



120 116

Clarke, Modet

COLOMBIA
E-MAIL: clarkemodet@clarke
BOGOTA, A.A. 9

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 01018971 00000003

Fecha (AMD): 2003-10-21 15:57:25

Folios: 2

Tramite : 002 PATENTES 0 1 REGISTRO/ 538 PETICION

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

**SEÑORES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
MINISTERIO DE DESARROLLO ECONOMICO**

REF: EXPEDIENTE : 01018971
SOLICITANTE: BAKER NORTON PHARMACEUTICALS
FECHA DE LA SOLICITUD: MARZO 9, 2001
TITULO: PROCESO PAA PREPARAR PACLITAXEL...

ASUNTO: SOLICITUD ESTUDIO DE FONDO

DILIA RODRÍGUEZ D'ALEMAN, en mi condición de apoderada de la Sociedad solicitante, por el presente escrito atentamente solicito a Usted que habiéndose surtido la publicación de la presente solicitud, en la Gaceta de la Propiedad Industrial N°.527 de fecha Abril 30, 2003 se proceda con el estudio de Fondo.

Para tal fin me permito anexar la tasa correspondiente.

Agradezco continuar con el presente trámite.

Señor Jefe,

DILIA RODRÍGUEZ D'ALEMAN
T.P.No. 20824 del CSJ

P-413

Anexo tasa No. 03-76.249

121 177

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 01018971 00000003 Folios: 2
Fecha (AMD): 2003-10-21 15:57:25
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 530 PETICION
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 76,249
FECHA : OCTUBRE 20 DE 2003

CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PBO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CD. COLOMBIA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	6685455	17/10/2003	2,287,000.00

CONCEPTO

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	30003-01-01	SOLICITUDES	
		85 EXAMEN DE PATENTABILIDAD DE INVEN	335,000.00
		TOTAL :	335,000.

SON: TRESCIENTOS TREINTA Y CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

2413

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RADICACIÓN EXPEDIENTE No. 01-18971

**EL EXTRACTO DE LA PRESENTE SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION
FUE PUBLICADO EN LA GACETA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL No 527, DE
FECHA 30 DE ABRIL DE 2003, EL TERMINO HABIL SEÑALADO POR LA LEY
EXPIRA EL 29 DE JULIO DE 2003.**

NOTA: Dentro del plazo de los seis (6) meses siguientes a partir de la fecha de publicación en la gaceta de Propiedad Industrial, deberá solicitar y cancelar el examen de patentabilidad so pena de que la solicitud caiga en abandono, de acuerdo con lo establecido en el Artículo 44 de la Decisión 486/2000.

SE PRESENTARON OPOSICIONES POR PARTE DE TERCEROS.

SI

NO **X**



CA.

(21) (A1) 2,203,844

(22) 1997/04/28

(43) 1998/10/28

Fecha Publicac. Inter Natl.

