

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72-35
BOGOTÁ 8, COLOMBIA

WEB SITE: www.caveller.com
E-MAIL: caveller@caveller.com

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 211-8650 (57) (1) 540-0860

Señora Jefe de la

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

288
SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO
Radicación: 00073865 00000006 Folios: 6
Fecha (970): 2005-12-19 17:25:22
Trámite: 1 002 PATENTES D 1 REGISTRAR 444 REPUESTA
Dependencia: 0000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Trámite: 002

Evento: 001

Actuación: 444

Referencia : Expediente No. 00073865

Asunto : Solicitud de patente para: **AGONISTAS DEL RECEPTOR 3 (R3) DEL PEPTIDO ACTIVADOR DE LA ADENILATO CICLASA DE LA PITUITARIA Y SUS METODOS DE USO FARMACOLOGICO.**

Solicitante : **BAYER CORPORATION**

Fecha de Solicitud : 28 de Septiembre de 2000

1. Yo, Emilio FERRERO, obrando como apoderado del solicitante en el asunto antes identificado, me refiero al oficio número 8588 notificado por fijación en lista el 22 de Septiembre de 2005.

2. Mediante el oficio número 8588 se puso en conocimiento del solicitante el informe que contiene las siguientes observaciones hechas por su Despacho sobre el examen de fondo de la presente solicitud de patente:

2.1. Como resultado de la búsqueda de anterioridades se encontró que la solicitud en estudio corresponde con la solicitud Europea y publicada con el número WO123420. el análisis del informe de búsqueda internacional de la solicitud extranjera establece como documentos que afectan la solicitud colombiana los siguientes:

GOURLET PHILIPPE ET AL: "Vasoactive Intestinal peptide modification at position 22 allows discrimination between receptor subtypes." EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 348, no. 1, 1 May 1998 (1998-05-01), pages 95-99, XP000989782 ISSN 0014-2999.

Con el fin de agilizar el trámite, su Despacho sugiere que junto con el documento solicitado se presenten los argumentos que se consideren necesarios para demostrar que este artículo no afecta los requisitos de patentabilidad de la Invención.

Por otro lado, dado que el artículo mencionado es el resultado del examen de patentabilidad efectuado a la solicitud extranjera que corresponde con la solicitud Colombiana y habiendo sido imposible la consecución de dicho documento, su oficina requiere que el solicitante proporcione en un plazo que no excederá los 3 meses, la copia del artículo mencionado anteriormente.

3. Atiendo a las observaciones realizadas mediante el oficio número 8588 de la manera siguiente:

Presento junto con este memorial la copia del artículo requerido por su Despacho para efectos de demostrar que no afecta los requisitos de patentabilidad de la presente Invención.

El artículo de Gourlet, et al., revela polipéptidos de tipo vasointestinal VIP en donde los grupos aminoácidos ubicados en las posiciones 22 y 24 han sido modificados. Sin embargo, este artículo no enseña ni sugiere polipéptidos que sean agonistas selectivos de R3 ni tampoco la posibilidad de realizar modificaciones a los polipéptidos para producir agonistas R3 como es el caso de la presente Invención. Además, este artículo tampoco enseña ni sugiere las sustituciones de aminoácidos y/o las adiciones de estos como se reivindica en la presente Invención. Como bien se sabe en el ámbito de las ciencias farmacéuticas y por una persona versada en la materia, el procedimiento llevado a cabo en la presente Invención no es una simple utilización de la tecnología existente para producir polipéptidos que sean selectivos por un subtipo de receptor sino que por el contrario lleva consigo una actividad inventiva. Por ejemplo, Gourmet, et al plantea la hipótesis de que la Glutamina estando en la posición 24 del péptido vasointestinal (VIP) provocaría o daría lugar a la selectividad por los subtipos de receptores VIP1/PACAP (sección 3, pág. 97). Sin embargo, [Gln24] VIP no presentó actividad diferente del péptido vasointestinal (VIP) en cuanto a su afinidad por los receptores VIP1/PACAP o VIP2/PACAP.

Por lo tanto, teniendo en cuenta los anteriores argumentos, la creación de un polipéptido que posea afinidad selectiva no se deriva de manera obvia de los conocimientos de una persona versada en la materia.

Teniendo en cuenta que de esta manera he demostrado que dicho artículo no afecta la patentabilidad de la presente invención, solicito que se le otorgue el privilegio de patente solicitado.

4. **DOCUMENTOS ADJUNTOS:** Junto con este memorial presento el siguiente documento:

4.1. "GOURLET PHILIPPE ET AL: "Vasoactive intestinal peptide modification at position 22 allows discrimination between receptor subtypes. "EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 348, no. 1, 1 May 1998 (1998-05-01), pages 95-99, XP000989782 ISSN 0014-2999".

