerpos específicos se ve beneficiada por dos factores. Por un lado, la neurotoxina, fijada en el complejo, queda depositada por un lapso de tiempo más prolongado en el tejido y puede activar las células inmunizantes que migran hacia el tejido, a fin de que formen anticuerpos. El largo tiempo de residencia no lleva sin embargo a una absorción incrementada en las células de destino debido a que células de destino intoxicadas ya no pueden absorber la toxina. La neurotoxina que se disocia lentamente del complejo es por lo tanto ya solo efectiva inmunológicamente. Por el otro lado, las proteínas contenidas en el complejo refuerzan una respuesta inmunológica. Las hemaglutininas son lectinas, es decir proteínas que se destacan por una alta afinidad a ciertos azúcares. A raíz de su enlace a estructuras sacáricas, las lectinas actúan de manera inmunoestimulante. Así pudo ser demostrado que la lectina concanavalina A, la

fitohemaglutinina y los mitógenos de Phytolacca activan los linfocitos T y B. Las hemaglutininas de los complejos de toxina botulínica, que igualmente se enlazan a azúcares presentes en las membranas, pueden funcionar por lo tanto de manera similar como adyuvantes inmunológicos y contribuir a la formación de anticuerpos y con ello al fracaso de la terapia.

Fue por ello que los inventores del presente invento se propusieron la tarea de desarrollar un tratamiento alternativo para las enfermedades y trastornos antes mencionados. Los inventores quisieron, en particular, proponer una sustancia activa apropiada con la cual pueden ser tratados pacientes, que ya han desarrollado anticuerpos neutralizadores.

Como solución a la tarea propuesta, como alternativa a los dos preparados comerciales de complejos de toxina botulínica del tipo A, BOTOX® y DYSPORT® y también como alternativa con respecto a los complejos descritos en el estado de la técnica de los restantes tipos (B, C, D, E, F, G), se desarrolló un nuevo medicamento que contiene solo neurotoxina pura (tipo A, o bien B, C, D, E, F, G) y que está libre de hemaglutininas y otras proteínas ajenas al cuerpo. Debido a su masa molecular reducida, se difunde más rápidamente hacia las células de destino, en las que es absorbido antes de que se activen células inmunológicas

atraídas por hemaglutininas. En estudios de antigenidad encontramos que la neurotoxina pura de todos los tipos, a diferencia de los preparados comerciales del tipo A y de los complejos de los tipos B a G, no desencadena, o lo hace en una medida muy reducida, la formación de anticuerpos. En la aplicación terapéutica de estos nuevos medicamentos desarrollados (neurotoxina pura de los tipos A, B, C, D, E, F, G) aún después de repetidas aplicaciones no se llega a un fracaso de la terapia condicionado por la formación de anticuerpos. Por otro lado pudo ser demostrado que las neurotoxinas puras, debido a su inmediata biodisponibilidad, son apropiadas también para la terapia de pacientes que después de la aplicación de un complejo de toxina botulínica, como por ejemplo después del tratamiento con BOTOX® o DYSPORT®, han desarrollado un índice de anticuerpos contra el tipo correspondiente (los así llamados secondary non-responders), es decir que no pueden seguir siendo tratados con BOTOX® o DYSPORT® porque el suministro de las toxinas comerciales ya no alivian las afecciones.

El medicamento provisto de acuerdo con el invento es apropiado como remedio en particular en pacientes que presentan un índice de anticuerpos contra la toxina botulínica, particularmente la del tipo A. El producto farmacéutico de acuerdo con el invento (neurotoxina pura o mezcla de varias neurotoxinas puras) es particularmente

9

apropiada para aquellos pacientes que presentan un índice de anticuerpos de no más de 50, preferentemente de no más de 30, más preferentemente de no más de 20, particularmente preferido de no más de 10 y especialmente preferido de no más de 5 mU/ml. Siendo 1 mU de anticuerpo, la cantidad de anticuerpo que neutraliza 10 U de toxina.

Por otro lado, el producto farmacéutico de acuerdo con el invento puede ser aplicado de manera particularmente ventajosa en aquellas personas que nunca antes o desde hace muchos años no han sido tratados con neurotoxina botulínica, ya que su índice de anticuerpos es baja o igual a cero desde el principio. La ventaja del presente invento reside entonces en que el índice de estos pacientes no se incrementa o en todo caso se incrementa de manera poco sustancial por el tratamiento de la toxina pura de acuerdo con el presente invento. En otras palabras, el remedio de acuerdo con el invento puede ser suministrado durante largos períodos de tiempo sin que se vea afectado su efecto.