123

179

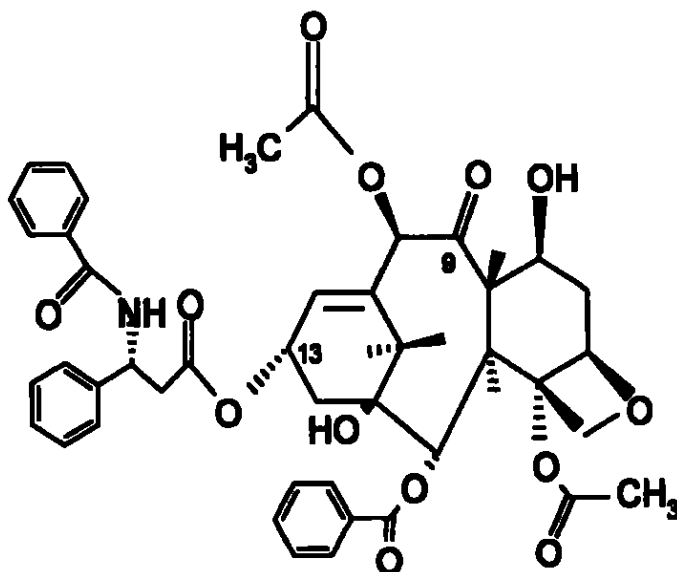
(72) LIU, Jian, CA

(71) LIU, Jian, CA

(51) Int.Cl.⁶ C07D 305/14

(54) PROCÉDE D'ISOLEMENT DU PACLITAXEL ET DE LA
9-DIHYDRO-13-ACÉTYLBACCATINE III

(54) PROCESS FOR THE ISOLATION OF PACLITAXEL AND
9-DIHYDRO-13-ACETYLBACCATIN III



(57) Divulcation d'une méthode améliorée pour isoler les taxanes, en particulier le paclitaxel et la 9-dihydro-13-acétylbaccatine III de l'extrait brut des espèces de *Taxus* naturelles, y compris du traitement de l'extrait par chromatographie sur colonne. La méthode est avantageuse, car elle donne un meilleur rendement avec moins d'efforts et à moindre coût.

(57) An improved method for isolating taxanes, particularly paclitaxel and 9-dihydro-13-acetylbaccatin III from crude extract of naturally occurring *Taxus* species including treating the extract by dry column chromatography. The advantage is better yield with less effort and at reduced expense.

Conventional methods for the isolation of taxanes, including taxol and 9-dihydro-13-acetylbaccatin III, generally comprise the steps of extracting taxanes from plant material with an alcoholic solvent; defatting the extract with a defatting agent; and separating and purifying the individual taxane by chromatography.

Prior art methods disclose the use of various types of chromatographic techniques to separate taxol and derivatives thereof. For example, U.S. Patent No. 5,380,916 issued to Rao on January 10, 1995, describes a process using reverse phase liquid chromatography. Although reverse phase chromatography can be successful in separating the taxanes, such methods require a large amount of solvent, and hence are expensive. Moreover, reverse phase chromatography is time consuming, since it can take up to a few days to accomplish the solvent development for the column.

U.S. Patent No. 5,530,020 issued to Gunawardana et al. on June 25, 1996, discloses a process for isolating 9-dihydro-13-acetylbaccatin III from *Taxus canadensis* which employs planet coil countercurrent chromatography (PCCC). Some of the disadvantages associated with this procedure are that it is complex, it can be used to purify only a small amount (milligrams) of chemical, and it entails high cost.

SUMMARY OF THE INVENTION

An object of the present invention is to provide an improved method for isolating taxanes, particularly taxol and 9-dihydro-13-acetylbaccatin III, from a *Taxus* species.

According to one aspect of the present invention, there is provided a method for isolating taxane from a crude extract of a *Taxus* species comprising the step of subjecting the crude extract to dry column chromatography.

The method of the present invention may be practiced on a small laboratory scale as well as a large industrial scale.

+25
121

Conveniently, the taxane is obtained from extraction of the plant material with an alcoholic solvent, such as methanol or ethanol. Preferably, the column to be used with the method of the present invention includes a nylon tube packed with silica gel having a microsphere size of about 70-200 μm . The ratio of crude extract to silica gel ranges from 1:10 to 1:15, and preferably 1:14. The elutant is a solvent system comprising chloroform and methanol (95:5), or chloroform, methanol and acetone (10:1:0.5).

In one embodiment of the invention, the method includes the step of defatting the crude extract with a defatting agent such as hexane, pentane, petroleum ether, isooctane or mixtures thereof. Preferably, hexane is used.

In another embodiment of the invention, taxol may be further purified by normal phase chromatography. Preferably, the eluting solvent for normal phase chromatography is dichloromethane and ethyl acetate (8:2), or a gradient solvent system including hexane and acetone (starting from 80:20 and progressing to 55:45). The normal phase chromatography step may be repeated several times. For small scale production, it is preferred that the normal phase chromatography step be repeated at least once.