Bogotá, 19 DIC. 2005
Señora Jefe,



EMILIO FERRERO

T.P.A. No. 31.929

XP-000989782

pd 01-05-1998

p. 95-98. (5)

Vasoactive intestinal peptide modification at position 22 allows discrimination between receptor subtypes

Philippe Gourlet, Marie-Claire Vandermeers-Piret, Jean Rathé, Philippe De Neef, Johnny Cnudde, Patrick Robberecht, Magali Waelbroeck *

Department of Biochemistry and Nutrition, School of Medicine, Université Libre de Bruxelles, Bld. G/A, CP 611, 808 Route de Louvain, B-1030 Brussels, Belgium

Received 3 November 1997; revised 9 February 1998; accepted 13 February 1998

Abstract

Secretin and growth hormone releasing factor (GRF) have a weak affinity for VIP (vasoactive intestinal peptide)/PACAP (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide) receptors, but discriminate between VIP₁/PACAP and VIP₂/PACAP receptors. This previously allowed us to develop modified secretin and GRF derivatives as high affinity and highly selective VIP₁/PACAP receptor ligands. We tested the hypothesis that the presence of a Gln residue at position 24 and a Leu residue at position 22 was responsible for their VIP₁/PACAP receptor selectivity. [Gln²⁴]VIP was not different from VIP but [Leu²²]VIP had a 100-fold lower affinity for VIP₂/PACAP receptors as compared to VIP₁/PACAP receptors. The substitution of Tyr²² by Phe²² in VIP had no significant effect on the recognition of both receptors but [Ala²²]VIP had a reduced affinity for the VIP₂/PACAP receptor. This indicated that an aromatic residue at position 22 of VIP was required for a high affinity for the VIP₂/PACAP receptor but not for the VIP₁/PACAP receptor. © 1998 Elsevier Science B.V.

Keywords: VIP (vasoactive intestinal peptide) analog; VIP₁/PACAP receptor; VIP₂/PACAP receptor

1. Introduction

VIP (vasoactive intestinal peptide) recognizes two distinct high-affinity receptors, named the VIP₁/PACAP (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide) and the VIP₂/PACAP receptors, that have been cloned in rats (Ishihara et al., 1992; Lutz et al., 1993) and humans (Courvineau et al., 1994; Svoboda et al., 1994). The mouse VIP₂/PACAP receptor has also been cloned (Inagaki et al., 1994). Both receptor subtypes are coupled to G_i proteins and their occupancy by agonists stimulates adenylate cyclase activity. VIP and PACAP are equally potent on both receptors and do not exhibit a significant preference for one receptor subtype. The tissue distribution of the mRNA coding for each receptor subtype has been investigated by *in situ* hybridization (Uedin et al., 1994) and has revealed a tissue-specific expression.

We recently found that the cyclic peptide analogue of VIP, RO 25-1553 (O'Donnell et al., 1994a,b) (see Fig. 1),

is a highly selective agonist ligand for the VIP₂/PACAP receptor subtype (Gourlet et al., 1997a). Secretin and growth hormone releasing factor (GRF) have poor affinity for VIP₁/PACAP receptors, and almost no affinity for VIP₂/PACAP receptors (Gourlet et al., 1997b). We took advantage of this property to develop selective agonists (Gourlet et al., 1997b) and a selective antagonist (Gourlet et al., 1997c) for the VIP₁/PACAP receptor. The location of the two receptor subtypes in the rat brain was studied with these new tools (Vertongen et al., 1997) and confirmed the results obtained by *in situ* hybridization.

Comparison of the amino acid sequences of non-selective VIP/PACAP receptor ligands and of selective VIP₁/PACAP receptor ligands (Fig. 1) suggested that the amino acid residues at position 22 and 24 could be important for receptor discrimination: the selective VIP₁/PACAP receptor ligands had a leucine (L) residue instead of a tyrosine (Y) residue at position 22 and a glutamine (Q) residue instead of alanine (A) or asparagine (N) at position 24 of PACAP and VIP, respectively.

We prepared [Leu²²]VIP and [Gln²⁴]VIP and evaluated their ability to interact with rat and human VIP₁/PACAP

* Corresponding author. Tel.: +32-2-535-6215; fax: +32-2-535-6230.