La inducción de anticuerpos en la terapia con una toxina de *C. botulinum* se disminuye entonces porque, en lugar de los tóxicos complejos molecularmente altos, se aplica una neurotoxina pura. La neurotoxina completamente separada de las proteínas del complejo es biodisponible inmediatamente y puede enlazarse de manera directa a las terminaciones nerviosas de las placas motoras terminales.

Un aspecto del presente invento se refiere por lo tanto a una preparación farmacéutica que contiene por lo menos una de las neurotoxinas botulínicas de *Clostridium botulinum* de los tipos A, B, C, D, E, F o G (o una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas), donde todas las neurotoxinas están libres de las proteínas complejizantes que están presentes de manera natural en los complejos.

De acuerdo con una forma de realización preferida se trata de una preparación farmacéutica que se caracteriza porque la neurotoxina o la mezcla de las neurotoxinas lleva en el paciente a ninguna o, en comparación con los complejos, a una inducción muy reducida de anticuerpos neutralizadores.

Otra forma de realización preferida prevé una preparación farmacéutica que contiene como neurotoxina o como mezcla de neurotoxinas una neurotoxina natural o una mezcla de neurotoxinas naturales.

Otra forma de realización preferida prevé una preparación farmacéutica que contiene como neurotoxina o como mezcla de neurotoxinas una neurotoxina recombinante o una mezcla de neurotoxinas recombinantes.

Otra forma de realización preferida de la preparación farmacéutica de acuerdo con el invento prevé una preparación que presenta como neurotoxina la neurotoxina de *Clostridium*

8 11

botulinum tipo A o B, o como mezcla de neurotoxinas, una mezcla de neurotoxinas de Clostridium botulinum tipo A y B.

Otro aspecto del presente invento se refiere al empleo de la neurotoxina botulínica de Clostridium botulinum de los tipos A, B, C, D, E, F o G o una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso o de distonías. En el caso de las enfermedades del sistema nervioso o de las distonías, se trata de acuerdo con una forma de realización preferida de acuerdo con el invento, del espasmo rotatorio y del blefarospasmo (espasmo de los párpados), de espasmocidades tales como el pie equino, los espasmos hemifaciales, la migraña, la lumbalgia, el síndrome cervical o la hipersalivación.

Por otro lado, otro aspecto del presente invento se refiere al empleo de la neurotoxina botulínica de Clostridium botulinum de los tipos A, B, C, D, E, F o G o de una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas para el tratamiento cosmético, donde se prefiere particularmente un tratamiento cosmético para el tratamiento de la hiperhidrosis y la formación de arrugas, en particular en el ámbito de la cara.

Es preferida de manera especialmente particular, en el sentido del presente invento, el empleo de una de las neurotoxinas en forma individual o en forma de mezcla para

la preparación de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades nerviosas, mencionadas anteriormente, en aquellas personas (preferentemente en seres humanos pero también en animales) que ya presentan anticuerpos neutralizadores contra un complejo de neurotoxina botulínica, en particular contra el complejo de *Clostridium botulinum* tipo A o B, o contra varios complejos, en particular contra los complejos de *Clostridium botulinum* tipo A y B (los así llamados secondary non-responders).

La neurotoxina, sus mezclas o sus preparaciones farmacéuticas de acuerdo con el invento, pueden presentarse como soluciones acuosas, en particular como soluciones inyectables acuosas, pero también como productos liofilizados.

Las neurotoxinas puras conocidas en sí de los tipos A-G se prepararon de acuerdo con los protocolos que están contenidos en las publicaciones enunciadas en la lista bibliográfica. A manera de ejemplo se describe la purificación de dos neurotoxinas (tipo A y B) en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Aislación de una neurotoxina pura

La neurotoxina pura de *Clostridium botulinum* tipo A se obtiene de acuerdo con un procedimiento que se apoya en el procedimiento de DasGupta & Sathyanoorthy. El *Clostridium botulinum* tipo A se cultiva en un biorreactor de 20 l en un

medio que consiste de 2% de proteose peptone, 1% de extracto de levadura, 1% de glucosa y 0,05% de tioglicolato de sodio. Después de 72 horas de crecimiento, la toxina se precipita mediante el agregado de 3N H_2SO_4 (pH final = 3.5). La biomasa precipitada y centrifugada se extrae con 0.2 M de un tampón de fosfato de sodio a un pH de 6.0.