In accordance with another aspect of the present invention, there is provided a method for obtaining taxane from a *Taxus* species comprising the steps of extracting a taxane from a ground *Taxus* species using an alcoholic solvent to obtain a first taxane-containing extract; concentrating the first taxane-containing extract to obtain a taxane-containing concentrate; extracting the taxane from the taxane-containing concentrate with chloroform or dichloromethane to form a second taxane-containing extract; concentrating the second taxane-containing extract to obtain a taxane-containing residue; separating the taxane into taxane-containing fractions by subjecting the taxane-containing residue to dry column chromatography in a dry chromatography column; and recovering any individual taxane from the taxane-containing fractions in the column.

In another embodiment to the present invention, taxol may further be purified by the steps of combining all the taxane-containing fractions containing taxol and 9-dihydro-13-acetylbaccatin III to form a taxane-containing solution; crystallizing the 9-dihydro-13-acetylbaccatin III out of

126
122

the taxane-containing solution with an alcoholic solvent to obtain 9-dihydro-13-acetylbaecatin III crystals and a taxol-containing solution; purifying the taxol-containing solution by normal phase column chromatography.

The advantages of the present invention are to provide a method for the isolation of taxanes which is quick, easy to perform, cost-effective and efficient, both in small and large scale productions.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Preferred embodiments of the present invention will now be described by way of example only and with reference to the following drawings in which:

Figure 1 is a flow diagram of a small scale process (Example 1) for isolating taxanes from *Taxus canadensis* in accordance with one embodiment of the present invention; and

Figure 2 is a flow diagram of a large scale process (Example 2) for isolating taxanes from *Taxus canadensis* in accordance with a second embodiment of the present invention.

DETAILED DESCRIPTION

The starting material for use in this invention is a plant material selected from species of *Taxus*, particularly *Taxus canadensis*. The taxanes can be obtained from barks, roots, wood, stems, needles, seeds or mixture thereof. Preferably, the twigs or needles or mixtures thereof are used. The plant material used may be fresh or dried.

The plant material is ground and extracted with a polar solvent such as an alcohol, preferably methanol. The extraction continues for 24 hours at room temperature, and is filtered. The extract is concentrated to about 10% of the original volume by evaporation. About an equal amount of water is added to the concentrate. The aqueous solution is extracted several times with a defatting agent such as hexane, pentane, petroleum ether, isooctane or mixtures thereof.

I CLAIM:

- 127
123
1. A method for isolating a taxane from a crude extract of a *Taxus* species comprising the step of subjecting the crude extract to dry column chromatography.
 2. The method according to claim 1, wherein the dry column chromatography is performed in a column including a nylon tube packed with silica gel.
 3. The method according to claim 2, wherein the silica gel has microsphere size of about 70 to 200 μm .
 4. The method according to claim 2, wherein the ratio of crude extract to silica gel ranges from 1:10 to 1:15.
 5. The method according to claim 2, wherein the ratio of crude extract to silica gel is 1:14.
 6. The method according to claim 2, wherein the column is loaded with a chloroform and methanol solvent system having a ratio of chloroform to methanol of about 95:5.
 7. The method according to claim 2, wherein the column is loaded with a chloroform, methanol and acetone solvent system having a ratio of chloroform to methanol to acetone of about 10:1:0.5.
 8. The method according to claim 1, wherein the taxane is selected from the group consisting of taxol and 9-dihydro-13-acetylbaccatin III.
 9. The method according to claim 1, wherein the *Taxus* species is *Taxus canadensis*.
 10. The method according to claim 1, wherein the crude extract is obtained from the group consisting of the needles and twigs of the *Taxus* species.
 11. The method according to claim 1, wherein the crude extract is obtained by extraction with an alcoholic solvent.