	1	5	10	15	20	25	30
RO 25-1553	AC-NRRAVFFENYVTLRKHAAKAYLNDLKHST						
PACAP-27	NRRGIFTYRYSYRKNAYVLL[$\square$]L[$\square$]AYL						
VIP	NRRRAVFFDNYVTLRKHAAVKK[$\square$]L[$\square$]DILK						
GRF-44	YADAIFTNRYRVLRLHARK[$\square$]L[$\square$]QIRSR						
GRF	NRRGIFTYRYSYRKNAYVLL[$\square$]L[$\square$]SLV						

Fig. 1. Amino acid sequences of the VIP₁ selective peptide, RO 25-1553 (O'Donnell et al., 1994a,b), of the two non-selective agonists (common PACAP and common VIP) and of two agonists that preferred VIP₂/PACAP receptors to VIP₁/PACAP receptors (human GRF and porcine secretin). The boxes indicate the residues that are identical in the two VIP₁/PACAP-selective ligands, and different from the corresponding residues in the two non-selective ligands.

and VIP₂/PACAP receptors. [Leu^{22}]VIP but not [Gln^{24}]VIP had a reduced affinity for the VIP₂/PACAP receptor. Similar results were obtained with [Ala^{22}]VIP but not with [Phe^{22}]VIP, indicating the crucial role of an aromatic residue at position 22 of VIP for a high-affinity interaction with the VIP₂/PACAP receptor.

2. Materials and methods

2.1. Cell lines

Four Chinese hamster ovary (CHO) cell lines expressing recombinant receptors were used for receptor characterization. The cell lines expressing the rat VIP₁/PACAP (850 fmol/mg of receptor of membrane protein) and the human VIP₂/PACAP (200 fmol receptor mg⁻¹ membrane protein) receptors were previously described (Ciccarelli et al., 1994; Svoboda et al., 1994). The cell line expressing the rat VIP₂/PACAP receptor (500 fmol receptor/mg membrane protein) was kindly provided by Dr. E.M. Lutz from the MRC Brain Metabolism Unit, Edinburgh, and the cell line expressing the human VIP₁ receptor was established by electroporation transfection of the cDNA cloned in pcDNA 3 plasmid (Invitrogen) and selection by sub-cloning of a CHO cell clone expressing around 800 fmol of receptor/mg membrane protein. This clone has already been used in previous studies (Gourlet et al., 1997b,c).

All the cell lines were cultured in the same medium, as described previously (Ciccarelli et al., 1994).

2.2. Membrane preparation and receptor identification

Transfected CHO cells were harvested with a rubber policeman and pelleted by low-speed centrifugation; the supernatant was discarded and the cells were lysed in 1 mM NaHCO₃ solution and immediately frozen in liquid nitrogen.

After thawing, the lysate was first centrifuged at 4°C for 10 min at 400 × g and the supernatant was further centrifuged at 20000 × g for 10 min. The pellet, resuspended

in 1 mM NaHCO₃, was used immediately as a crude membrane fraction.

Binding was performed as described (Ciccarelli et al., 1994; Vertongen et al., 1997), using [^{125}]VIP for characterization of the rat and human VIP₁ receptor and [^{125}]RO 25-1553 for characterization of rat and human VIP₂ receptors. [^{125}]RO 25-1553 had a 3-fold higher affinity than [^{125}]VIP for VIP₂/PACAP receptors, so that the results obtained with this tracer were technically more satisfactory. The competition curves obtained with [^{125}]VIP and [^{125}]RO 25-1553 were superimposable (Vertongen et al., 1997). In all cases, non-specific binding was defined as the residual binding in the presence of 1 μ M VIP. Binding was performed at 37°C in a 20-mM Tris-maleate, 2 mM MgCl₂, 0.1 mg ml⁻¹ bacitracin, 1% bovine serum albumin (pH 7.4) buffer. Bound radioactivity was separated from free by filtration through glass fibre GF/C filters pre-coated for 24 h in 0.01% polyethylenimine and rinsed three times with a 20 mM (pH 7.4) sodium phosphate buffer containing 1% bovine serum albumin. Adenylate cyclase activity was determined by the procedure of Salomon et al. (1974). Membrane protein (3–15 μ g) was incubated in a total volume of 60 μ l containing 0.5 mM [α - ^{32} P]ATP, 10 μ M GTP, 5 mM MgCl₂, 0.5 mM BGTA, 1 mM cAMP, 1 mM theophylline, 10 mM phospho(enol)pyruvate, 30 μ g/ml pyruvate kinase and 30 mM Tris-HCl at a final pH of 7.5. The reaction was