Después de la separación de los ácidos nucleicos por precipitación con sulfato de protamina, la toxina es precipitada mediante el agregado de sulfato de amonio. El precipitado solubilizado y dializado con 50 mM de fosfato de sodio a pH 6.0 se enlaza sobre una columna de DEAE-Sephadex a igual valor pH y se separa con 150 mM NaCl. Seguidamente se efectuó una cromatografía sobre una columna de QAE-Sephadex que fue equilibrada con un tampón de 50 mM Tris/HCl, pH 7.9. Se eluye la toxina sobre un gradiente de NaCl. En el último paso, la toxina se cromatografía sobre SP-Sephadex a pH 7.0. La toxina enlazada es separada de la columna mediante un gradiente de NaCl (0 - 300 mM). La toxina purificada es analizada en una electroforesis de SDS (dodecilsulfato de sodio) poliacrilamida (SDS-PAGE) y presenta una pureza de 95 ± 5 %. La actividad biológica es determinada en el ensayo LD_{50} con ratones: una unidad- LD_{50} corresponde a 4.8 pg de proteína.

Ejemplo 2: Preparación de un producto farmacéutico terminado conteniendo neurotoxina bolutínica

Con una neurotoxina purificada del ejemplo 1 se prepara una solución que contiene 200 unidades ratón LD₅₀, 10 mg de sacarosa y 2 mg de seroalbúmina humana por ml. 0,5 ml de la solución son envasados en ampollas y liofilizados. Los liofilizados se reconstituyen con una solución fisiológica de sal de cocina y se determina la actividad biológica. Las ampollas contienen 100 ± 30 unidades LD₅₀.

Ejemplo 3: Aislación de neurotoxina B pura

Se cultiva *Clostridium botulinum* tipo B en el mismo medio y bajo las mismas condiciones que el tipo A y se procesa hasta la precipitación de sulfato de amonio. Seguidamente se lleva a cabo nuevamente una cromatografía DEAE-Sephadex a pH 6.0. Las fracciones eluidas de la columna con 150 mM de NaCl son purificadas y dializadas con fosfato de sodio a pH 7.0, a lo que sigue una cromatografía sobre QAE-Sephadex. Las fracciones que contienen toxina se cromatografían sobre una cromatografía DEAE-Sephadex a pH 8.5 (50 mM Tris/HCl pH 8.5).

Finalmente se obtiene una toxina botulínica tipo B altamente pura sobre una cromatografía en hidroxilapatito equilibrada con 10 mM de fosfato de sodio a pH 8.0. La toxina homogénea enlazada se eluye con 80 mM de fosfato de sodio a pH 8.0 y seguidamente se determina la actividad biológica en el ensayo LD₅₀ (2 - 4 x 10⁷ unidades LD₅₀/mg de proteína).

Ejemplo 4: Detección de anticuerpos

A 20 conejos les fueron inyectados intracutáneamente 25 U de BOTOX® durante un lapso de 12 semanas, a intervalos de 14 días (5 inyecciones). Después de 3 semanas y luego a intervalos de 14 días se les extrajo suero.

Los anticuerpos contra Clostridium botulinum neurotoxina A fueron determinados con un inmunoensayo enzimático, estando la neurotoxina homogénea inmovilizada sobre una placa de microíndice. Los anticuerpos enlazados a la neurotoxina fueron cuantificados mediante un segundo anticuerpo marcado enzimáticamente.

El resultado está volcado en la Tabla 1. Ya a las 5 semanas de la primera aplicación pudieron ser determinados anticuerpos en 5 conejos. Luego de 11 semanas, los sueros de 17 conejos, es decir el 85% de los animales empleados, contenían anticuerpos contra la neurotoxina. En el test de actividad biológica se demostró que 12 de los 17 sueros contenían anticuerpos neutralizadores (Tabla 2).