128
129

12. The method according to claim 1, including the step of defatting the crude extract with a defatting agent selected from the group consisting of hexane, pentane, petroleum ether, isooctane and mixtures thereof.
13. The method according to claim 8, wherein the taxol is further purified by normal phase chromatography.
14. The method according to claim 13, wherein the normal phase chromatography is performed using a dichloromethane and ethyl acetate solvent system having a ratio of dichloromethane to ethyl acetate of about 8:2.
15. The method according to claim 13, wherein the normal phase chromatography is performed using a hexane and acetone gradient solvent system having a ratio of hexane to acetone of about 80:20 to about 55:45.
16. A method for obtaining a taxane from a *Taxus* species comprising the steps of:
 - (a) extracting a taxane from a ground *Taxus* species using an alcoholic solvent to obtain a first taxane-containing extract;
 - (b) concentrating the first taxane-containing extract to obtain a taxane-containing concentrate;
 - (c) extracting the taxane from the taxane-containing concentrate with a solvent system selected from the group consisting of chloroform and dichloromethane to form a second taxane-containing extract;
 - (d) concentrating the second taxane-containing extract to obtain a taxane-containing residue;
 - (e) separating the taxane into taxane-containing fractions by subjecting the taxane-containing residue to dry column chromatography; and
 - (f) recovering any individual taxane from the taxane-containing fractions.

- 129
125
17. The method according to claim 16, including the step of defatting the taxane-containing concentrate with a defatting agent selected from the group consisting of hexane, pentane, petroleum ether, isooctane and mixtures thereof.
 18. The method according to claim 16, wherein the dry column chromatography is a column including a nylon tube packed with silica gel.
 19. The method according to claim 18, wherein a ratio of the taxane-containing residue to silica gel ranges from 1:10 to 1:15.
 20. The method according to claim 18, wherein the ratio of the taxane-containing residue to silica gel is 1:14.
 21. The method according to claim 18, wherein the column is loaded with a chloroform and methanol solvent system having a ratio of chloroform to methanol of about 95:5.
 22. The method according to claim 18, wherein the column is loaded with a chloroform, methanol and acetone solvent system having a ratio of chloroform to methanol to acetone of about 10:1:0.5.
 23. The method according to claim 18, wherein the taxane is selected from the group consisting of taxol and 9-dihydro-13-acetylbaccatin III.
 24. The method according to claim 23, wherein the taxol is purified by further purification comprising the steps of:
 - (i) combining all the taxane-containing fractions containing taxol and 9-dihydro-13-acetylbaccatin III to form a taxane-containing solution;
 - (ii) crystallizing the 9-dihydro-13-acetylbaccatin III out of the taxane-containing solution with an alcoholic solvent to obtain 9-dihydro-13-acetylbaccatin III crystals and a taxol-containing solution; and
 - (iii) purifying the taxol-containing solution by normal phase column chromatography.

~~130~~
126
25. The method according to claim 24, wherein the normal phase column chromatography step is repeated.

26. The method according to claim 24, wherein the normal phase column chromatography is performed using a dichloromethane and ethyl acetate solvent system having a ratio of dichloromethane to ethyl acetate of about 8:2.

27. The method according to claim 24, wherein the normal phase chromatography is performed using a hexane and acetone gradient solvent system having a ratio of hexane to acetone of about 80:20 to about 55:45.