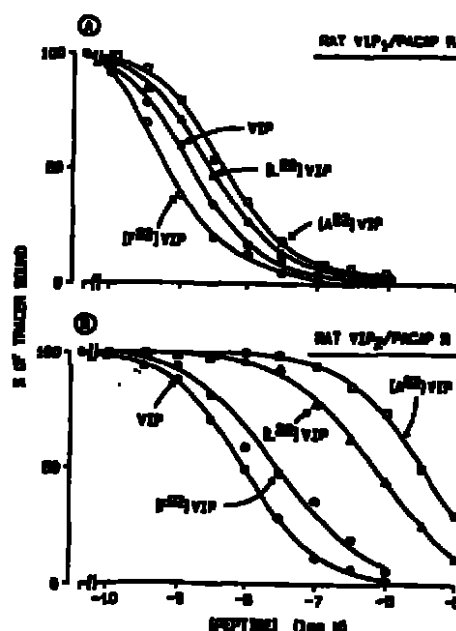


Fig. 2. Inhibition of [^{125}]VIP binding to membranes from CHO cells expressing the rat VIP₁/PACAP receptor (upper panel) and of [^{125}]RO 25-1553 binding to membranes from CHO cells expressing the rat VIP₂/PACAP receptor (lower panel) by VIP (○), [Ala^{22}]VIP (□), [Phe^{22}]VIP (△) and [Leu^{22}]VIP (◇). The results are the means of three experiments.

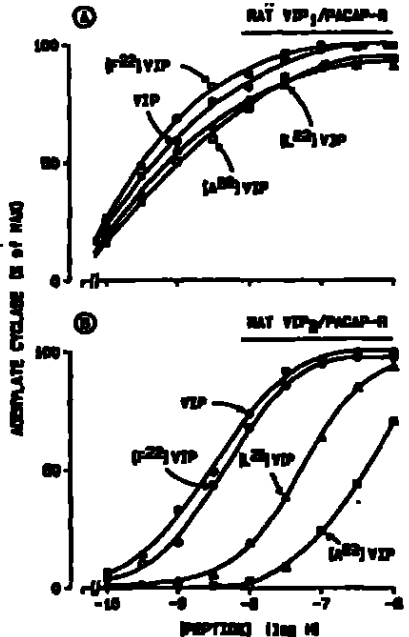


Fig. 3. Dose-effect curves for adenylyl cyclase activation of membranes from CHO cells expressing the rat VIP₁/PACAP receptor (upper panel) and the rat VIP₂/PACAP receptor (lower panel) by VIP (●), [Ala²²]VIP (□), [Phe²²]VIP ([Phe²²]VIP) (○) and [Leu²²]VIP ([Leu²²]VIP) (Δ). The adenylyl cyclase activity increased from 40 to 300 and 30 to 240 pmol cAMP/min per mg protein in the presence of 1 μM VIP in membranes from cells expressing rat VIP₁/PACAP and rat VIP₂/PACAP receptors, respectively. The results, expressed as % of the maximal value obtained in the presence of 1 μM VIP, are the means of three experiments.

initiated by adding membranes and was terminated after a 15-min incubation at 37°C by adding 0.5 ml of a 0.5% sodium dodecylsulfate solution containing 0.5 mM ATP, 0.5 mM cAMP and 20 000 cpm [8-³H]cAMP. cAMP was separated from ATP by two successive chromatography steps on Dowex 50 W × 8 and neutral alumina.

2.3. Peptide synthesis

The peptides were synthesized as C-terminal amides by solid phase methodology on an automated Applied Biosystems apparatus (Foster City, CA), using the 9-fluorenylmethoxy carbonyl strategy (Ambrosius et al., 1989). They were purified by reversed-phase chromatography on Jordi-Gel DVB 300 Å (10 × 1 cm) and by ion exchange chromatography on Mono S HR 5/5. Peptide purity (> 95%) was assessed by capillary electrophoresis and the sequence conformity was verified by sequencing and electrospray mass spectrometry.

3. Results

3.1. Interaction of [Gln²⁴]VIP and [Leu²²]VIP with VIP₁/PACAP- and VIP₂/PACAP receptors

As mentioned in the introduction, [Gln²⁴]VIP and [Leu²²]VIP were synthesized to test the hypothesis, based on amino acid sequences comparison (Fig. 1), that the introduction of a glutamine at position 24 and a leucine at position 22 would promote selectivity for the VIP₁/PACAP receptor subtype. [Gln²⁴]VIP was not different from VIP, in terms of both its affinity for the rat- and human recombinant VIP₁/PACAP and VIP₂/PACAP receptors (Table 1), and its ability to stimulate adenylyl cyclase activity (results not shown). [Leu²²]VIP was indistinguishable from VIP at both rat and human VIP₁/PACAP receptors but was 100-fold less potent than VIP at the VIP₂/PACAP receptors (Figs. 2 and 3 and Table 1).

3.2. Interaction of [Phe²²]VIP and [Ala²²]VIP with VIP₁/PACAP- and VIP₂/PACAP receptors

These two analogues were synthesized to test whether the low affinity of [Leu²²]VIP for the VIP₂/PACAP receptor was due to the lack of an aromatic function or to its replacement by a highly hydrophobic residue. [Phe²²]VIP was similar to VIP (which has a Tyr residue at position 22) and [Ala²²]VIP was comparable to [Leu²²]VIP in all the systems tested. The affinity of [Ala²²]VIP for the VIP₁/PACAP human receptor was even lower than that of [Leu²²]VIP (Figs. 2 and 3 and Table 1). [Ala²²]- and [Phe²²]VIP were full agonists on adenylyl cyclase stimulation (Figs. 2 and 3 and data not shown).