Tabla 1 Determinación de muestras de suero (diluidas 1:100) de conejos que fueron tratados con BOTOX®, con un inmunoensayo enzimático. Están indicados $DO_{490nm} > 0.1$. Todos los valores DO están corregidos con los valores DO de los sueros preinmunes (DO alrededor de 0,150).

Conejo N°	3° semana	5° semana	7° semana	9° semana	11° semana
1	-	-	-	0,11	0,36
2	-	-	-	2,36	2,23
3	-	-	0,57	1,43	1,44
4	-	-	0,68	1,68	0,93
5	-	0,97	3,52	3,49	3,44
6	-	-	1,34	2,32	2,70
7	-	-	2,13	3,09	3,00
8*	-	0,53	1,47	2,75	2,75
9	-	-	0,43	2,44	2,85
10	-	-	2,99	3,15	2,73
11	-	0,10	2,42	2,45	1,93
12	-	-	-	1,13	1,95
13	-	-	-	-	1,89
14	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	2,93	3,62	3,72	3,44
18	-	-	1,18	2,28	2,62
19	-	-	0,43	0,43	0,81
20	-	1,65	3,20	2,97	2,88

* Los valores no fueron corregidos debido a que no estaba disponible el suero preinmune

"-" significa Densidad Óptica (DO_{490}) $< 0,1$

Tabla 2 Neutralización mediante sueros de conejos que fueron tratados con BOTOX® (semana 11 después de la primera inmunización) en el ensayo de hemidiafragma de ratones (Límite de detección: 0,35 mU/ml de anticuerpo)

Conejo	Neutralización mU/ml
1	2,0
2	n.d.
3	n.d.
4	> 10
5	> 100
6	n.d.
7	> 10
8	> 10
9	n.d.
10	n.d.
11	n.d.
12	> 10
13	n.d.
14	n.d.
15	$< 0,35$

16	0,4
17	> 10
18	> 10
19	2,0
20	> 10

n.d. = no determinado

Ejemplo 5: Ensayo de antigenidad con un producto obtenible en el mercado y neurotoxina pura

Después de que fuera demostrado que el complejo consistente de neurotoxina y hemaglutinina y la proteína no tóxica, no hemaglutinante desencadena la formación de anticuerpos neutralizadores, se examinó la acción inmunogénica de la neurotoxina pura (tipo A). Para ello se trataron 8 conejos con el complejo de toxina y 12 conejos con la toxina pura. Después del procedimiento descrito anteriormente (véase el Ejemplo 1) fueron aplicados intracutáneamente 25 U de cada preparado. La cantidad de neurotoxina, medida como peso, fue igual en ambos preparados (200 pg/dosis), como se demostró en un ELISA (inmunoensayo enzimático). El producto BOTOX® contenía adicionalmente proteínas de complejo (alrededor de 800 pg/dosis).

Cuatro de los ocho conejos tratados con BOTOX® mostraron en el ELISA un índice de anticuerpos, mientras que en los 12 animales tratados con neurotoxina pura no pudieron ser

detectados anticuerpos contra la neurotoxina pura. El resultado fue confirmado en el test de actividad biológica. Todos los sueros de los cuatro conejos contenían índices de anticuerpos neutralizadores que disminuían el efecto de la toxina (Tabla 3).

Tabla 3 Neutralización por sueros (diluidos 1:3) de conejos, que fueron tratados con BOTOX® (11 semanas después de la primera inmunización) en el ensayo de hemidiafragma de ratones (Límite de detección: 1 mU/ml de anticuerpo)

Conejo	Neutralización mU/ml
1	12 mU
2	> 30 mU
3	4.5 mU
8	> 30 mU

Ejemplo 6: (Ejemplo comparativo)

En este experimento se comparó la formación de anticuerpos por BOTOX® con la formación por DYSPORT®. Para ello se trataron cada vez diez conejos con BOTOX® (grupo 1), con DYSPORT® (grupo 2) o con una neurotoxina pura (grupo 3) de acuerdo con el esquema descripto.

Mientras que en los grupos 1 y 2 más del 50% de los animales formaron un índice de anticuerpos neutralizadores, los sueros de los animales del grupo 3 estaban libres de anticuerpos.