FIGURE 1

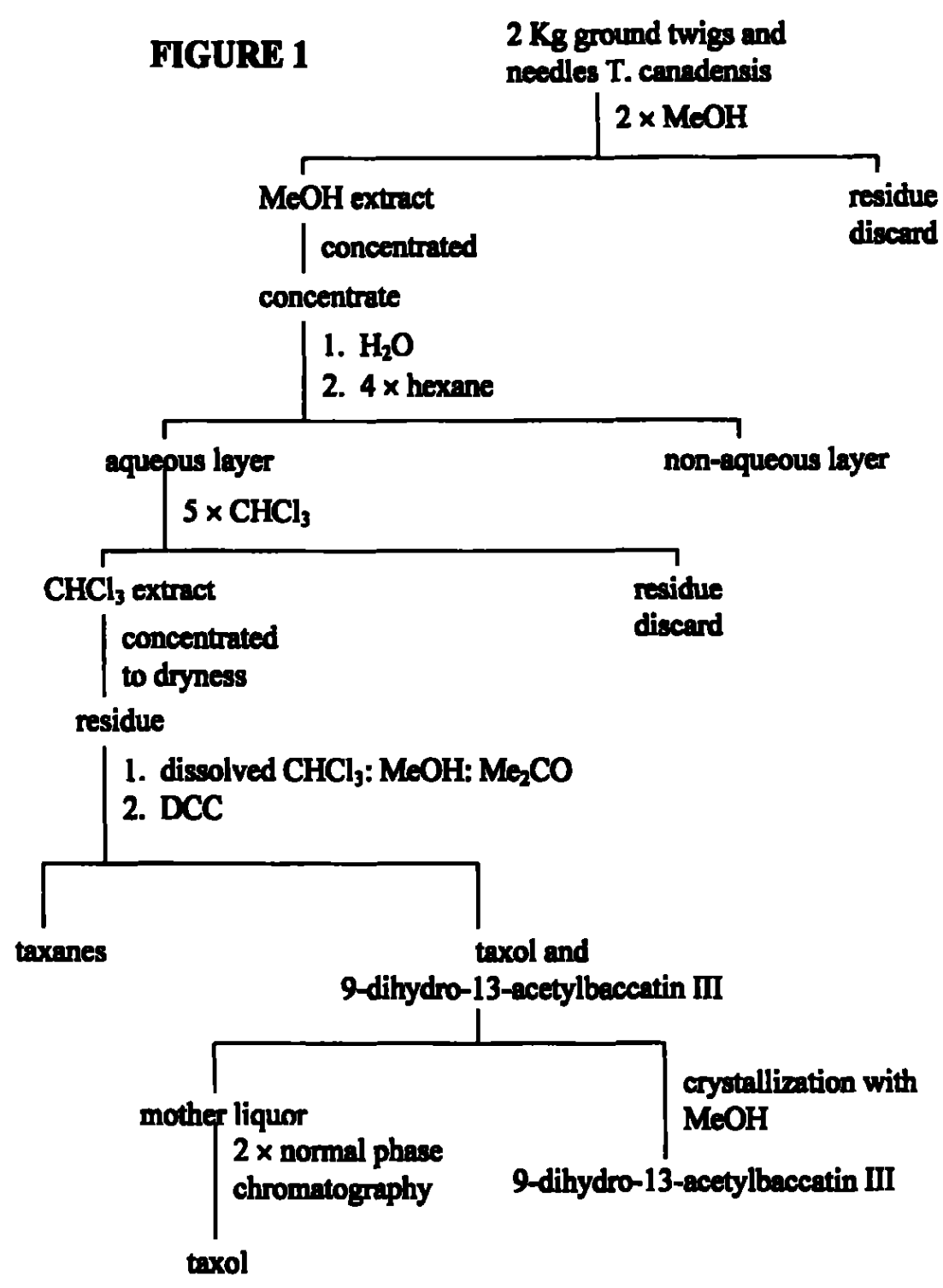