Table 1
IC₅₀ values (nM) for binding of VIP, [Gln²⁴]VIP, [Leu²²]VIP, [Phe²²]VIP and [Ala²²]VIP to rat and human VIP₁/PACAP and VIP₂/PACAP receptors

Peptide tested	IC ₅₀ (nM)			
	Rat		Human	
	VIP ₁ /PACAP	VIP ₂ /PACAP	VIP ₁ /PACAP	VIP ₂ /PACAP
GRF ⁴⁴	80	30 000	100	30 000
Secretin ⁴	300	30 000	1500	5000
VIP	2	10	2	10
[Gln ²⁴]VIP	2	3	1	3
[Leu ²²]VIP	3	800	8	1000
[Phe ²²]VIP	1	20	1	10
[Ala ²²]VIP	4	3000	10	1000

The IC₅₀ values were established, using the LIGAND programme, from inhibition of tracer binding by increasing concentrations of unlabelled peptides. The results were the means of three determinations and the standard deviation (S.D.) was less than 0.1 log unit in all cases.
⁴Previously published data (Gouriet et al., 1997b).

4. Discussion

Owing to the broad distribution of the VIP receptors in the pulmonary systems, gastrointestinal tract, genito-urinary tract, as well as in vessels, heart, endocrine glands, brain and immunocompetent cells, the potential applications of VIP as a drug are large, but the expected undesired effects are numerous. The recent discovery that VIP interacts with two distinct receptor subclasses, with different tissue and cell distributions, and the development of selective agonists (Usdin et al., 1994; Gourlet et al., 1997a,b,c) has increased interest in pharmacological applications of this class of peptides. At present, relatively little is known about the structural basis for the high-affinity interaction of VIP with each receptor class.

We previously established that the carboxy terminus was important for VIP₁-VIP₂ receptor discrimination: analogues truncated at the carboxy terminus had a decreased affinity for both VIP receptors but this effect was more pronounced for the VIP₂/PACAP receptor than for the VIP₁/PACAP receptor (Gourlet et al., 1996a). Conversely, analogues that were carboxy-terminally extended had a higher affinity for the VIP₂/PACAP receptor than for the VIP₁/PACAP receptor (Gourlet et al., 1996b). Studies conducted before the molecular cloning of the VIP₁- and VIP₂/PACAP receptors on SUP-T1 cells (that express the VIP₂/PACAP receptor: Robberecht et al., 1989; Svoboda et al., 1994; Robberecht et al., 1996) and on rat liver and pancreatic membranes (that express the VIP₁/PACAP receptor: Robberecht et al., 1987) suggested that amino-terminally modified VIP analogues also had the ability to discriminate between the two receptor subclasses: [D-Ala⁶]VIP and [D-Phe⁶]VIP had a 100-fold higher affinity for VIP₁ receptors than for VIP₂/PACAP receptors. These results were recently confirmed with the recombinant receptors (Gourlet et al., 1997d).

The present data indicate that the side chain of the amino acid residue at position 22 is also of importance for receptor discrimination: an aromatic residue (tyrosine or phenylalanine) is necessary for a high-affinity interaction with the VIP₂/PACAP receptor but not with the VIP₁/PACAP receptor. Indeed, the introduction of a hydrophobic residue (leucine or alanine) in that position markedly reduced the affinity of VIP for the VIP₂/PACAP receptor only.

The observation that [Ala²²]VIP is a full agonist with a high affinity for human- and rat-VIP₁/PACAP receptors suggests that a reinterpretation of previous data from O'Donnell et al., 1991 is necessary. These authors synthesized VIP analogues systematically modified with single alanine substitutions ('Ala-Scan') and tested the peptides in binding assays with guinea pig and human lung preparations, in bioassays measuring the relaxation of guinea pig tracheal preparations, and, in vivo, by peptide instillation into the trachea. In all these experimental models, the [Ala²²]VIP analogue was 50- to 400-fold less potent than

the corresponding [Tyr²²] peptide. This suggests that the VIP₂/PACAP receptors were the main contributors to the VIP-induced broncho-tracheal relaxation. This conclusion is in line with the finding that the stable VIP analogue RO 25-1553, a potent broncho-relaxing agent (O'Donnell et al., 1994a), is a highly selective VIP₂/PACAP receptor agonist (Gourlet et al., 1997a). In membranes from total lung homogenates, binding and functional studies (Robberecht et al., 1982, 1988) however indicate a major contribution of VIP₁/PACAP receptors, which could be located on the epithelial cells (Usdin et al., 1994). Thus, the present results, besides offering new perspectives for the design of selective analogues, also focus the attention on the fact that the previously published VIP 'Ala-Scan' (O'Donnell et al., 1991) was probably tested on VIP₂/PACAP receptors only.

Acknowledgements

Supported by grants No. 9.4585.95, 3.4502.95, 3.4513.95 from the F.R.S.M., by an Action de Recherche Concertée from the Communauté Française de Belgique and by an Interuniversity Poles of Attraction Programme-Belgian State, Prime Minister's Office -Federal Office for Scientific, Technical and Cultural Affairs.

References

- Ambrosius, D., Casarito, M., Gerardy-Schahn, R., Seiden, D., Brandberg, D., Zahr, H., 1989. Peptide analogues of the neuropeptide Ctx: synthesis and properties. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 370, 217–227.
- Casarito, E., Vilarde, J.-P., De Neef, P., Di Paolo, E., Waelbroeck, M., Bollen, A., Robberecht, P., 1994. Properties of the VIP-PACAP type II receptor stably expressed in CHO cells. *Regul. Pept.* 54, 397–407.
- Corvisier, A., Bonyer-Petit, C., Damsel, D., Marnet, J.-J., Curro, I., Ogier-Denis, E., Laburthe, M., 1994. Human intestinal VIP receptor: cloning and functional expression of two cDNA encoding proteins with different N-terminal domains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 200, 769–774.
- Gourlet, P., Vandersmeers, A., Vandersmeers-Piret, M.-C., Rathé, J., De Neef, P., Robberecht, P., 1996a. C-terminally shortened pituitary adenylate cyclase-activating peptides (PACAP) discriminate PACAP I, PACAP II-VIP₁ and PACAP II-VIP₂ recombinant receptors. *Regul. Pept.* 62, 125–130.
- Gourlet, P., Vandersmeers, A., Vandersmeers-Piret, M.-C., De Neef, P., Robberecht, P., 1996b. Addition of the (28–38) peptide sequence of PACAP to the VIP sequence modifies peptide selectivity and efficacy. *Int. J. Pept. Protein Res.* 48, 391–396.
- Gourlet, P., Vertongen, P., Vandersmeers, A., Vandersmeers-Piret, M.-C., Rathé, J., De Neef, P., Robberecht, P., 1997a. The long-acting vasorelaxant intestinal polypeptide agonist RO 25-1553 is highly selective of the VIP₂ receptor subclass. *Peptides* 18, 403–408.
- Gourlet, P., Vandersmeers, A., Vertongen, P., Rathé, J., De Neef, P., Coudé, J., Waelbroeck, M., Robberecht, P., 1997b. Development of high affinity selective VIP₂ receptor agonists. *Peptides* 18, 1539–1545.
- Gourlet, P., De Neef, P., Coudé, J., Waelbroeck, M., Robberecht, P., 1997c. In vitro properties of a high affinity selective antagonist of the VIP₁ receptor. *Peptides* 18, 1355–1360.

- Goulet, P., Vandemoere, A., Van Rampelbergh, J., De Neef, P., Cridde, J., Waelbroeck, M., Robberecht, P., 1997d. VIP-, helodermin- and PACAP-related peptides discriminate rat and human VIP₁ and VIP₂ receptors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (in press).
- Imagaki, N., Yoshida, H., Mizuta, M., Mizuno, N., Fujii, Y., Goto, T., Miyazaki, I.-I., Saito, S., 1994. Cloning and functional characterization of a third pituitary adenylyl cyclase-activating polypeptide receptor subtype expressed in insulin-secreting cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91, 2679-2683.
- Ishihara, T., Shigemoto, R., Mori, K., Takahashi, K., Nishida, S., 1992. Functional expression and tissue distribution of a novel receptor for vasoactive intestinal polypeptide. *Neuron* 8, 811-819.
- Lutz, E.M., Sheward, W.J., West, K.M., Marrow, J.A., Fink, G., Farmer, A.J., 1993. The VIP₂ receptor: molecular characterization of a cDNA encoding a novel receptor for vasoactive intestinal peptide. *FEBS Lett.* 334, 3-8.
- O'Donnell, M., Garipis, R.J., O'Neill, N.C., Bolin, D.R., Cottrell, J.M., 1991. Structure-activity studies of vasoactive intestinal polypeptide. *J. Biol. Chem.* 266, 6388-6392.
- O'Donnell, M., Garipis, R.J., Rinaldi, N., Selig, W.M., Simko, B., Ransell, L., Taton, S.A., Wasserman, M.A., Welton, A., Bolin, D.R., 1994a. RO 25-1553: a novel, long-acting vasoactive intestinal peptide agonist. I. In vitro and in vivo bronchodilator studies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 270, 1282-1288.
- O'Donnell, M., Garipis, R.J., Rinaldi, N., Selig, W.M., Tucker, J.R., Taton, S.A., Wasserman, M.A., Welton, A., Bolin, D.R., 1994b. RO 25-1553: a novel, long-acting vasoactive intestinal peptide agonist. II. Effect on in vitro and in vivo models of pulmonary anaphylaxis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 270, 1289-1294.
- Robberecht, P., Tatemoto, K., Chmielek, P., Waelbroeck, M., Dollaye, M., Taton, G., De Neef, P., Cousse, J.C., Fume, D., Christophe, J., 1992. Effects of PHI on vasoactive intestinal peptide receptors and adenylyl cyclase activity in lung membranes: a comparison in man, rat, mouse and guinea pig. *Regul. Pept.* 4, 241-250.
- Robberecht, P., Coy, D.H., De Neef, P., Cousse, J.-C., Carvin, A., Waelbroeck, M., Christophe, J., 1987. [D-Phe⁴]peptide histidine-leucineamide ([D-Phe⁴]PHL), a highly selective vasoactive intestinal peptide (VIP) agonist, discriminates VIP-prefering from secretin-prefering receptors in rat pancreatic membranes. *Eur. J. Biochem.* 163, 243-249.
- Robberecht, P., Waelbroeck, M., De Neef, P., Cousse, J.C., Coy, D.H., Christophe, J., 1988. Pharmacological characterization of VIP receptors in human lung membranes. *Peptides* 9, 339-345.
- Robberecht, P., De Neef, P., Goulet, P., Carvin, A., Coy, D.H., Christophe, J., 1989. Pharmacological characterization of the novel helodermin/VIP receptor present in human SUP-T1 lymphoma cell membranes. *Regul. Pept.* 26, 117-126.
- Robberecht, P., Goulet, P., Verongas, P., Svoboda, M., 1996. Characterization of the VIP receptor from SUP-T1 lymphoblasts. *Adv. Neuroimmunol.* 6, 49-57.
- Solomon, Y., London, C., Rodbell, M., 1974. A highly sensitive adenylyl cyclase assay. *Anal. Biochem.* 58, 541-548.
- Svoboda, M., Tatemoto, M., Van Rampelbergh, J., Cousse, J.-F., De Neef, P., Waelbroeck, M., Robberecht, P., 1994. Molecular cloning and functional characterization of a human VIP receptor from SUP-T1 lymphoblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 203, 1617-1624.
- Ueda, T.R., Benner, T.J., Mazy, E., 1994. Two receptors for vasoactive intestinal polypeptide with similar specificity and complementary distributions. *Endocrinology* 135, 2662-2680.
- Verongas, P., Schiffman, S.N., Goulet, P., Robberecht, P., 1997. Autoradiographic visualization of the receptor subtypes for vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in rat brain. *Peptides* 18, 1547-1554.

299
294
1

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor
EMILIO FERRERO
(Apoderado)
BAYER CORPORATION

ASUNTO	Radicación	00-73865
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio	2860
	Folios	

Como resultado del examen de fondo, realizado con fundamento en el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

Documentos estudiados:

Los textos estudiados fueron:

La descripción (Folios: 2 a 72)

Las reivindicaciones 1 a 18 (folios 290-230) que reemplazan las reivindicaciones 1 a 27 (folios: 73 a 75).

El concepto técnico 1451 y la respuesta a dicho concepto radicada el 19 de diciembre de 2005.

La presente solicitud reivindica prioridad US N° 09/407.832 de 28 de septiembre de 1999 y 09/595.280 de 15 de junio de 2000 y cumple con lo establecido en los artículos 9, 10 y 11 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

La fecha de prioridad para las secuencias 5-53 será del 28 de septiembre de 1999 y para las secuencias 57-95 y 97 a 202 será 15 de junio de 2000.

Objeto de invención:

El objeto de la presente solicitud se refiere a polipéptidos relacionados con VIP/PACAP agonistas R3, útiles en el tratamiento diabetes tipo 2, del estado pre-diabético de tolerancia a la glucosa deteriorada, para estimular la liberación de la insulina en forma dependiente y para la terapia del asma. También hacen parte de la invención los polinucleótidos que codifican para dichos péptidos y los vectores que los comprenden, así como las células transformadas con dicho vector y el método para producir el péptido recombinante.

El objeto de la solicitud definido anteriormente se clasificó en la IPC A61K 38/00.

Claridad de la solicitud:

El artículo 30 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que: "Las reivindicaciones definirán la materia que se desea proteger mediante la patente. Deben ser claras y

concisas y estar enteramente sustentadas por la descripción.

Las reivindicaciones podrán ser independientes o dependientes. Una reivindicación será independiente cuando defina la materia que se desea proteger sin referencia a otra reivindicación anterior. Una reivindicación será dependiente cuando defina la materia que se desea proteger refiriéndose a una reivindicación anterior. Una reivindicación que se refiera a dos o más reivindicaciones anteriores se considerará una reivindicación dependiente múltiple."

La reivindicación 1 reclama muchos péptidos argumentando que el concepto que los une, es que todos ellos son agonistas selectivos del receptor R3 y generan un incremento en los niveles de Insulina mediados por glucosa. Sin embargo, solamente a una porción de todos los péptidos reclamados se les ha comprobado la actividad inductora de insulina mediada por glucosa, y estos son más precisamente los identificados como SEQ ID: 5,6,8,12,13,15,16,18,32,43,47,52,72,83,86,87. Adicionalmente, la misma cláusula reclama "derivados y variantes" de los péptidos, donde los términos "derivados y variantes", no definen estrictamente la materia a proteger y por lo tanto no limitan el alcance de la protección solicitada. Ahora bien, teniendo en cuenta que no todos los péptidos reclamados se encuentran enteramente sustentados en la descripción respecto a su actividad y selectividad R3, y que la misma cláusula abarca muchas opciones, se encuentra que ésta no es clara, no es concisa y podría padecer de falta de unidad de invención. De igual manera se verían afectadas sus reivindicaciones dependientes.

La reivindicación 2 reclama un polí nucleótido que codifica cualquiera de los péptidos anteriores, o una variante degenerada del mismo. El término "variante", no es limitativo y por lo tanto también convierte la cláusula en amplia y especulativa.

De acuerdo con lo anterior las reivindicaciones 1,2 y dependientes no son claras en términos del artículo 30 de la Decisión 486.

Evaluación de la Unidad de Invención:

El artículo 25 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece: "La solicitud de patente sólo podrá comprender una invención o un grupo de invenciones relacionadas entre sí, de manera que conformen un único concepto inventivo."

Tal como se mencionó en el concepto técnico 1451 la presente invención no se relaciona con una única invención, ni con un grupo de invenciones vinculadas mediante un único concepto común inventivo. Para ello, todos los péptidos reclamados deben contener una característica técnica común; pero además de eso dicha característica común debe ser una contribución al estado de la técnica. Es decir, no puede ser conocida y debe cumplir por sí misma con el requisito de nivel inventivo.

Por otra parte, para este caso específico varios péptidos se pueden considerar dentro de un mismo grupo únicamente si todas las alternativas (posibles péptidos) tienen la misma naturaleza; esto significa que: todos los péptidos deben tener (i) una propiedad o actividad común (enteramente sustentada en la descripción), y (ii) una estructura común; es decir, todos las alternativas (péptidos) deben poseer una unidad estructural (secuencia) que ocupa una porción importante de la molécula y que puede ser la responsable de la actividad. Si por el contrario, dicha unidad estructural ocupa solamente una pequeña porción de la molécula, entonces ésta debe constituir una estructura "distintiva" respecto de lo que ya se conoce en el estado del arte para moléculas con la misma actividad o actividad similar. (tales como VIP/PACAP conocidas).

296

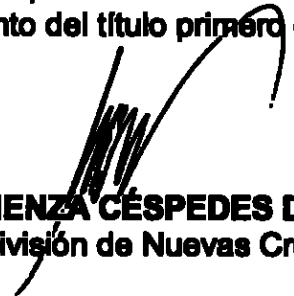
Los péptidos reclamados en la reivindicación 1 y en general en el capítulo reivindicatorio no cumplen con las condiciones mencionadas anteriormente, por cuanto no existe una estructura compartida por todos ellos, que a su vez, no este presente en los péptidos relacionados que se conocen en el estado de la técnica. Así mismo, tampoco se ha demostrado que todas las alternativas reclamadas presenten la misma actividad.

De acuerdo con lo anterior la reivindicación 1, sus dependientes y en general el capítulo reivindicatorio no cumplirían con el requisito de Unidad de Invención estipulado en el artículo 25 de la Decisión 486.

Cabe mencionar que las anteriores objeciones ya habían sido efectuadas en el concepto técnico 1451 al que el solicitante dió respuesta con un capítulo reivindicatorio presentando los mismos defectos. De esta manera se recomienda que el solicitante efectúe un análisis de los péptidos cuya efectividad fue divulgada en la solicitud, y determine cual es la estructura inventiva común entre ellos de tal forma que se pueda establecer que constituyen una única invención. Si esto no fuere posible para todos los péptidos, el solicitante podría presentar solicitudes divisionales para los grupos con características técnicas diferentes.

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta días contados a partir de la fecha de la notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 09 MAR. 2006

CONCEPTO TÉCNICO Nº: 333	EXAMINADOR TÉCNICO Código Nº: 202063	2006-03-03
-----------------------------	---	------------

ML
090306.