Ejemplo 7: Ensayo clínico

Un paciente (edad 45 años) que fue tratado durante un período de 5 años con BOTOX® por un cuadro de Torticollis spasmodicus, había desarrollado un índice de anticuerpos de 3 mU/ml de suero. En este paciente, ni BOTOX® ni DISPORT® eran efectivos desde el punto de vista terapéutico. Un ensayo terapéutico con neurotoxina botulínica pura en una dosis de 145 U, que era equivalente a la última dosis inyectada de BOTOX®, produjo, dentro de las 72 horas, el aflojamiento del músculo, la normalización de la postura de la cabeza y la desaparición del dolor muscular. No se presentaron efectos indeseados.

Ejemplo 8: Ensayo clínico

Un paciente (edad 52 años) fue tratado durante 3 años por paresia cerebral con BOTOX®. Había desarrollado un índice de anticuerpos de 1 mU/ml de suero, la terapia tuvo por ello que ser interrumpida. La inyección de 200 U de neurotoxina pura posibilitó una terapia exitosa.

Bibliografía

DasGupta, B.R. & Sathyamoorthy, V. (1984), Purification and Amino Acid Composition of Type A Botulinum Neurotoxin; *Toxicon* **22**(3), p. 415 - 424.

De Jongh, K.S., Schwartzkoff, C.L. & Howden, M.E.H. (1989), Clostridium botulinum Type D Neurotoxin Purification and Detection, *Toxicon* **27**(2), p. 221 - 228

Schmidt, J.J. & Siegel, L.S. (1986), Purification of Type E Botulinum Neurotoxin by High-Performance Ion Exchange Chromatography; *Analyt. Biochemistry* **156**, p. 213 - 219

Nukina, M., Mochida, Y., Sakaguchi, S. & Sakaguchi, G. (1988), Purification of Clostridium botulinum Type G Progenitor Toxin; *Zbl. Bakt. Hyg. A* **268**, p. 220 - 227

Terajima, J., Syuto, B., Ochanda, J.O. & Kubo, S. (1985), Purification and Characterization of Neurotoxin Produced by Clostridium botulinum Type C 6813; *Infection and Immunity* **48**(2), p. 312 - 317

Wadsworth, J.D.F., Desai, M., Tranter, H.S. y otros (1990), Botulinum type F neurotoxin: Large-scale Purification and Characterization of its Bindings to Rat Cerebrocortical Synaptosomes; *Biochem. J.* **268**, p. 123 - 128

REIVINDICACIONES

1. Preparación farmacéutica que contiene una de las neurotoxinas botulínicas de *Clostridium botulinum* de los tipos A, B, C, D, E, F o G, o una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas, caracterizada porque la neurotoxina o bien la mezcla de neurotoxinas está libre de proteínas complejizantes que de manera natural forman los complejos de neurotoxina botulínica junto con las neurotoxinas.

2.- Preparación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque la neurotoxina o bien la mezcla de neurotoxinas no producen o, en comparación con los complejos, producen solo una inducción disminuida de anticuerpos neutralizadores en el paciente.

3.- Preparación farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizada porque la neurotoxina es una neurotoxina natural o bien la mezcla de neurotoxinas contiene una mezcla de neurotoxinas naturales.

4.- Preparación farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizada porque la neurotoxina es una neurotoxina recombinante, o bien la mezcla de neurotoxinas contiene una mezcla de neurotoxinas recombinantes.

5.- Preparación farmacéutica de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque la neurotoxina es la neurotoxina de *Clostridium botulinum* tipo

A o B, o bien la mezcla de neurotoxinas contiene una mezcla de neurotoxinas de *Clostridium botulinum* tipo A y B.

~~6~~ 6.- Empleo de la neurotoxina botulínica de *Clostridium botulinum* de los tipos A, B, C, D, E, F o G o una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso o bien de distonías.