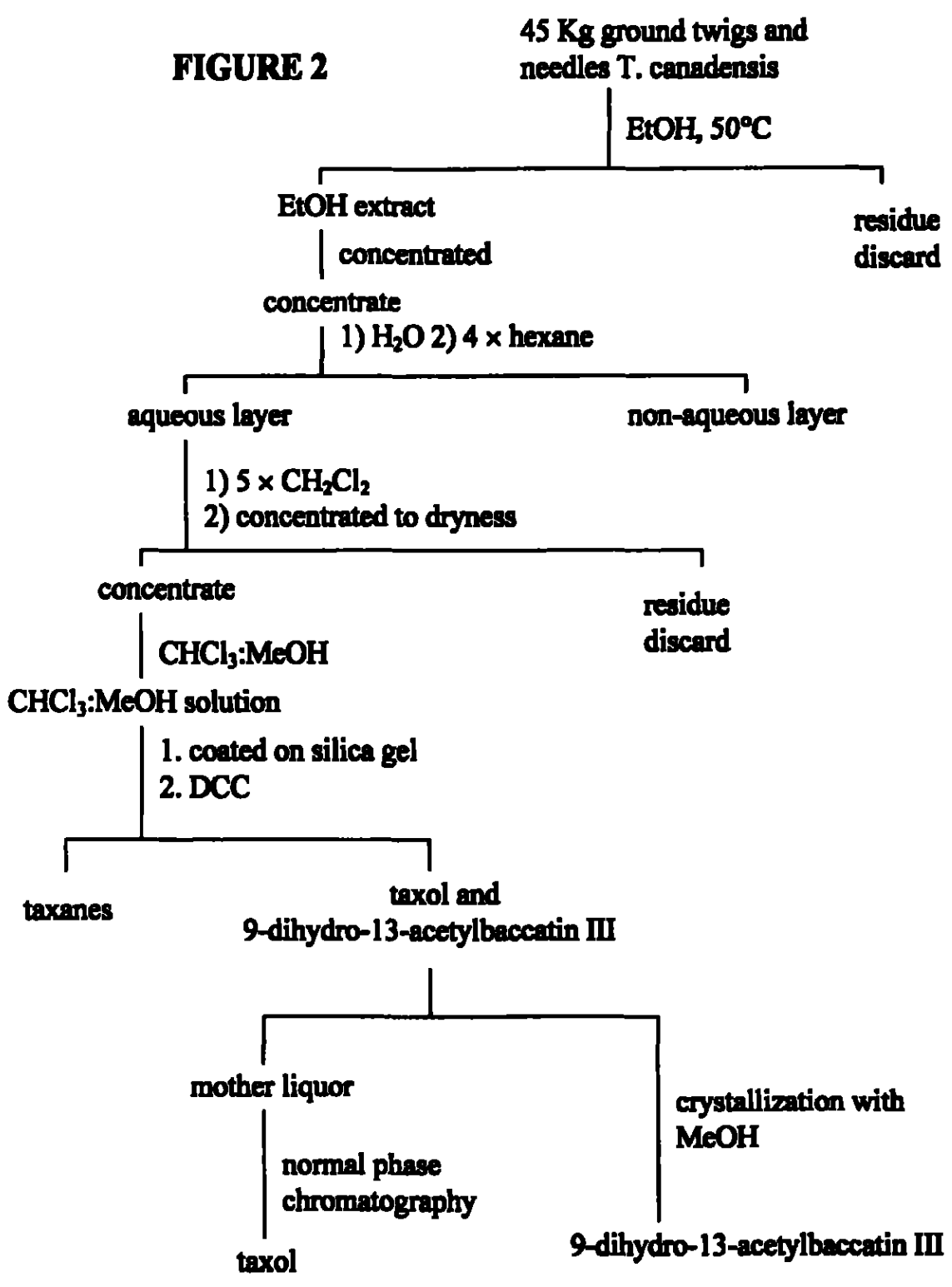


FIGURE 2



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

2020

Bogotá, D.C., Octubre 9 de 2006

Abogada**DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMÁN**

ASUNTO	Radicación No.	01 018 971
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	U-11900
	Folios	0

Título de la solicitud: "Proceso para preparar Paclitaxel y 13-acetil-9-dihidrobacatín III."

Como resultado del examen de patentabilidad de la solicitud de patente de invención, realizado según lo establece el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se notifica el siguiente concepto técnico:

1. Documentos estudiados

Para el presente estudio se tuvieron en cuenta el capítulo descriptivo comprendido en los folios 5 - 25 y el capítulo reivindicatorio de los folios 26 - 28 de la solicitud.

2. Objeto de la invención

El objeto de la presente solicitud de patente de invención consiste en:

Las reivindicaciones 1 - 7 se refieren a un método para aislar compuestos de taxano desde una fuente que los contiene, que comprende los pasos de:
proveer una fuente (*Taxus brevifolia*, *T. baccata*, *T. cuspidata*, *T. canadensis*, *T. wallchiana*, *T. chinensis*, *T. funanensis*, *T. X media cv. densiformis* y/o *T. X media cv. ICSI*) que contenga compuestos de taxano;
extraer esos compuestos de taxano en un solvente orgánico (diclorometano);
eluir los compuestos de taxano en una columna de cromatografía de distribución (seca ó húmeda) y
aislar los compuestos de taxano eluidos (al menos uno de esos compuestos aislados comprende 13-acetil-9-dihidrobacatín III).

Las reivindicaciones 8 - 15 se refieren a un método para aislar compuestos de taxano desde una fuente que los contiene, que comprende los pasos de:
proveer una fuente (*T. baccata*, *T. cuspidata*, *T. canadensis*, *T. wallchiana*, *T. chinensis*, *T. funanensis*) que contenga compuestos de taxano;
extraer esos compuestos de taxano en un solvente orgánico (metanol, diclorometano);

eluir los compuestos de taxano en una columna de cromatografía de distribución (seca) y
aislar los compuestos de taxano eluidos (al menos uno de esos compuestos es 13-acetil-9-dihidrobacatín III, bacatín III y paclitaxel (ó taxol)).

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad de un método para aislar compuestos de taxano que sea rápido, fácil, de costo-efectivo y eficiente a pequeña y a gran escala.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un método para aislar compuestos de taxano (13-acetil-9-dihidrobacatín III, bacatín III y paclitaxel (ó taxol)), que consiste en extraerlos en un solvente orgánico (metanol, diclorometano) de una fuente que los contenga; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos.

El objeto de la invención definido anteriormente se clasificó de acuerdo con la IPC: A 61 K 31/337; C 07 D 305/14.

También se reivindica prioridad de la Solicitud de Patente de los Estados Unidos US 09 522 625 de marzo 10 de 2000, con respecto a la cual la fecha de presentación de la actual solicitud cumple el plazo máximo permitido.

3. Determinación del Estado de la Técnica

El artículo 16 de la decisión 486 de la comisión de la Comunidad Andina que establece que *"El estado de la técnica comprenderá todo lo que haya sido accesible al público por una descripción escrita u oral, utilización, comercialización o cualquier otro medio antes de la fecha de presentación de la solicitud de patente o, en su caso, de la prioridad reconocida.*

Solo para el efecto de la determinación de la novedad, también se considerará dentro del estado de la técnica, el contenido de una solicitud de patente en trámite ante la oficina nacional competente, cuya fecha de presentación o de prioridad fuese anterior a la fecha de presentación o de prioridad de la solicitud de patente que se estuviese examinando, siempre que dicho contenido esté incluido en la solicitud de fecha anterior cuando ella se publique o hubiese transcurrido el plazo previsto en el artículo 40".

Considerando que la fecha de presentación de la primera solicitud de patente de la cual se reivindica prioridad es marzo 10 de 2000, se consultaron las bases de datos y los archivos con que cuenta la entidad con fecha de publicación anterior y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

No.	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	CA 2 203 844	Process For The Isolation Of Paclitaxel And 9-Dihydro-13-Acetylbaccatin III	Oct 28, 1998

4. Evaluación de los requisitos de Patentabilidad

El artículo 14 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que *"Los Países Miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o de procedimiento, en todos los campos de la tecnología, siempre que sean nuevas, tengan nivel inventivo y sean susceptibles de aplicación industrial".*

En cumplimiento del artículo 14 de la Decisión 486, se procedió a evaluar el cumplimiento de los requisitos de novedad, nivel inventivo y aplicación

industrial, con el fin de establecer la patentabilidad de la invención reivindicada en la solicitud en estudio.

El objeto de esta solicitud es proporcionar un método para aislar compuestos de taxano (13-acetil-9-dihidrobacatín III, bacatín III y paclitaxel (ó taxol)), que consiste en extraerlos en un solvente orgánico (metanol, diclorometano) de una fuente que los contenga; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos.

D1 enseña previamente, un método para aislar compuestos de taxano (13-acetil-9-dihidrobacatín III y paclitaxel (ó taxol)), que consiste en extraerlos en un solvente alcohólico de una fuente que los contenga; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos. Aclara que este método puede realizarse a pequeña escala ó a escala industrial.

Evaluación de la Novedad

El Art. 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece: *"Una invención se considerará nueva cuando no está comprendida en el estado de la técnica. El estado de la técnica comprenderá todo lo que haya sido accesible al público por una descripción escrita u oral, utilización comercialización o cualquier otro medio antes de la fecha de presentación de la solicitud de patente, o, en su caso, de la prioridad reconocida."*

Solo para el efecto de la determinación de la novedad, también se considerará dentro del estado de la técnica, el contenido de una solicitud de patente en trámite ante la oficina nacional competente, cuya fecha de presentación o de prioridad fuese anterior a la fecha de presentación o de prioridad de la solicitud de patente que se estuviese examinando, siempre que dicho contenido esté incluido en la solicitud de fecha anterior cuando ella se publique o hubiese transcurrido el plazo previsto en el Art 40".

Se observa que los elementos (ó pasos) característicos del método reivindicado, es decir extraer los compuestos de taxano (13-acetil-9-dihidrobacatín III, bacatín III y paclitaxel (ó taxol)) en un solvente orgánico de una fuente que los contenga; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos, eran conocidos en la anterioridad D1. De manera que el método no puede considerarse nuevo.

Evaluación del Nivel Inventivo

El artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que *Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica.*

Se observa que:

- (a) debido a que los pasos característicos del método reivindicado, es decir: extraer los compuestos de taxano (13-acetil-9-dihidrobacatín III, bacatín III y paclitaxel (ó taxol)) en un solvente orgánico de una fuente que los contenga; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos, eran conocidos en la anterioridad D1, una persona de habilidades ordinarias en el arte los adaptaría fácilmente para reivindicar el método mencionado;
- (b) las reivindicaciones de esta solicitud no mencionan una característica ó condición que conceda un efecto diferente o especial al método, que pueda considerarse como un aporte a la técnica, así que es obvio para una persona versada en la materia;
- (c) el problema planteado en esta solicitud que era la necesidad de un método para aislar compuestos de taxano que sea rápido, fácil, de costo-efectivo y

eficiente a pequeña y a gran escala se resuelve proporcionando el método que consiste en extraer los compuestos de taxano (13-acetil-9-dihidrobacatín III, bacatín III y paclitaxel (ó taxol)) en un solvente orgánico de una fuente que los contenga; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos, es decir de la misma manera como se resolvía en la anterioridad D1;

- (d) el resultado obtenido: es decir el método que consiste en extraer los compuestos de taxano en un solvente orgánico; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos no es inesperado.
- (e) no parece haberse superado un prejuicio técnico anterior, con el método que consiste en extraer los compuestos de taxano en un solvente orgánico; eluirlos en una columna de cromatografía y aislarlos de manera que el objeto reivindicado no tiene nivel inventivo.

5. Conclusión

En conclusión, los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Item	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	CA 23 203 844	1 – 15	Novedad y Nivel inventivo

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 Unica No. 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 19 OCT. 2006

CONCEPTO TÉCNICO No. 1587	EXAMINADOR TÉCNICO Código 202007
------------------------------	-------------------------------------