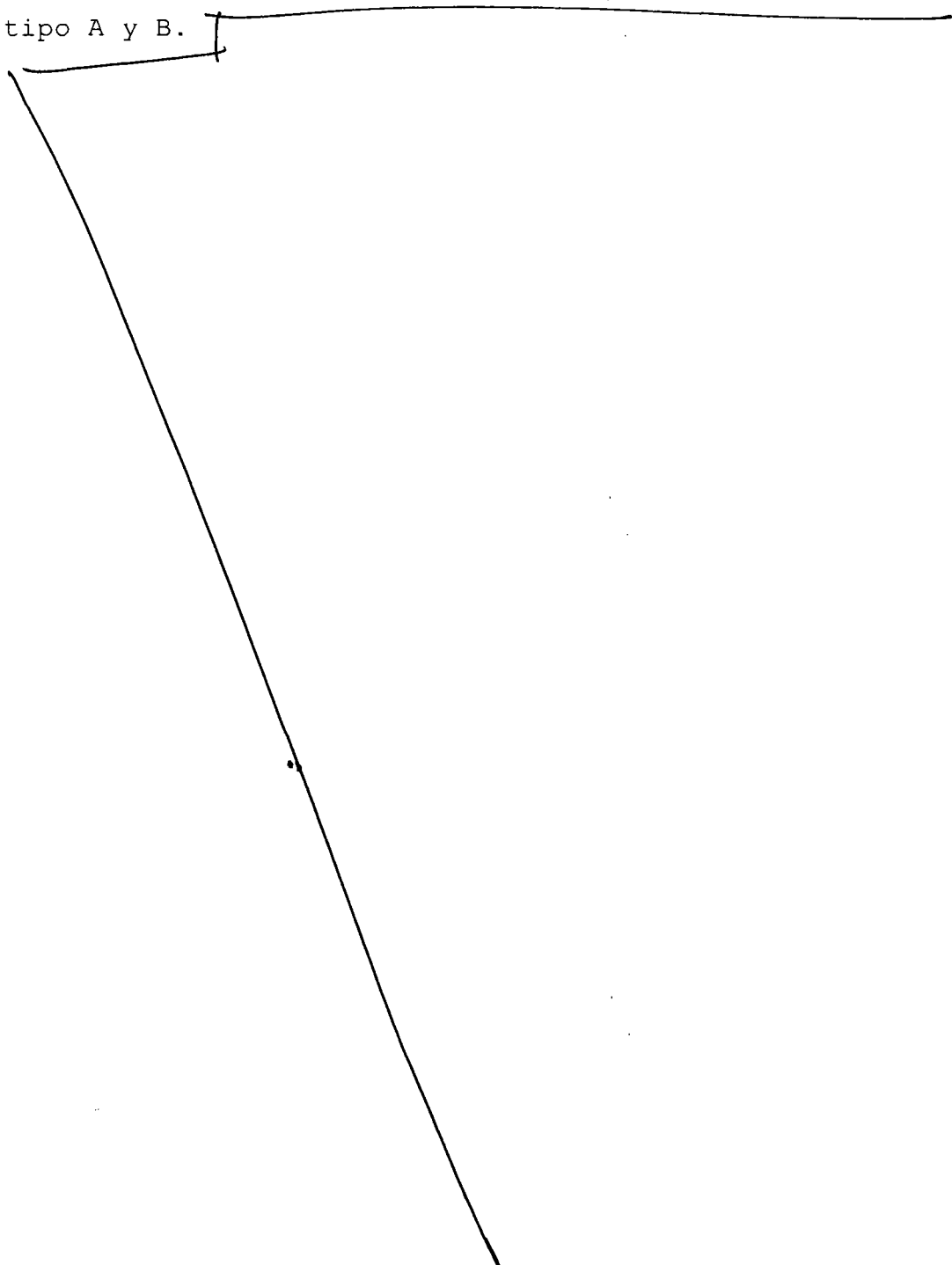
~~7~~ 7.- Empleo de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado porque las enfermedades del sistema nervioso o bien en las distonías son el espasmo rotatorio (*Torticollis spasmodicus*) y el blefarospasmo (espasmo de los párpados), las espasticidades tales como el pie equino, los espasmos hemifaciales, la migraña, la lumbalgia, el síndrome cervical o la hipersalivación.

~~8~~ 8.- Empleo de la neurotoxina botulínica de *Clostridium botulinum* de los tipos A, B, C, D, E, F o G o de una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas para el tratamiento cosmético.

~~9~~ 9.- Empleo de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado porque el tratamiento cosmético está destinado al tratamiento de la hiperhidrosis y la formación de arrugas, en particular en el ámbito de la cara.

~~10~~ 10.- Empleo de acuerdo con una de las reivindicaciones 6 á 9, caracterizado porque la persona a ser tratada con la neurotoxina de *Clostridium botulinum* o bien con la mezcla de

neurotoxinas, es un ser humano o un animal, que ya presenta anticuerpos neutralizadores contra un complejo de neurotoxina botulínica, en particular contra el complejo de Clostridium botulinum tipo A o B, o contra varios complejos, en particular contra los complejos de Clostridium botulinum tipo A y B.



RESUMEN

Preparación farmacéutica que contiene una de las neurotoxinas botulínicas de *Clostridium botulinum* de los tipos A, B, C, D, E, F o G o una mezcla de dos o más de estas neurotoxinas, caracterizada porque la neurotoxina, o bien la mezcla de neurotoxina está libre de proteínas complejizantes que junto con las neurotoxinas forman de manera natural los complejos de neurotoxina botulínica.

Los folios 27 y 28 son tarjetas 202012A.
A julio agosto 15/2002A.

Se retiró folio 26 correspondiente
al extracto para publicación

202041

19 marzo 02

REQUISITOS MÍNIMOS PARA ADMISIÓN/TRÁMITE

26

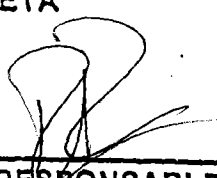
Patente de Invención	☒	Modelo de Utilidad	☐
☒ Nombre e identificación del solicitante — 1			☐
☒ Nombre e identificación del inventor — 1			☐
☒ Título o nombre de la invención — 1			☐
☒ Descripción — 3			☐
☒ Reivindicaciones — 22			☐
☒ Resumen — 1			☐
☒ Comprobante de pago — 2			☐

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 _____

27
2000-06-08
430

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PRIMER EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE 00-42309

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 [X] | NO APLICABLE [] 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 el Decreto 298 del 17 de febrero de 1999). |
| SI [X] | NO [] | EXTEMPORANEAMENTE [] Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio de Paris. |
| 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. |
| SI [] | NO [X] | NO APLICABLE [] Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de Paris; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.). |
| SI [] | NO [X] | CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS |

OBSERVACIONES JURÍDICAS CONVENIO DE PARIS: Deberá presentar traducción de la 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 posterior. 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., 8 de Junio del 2000

EXAMINADOR JURIDICO.
202022

1º EXAMEN DE FORMA

Radicación n° 00042309

28
2000-07-1
430

CONCEPTO TÉCNICO N° 1373

IPC: A61K 35/74

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**:

- | | |
|--|---|
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del inventor (Art. 8, Art. 13-a). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a). |
| SI ☒ 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., 15 de julio de 2000

202012

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
1º EXAMEN DE FORMA

CONCEPTO TÉCNICO N° 13 *73*

Radicación n° 00042309

IPC: A61K 35/74

- ✓ ■ -La reivindicación 1 no es clara, porque se refiere a una preparación farmacéutica la cual no se encuentra definida como tal, o sea no aparece definida ninguna preparación de manera clara y definida.
- ✓ ■ -La reivindicación 2 no es clara, porque la preparación farmacéutica se esta definiendo en términos de respuesta farmacológica de un paciente, cuando lo correcto es definir una preparación, como mínimo por sus elementos constitutivos.
- ✓ ■ -La reivindicación 4 esta reclamando una preparación farmacéutica donde la neurotoxina es una neurotoxina recombinante, lo cual no esta fundado en el capítulo descriptivo porque allí no aparece descrita ningún proceso de obtención de una neurotoxina recombinante y las reivindicaciones deben estar enteramente fundadas en la descripción.

Santa Fe de Bogotá DC, 15 de agosto de 2000

202012

30
2000-08-22
430

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

EXPEDIENTE 00-42309

AUTO 2037

DISPONE

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería al Doctor IGNACIO ESCOBAR URIBE, como apoderado de la Sociedad 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, requiérsele al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complemente los antecedentes señalados en el examen de forma.

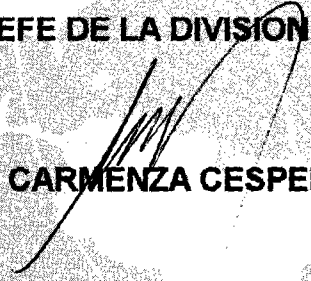
ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndole que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Santafé de Bogotá D.C., a los

22 AGO 2000

EL JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES,


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Santafé de Bogotá D.C. 4 AGO. 2000 notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI _____ NO _____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA