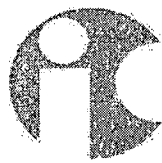


QF

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

Organización y
Digitalización CSA Ltda



Organización CSA Ltda

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

09-126669

21. EXPEDIENTE N° _____

54. TÍTULO UN EXOPOLISACÁRIDO

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C08B 37/00

71. SOLICITANTE ALIMENTARY HEALTH LIMITED Y

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

DOMICILIO Kinsale Road, Cork, Irlanda y

Cincinnati, Ohio, Estados Unidos de América

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

991

22. BOGOTÁ, D.C. _____



No. 09-126669- -00000-0000

Fecha: 2009-11-09 14:40:23
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 62

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

SOLICITUD DE:

1



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: ALIMENTARY HEALTH LIMITED
y THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

Dirección: 2800 Cork Airport Business Park, Kinsale
Road, Cork, Irlanda y One Procter & Gamble Plaza,
Cincinnati, Ohio 45202, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o domicilio: Kinsale Road, Cork,
Irlanda y Cincinnati, Ohio, Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución:

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN

Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6

Teléfono: 6 181088 **Fax:** 6350824

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número

41.654.882

TP

20824 CSJ

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER HOJA ANEXA

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IE2008/000054

Fecha 2 de mayo de 2008

Publicación Internacional No. WO 2008/135959 A1

Fecha 13 de noviembre de 2008

6

TÍTULO (54)

UN EXOPOLISACÁRIDO

7

Clasificación Internacional (51)

C08B 37/00

C12P 19/04
A61K 31/715

8

Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

(32) Fecha

4 de mayo de 2007

(31) Número de Solicitud

60/924,242

9

Comprobante de pago No.

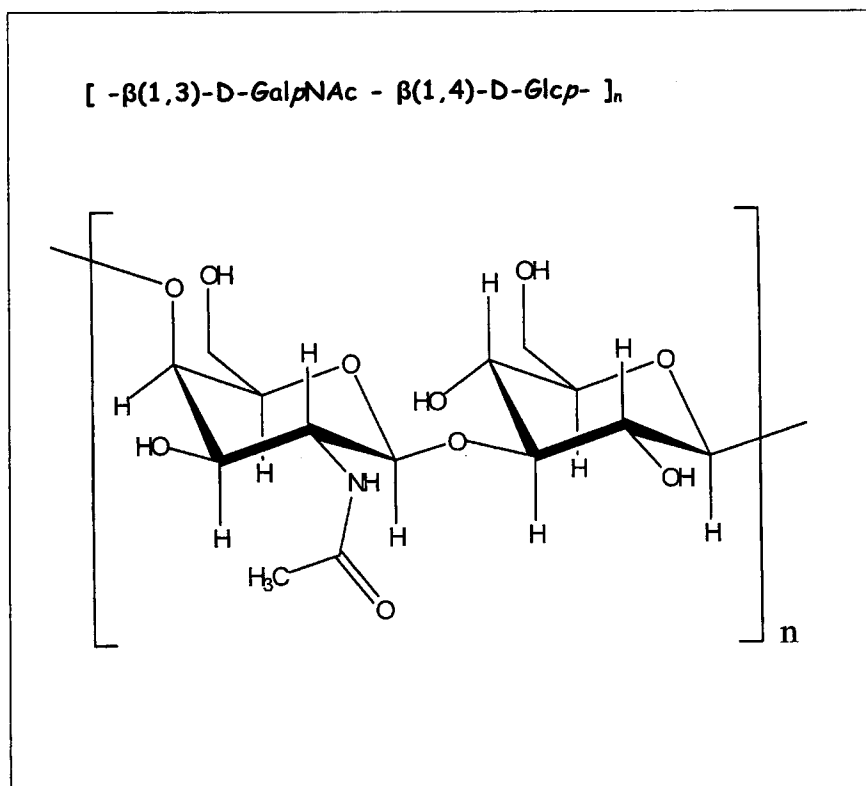
09 - 76.208 // 9 - 65.779

Fecha

09/10/09 // 03/09/09

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes si fuere el caso The Procter & Gamble Company
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

FIRMA:

C.C. 41.654.882

T.P. 20824

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 76,208
FECHA : OCTUBRE 9 DE 2009



***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODEY Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	130829171	08/10/2009	76,140,000.00

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

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN 540,000.00
		TOTAL :	\$ 540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

P-2365
2

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 9 - 65,779

FECHA : SEPTIEMBRE 3 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-126669-00000-0000

Fecha: 2009-11-09 14:40:23

Dep. 2020 NUECREACION

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 62

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBIA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	129129744	03/09/2009	80,800,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	50,000.00
		TOTAL :	\$ 50,000.00

SON: CINCUENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL ASUNTO No.

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

ANEXOS

INVENTORES

1.)

GRANT, Raymond, Alan

(5733 Reswin Drive, Fairfield, Ohio 45014, Estados Unidos de América);

2.)

O'MAHONY, Liam

(5 The Lagan, Riversdale, Rathcormac, County Cork, Irlanda);

3.)

SHEIL, Barbara

(11fernwood, Doughcloyne, Wilton, County Cork, Irlanda).

APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document

2. has been signed by PATRICIA M. CLANCY

3. acting in the capacity of Clerk of Court of Common Pleas

4. bears the seal/stamp of Court of Common Pleas, Hamilton County

CERTIFIED

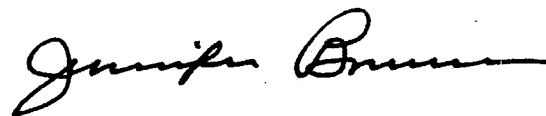
5. at Columbus, Ohio

6. June 25, 2009

7. by the Secretary of State of Ohio.

8. No. **A 028879**

10. Signature:



Jennifer Brunner
Secretary of State of Ohio



STATE of OHIO }
COUNTY OF HAMILTON } ss.

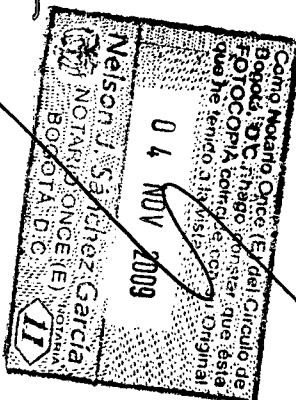
I, PATRICIA M. CLANCY Clerk of the Common Pleas Court,
the same being a court of record for aforesaid county, having by law a seal do hereby certify that
DIANE M. WAGNER Esq., whose name is subscribed to the attached certificate was at
the time a NOTARY PUBLIC, duly commissioned and sworn, and at the time of taking said acknowledgement,
proof or affidavit, was residing in said county, and was, as such, an officer of said state, duly authorized by
the laws thereof to take and certify the same, as well as to take and certify the proof and acknowledgement
of deeds and other instruments in writing to be recorded in said state, and that full faith and credit are and
ought to be given to his official acts; and I further certify that I am well acquainted with his handwriting, and
verily believe that the signature to the attached certificate is his genuine signature. I further certify that the
filing of the impression of the notary seal is not required in this state.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand and affixed my
official seal this 16TH day of JUNE, 20 09

Patricia M. Clancy

PATRICIA M. CLANCY

Clerk of Common Pleas Court, Hamilton County, Ohio



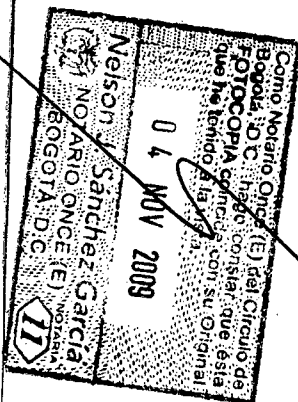


P&G Legal
Guidance Creativity Solutions

Colombia - POA

UNITED STATES OF AMERICA)
STATE OF OHIO) ss
COUNTY OF HAMILTON)

On this 11th day of June, 2009, I, Diane M. Wagner, a Notary Public in and for the State of Ohio, do certify that Mr. Carl J. Roof, Assistant Secretary of The Procter & Gamble Company, personally appeared before me and executed the attached original Power Of Attorney document.



Diane M. Wagner

DIANE M. WAGNER
NOTARY PUBLIC, STATE OF OHIO
RECORDED IN HAMILTON COUNTY
MY COMMISSION EXPIRES NOVEMBER 07, 2012

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 -Fax: (57 1) 6350824 -Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY**

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio **One Procter & Gamble Plaza Cincinnati, Ohio 45202, Estados Unidos de América**

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de **DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN**, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y **CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ**, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).

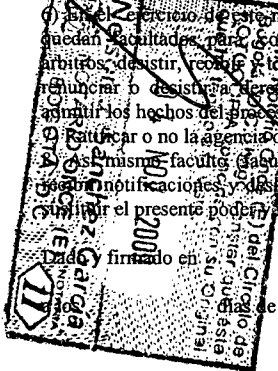
5) Registrar marcas de dominio ante la entidad competente.

6) Ejercer el derecho de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para conciliar, cancelar, transigir, comprometer en arbitros, desistir, renunciar y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistirse de derechos concedidos o en curso de concesión, así como los hechos del proceso.

7) Ratificar o no la agencia oficiosa.

8) Asimismo, facultamos (asignamos) a los mencionados apoderados para que notifiquen, designen apoderados judiciales o extrajudiciales, y en el presente poder revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en



POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

legal representative(s) of **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY**

an organization existing under the laws of

and in present execution of its business activity, domiciled at **One Procter & Gamble Plaza Cincinnati, Ohio 45202, United States of America**

do hereby grant **POWER OF ATTORNEY** to **DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN**, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and **CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ**, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at **Cincinnati, OH - U.S.A.**

on this **11th** day of **June** of **2009**

Carl J. Roof
Firma / signature

Carl J. Roof
Assistant Secretary

CERTIFICADO NOTARIAL

(Cuando el solicitante es SOCIEDAD)

(Poderes otorgados en: El Salvador, Estados Unidos, México y Venezuela)

A los _____ días del mes de _____ de _____, el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado _____
y letra el documento que antecede. firmó de su puño

2. Conoce al (a la) otorgante y que este (a) está legalmente capacitado para el otorgamiento.

3. El otorgante ha firmado el referido documento en su carácter de _____
de la persona jurídica THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

4. La citada persona jurídica con sede en One Procter & Gamble Plaza Cincinnati, Ohio 45202, Estados Unidos de América, está legalmente constituida, que tiene actualmente existencia legal y que el acto para el cual se ha otorgado este poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

5. El otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, que esta es legítima y que está facultado para otorgar este poder.

6. Las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5, me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____ de _____, el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado en _____
firmó en su presencia

el documento que antecede, conoce al otorgante y que este está legalmente capacitado para el otorgamiento.

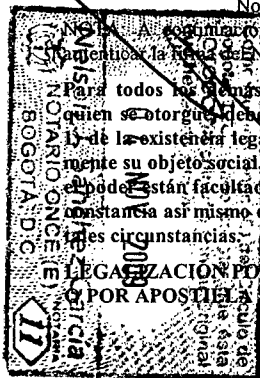
Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

Para todos los demás países el Señor Cónsul de Colombia o ante quien se otorgue debe expedir una certificación dejando constancia 1) de la existencia legal de la sociedad, 2) de que esta ejerce actualmente su objeto social, y 3) de que la persona o personas que otorgan el poder están facultadas para hacerlo, dejando constancia así mismo de que tuvo a la vista las pruebas que acrediten tales circunstancias.

LEGALIZACIÓN POR EL CONSUL DE COLOMBIA

OR POR APOSTILLE



NOTARIAL CERTIFICATE

(When the applicant is a CORPORATION)

(Powers of attorney granted in: El Salvador, Mexico, U.S.A. and Venezuela)

This 11th day of JUNE, 2009, the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. Carl J. Roof
(name of the person who signs the power of attorney)

of _____ legal _____ age _____ and _____ domiciled in Cincinnati, OH - U.S.A. set his hand on the foregoing document.

2. The grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

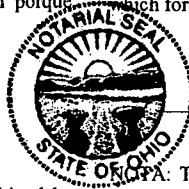
3. The grantor has executed the foregoing document in his capacity of Assistant Secretary of the juridical THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

Carl J. Roof

4. The mentioned juridical person with place of One Procter & Gamble Plaza Cincinnati, Ohio 45202, United States of America, is duly organized, has actual legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. The grantor has in fact the referred quality and that his/her representation is legal and that he/she is empowered to grant this power of attorney.

6. I have based the above certifications 3, 4 and 5, on the authentic documents which for such purpose were exhibited to me.



Diane M. Wagner
Notary Public

DIANE M. WAGNER
Notary Public, State of Ohio
My Commission Expires 11-07-2012

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

NOTARIAL CERTIFICATE (When the applicant is an INDIVIDUALS)

On this _____ day of _____ the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. _____
(name of the person who signs the Power of Attorney)

of legal age and domiciled at _____ signed in his presence the foregoing document, the grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

For all other countries the Colombian Consul or before who it is granted must issue a certification stating 1) the legal existence of the corporation, 2) that the corporate purposes are actually being accomplished, 3) that the person or persons who grant this Power of Attorney are empowered to do it. The Consul will certify also that the documents evidencing those circumstances were exhibited to him.

LEGALIZATION BY THE COLOMBIAN CONSUL OR BY APOSTILLE.

Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la **APOSTILLA** No. **A 028879** de 25 de junio de 2009 expedida en Estados Unidos de América correspondiente a un documento de poder otorgado el 11 de junio de 2009 por la sociedad **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY**, domiciliada en Cincinnati, Ohio, Estados Unidos de América y una certificación notarial, ambos en inglés con idéntico texto en español (razón por la cual no se hace su traducción).

Jimena Escobar Uribe
JIMENA ESCOBAR URIBE
 Traductor e Intérprete Oficial
 Resolución No. 0369 Min. Justicia 1997

Documento legalizado por firma y sello por Diane M. Wagner.

Sello: Diane M. Wagner, Notario Público, Estado de Ohio, comisión termina el 11-07-2012.

Sello notarial, Estado de Ohio

Sello

P&G Legal

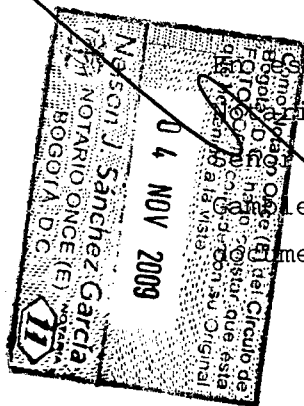
Guía Creatividad Soluciones

Documento de Poder-Colombia

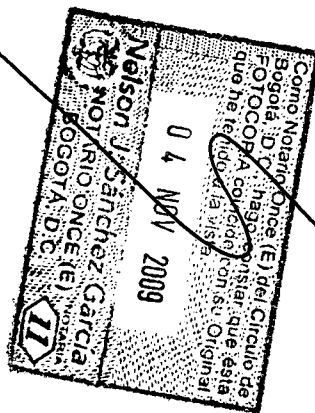
Estados Unidos de América

Estado de Ohio

Condado de Hamilton



Este día 11 de junio de 2009, Yo, Diane M. Wagner, un Notario Público en y para el Estado de Ohio, certifico que el Carl J. Roof, Secretario Asistente de The Procter & Gamble Company, personalmente compareció ante mí y ejecutó el documento de Poder de Abogado original adjunto.



MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2009 AGO -3 A 9:41

~~COPIA DE LEGALIZACIONES~~
BOGOTÁ D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

016515

JIMENA ESCOBAR
COPIA FIDEL A PARECE EN EL
DOCUMENTO QUE ME ENVIÓ
LAS FUNCIONES INDICADAS

Firmado: Diane M. Wagner
 Notario Público, Estado de Ohio
 Registrada en el Condado de Hamilton
 Mi Comisión termina el 7 de noviembre de 2012
 Sello notarial del Estado de Ohio

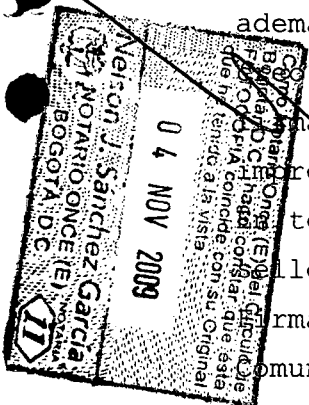
Estado de Ohio
 Condado de Hamilton

Yo, PATRICIA M. CLANCY, Escribano de la Corte de Causas Comunes, la cual es una corte de registro para dicho Condado, teniendo por ley un sello, por medio del presente certifico que

DIANE M. WAGNER

Cuyo nombre está suscrito al certificado anexo, era en el momento un Notario Público, debidamente comisionado y juramentado y al momento de de tomar dicho reconocimiento, prueba o declaración juramentada, estaba residiendo en dicho condado y era, como tal, un funcionario del dicho Estado, debidamente autorizado por las leyes del mismo para tomar y certificar la prueba y reconocimiento de escrituras y otros instrumentos escritos para ser registrados en dicho Estado y que total fe y crédito deben darse a sus actos oficiales; Y además certifico estoy bien familiarizado con su escritura y firmemente que la firma en el certificado anexo es su genuina. Además certifico que la presentación de la expresión del sello notarial no es requerida en este Estado. testimonio de lo cual, he puesto aquí mi firma y fijado mi sello oficial el día 16 de junio de 2009.

Firmado: Patricia M. Clancy, Escribano de la Corte de Causas Comunes, Condado de Hamilton, Ohio



Jimena Escobar Uribe
JIMENA ESCOBAR URIBE
 Traductor e Intérprete Oficial
 Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

APOSTILLA

(Convención de la Hay de 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América

Este documento público

2. ha sido firmado por PATRICIA M. CLANCY

3. actuando en su capacidad de Escribano de la Corte de Causas Comunes

4. lleva el sello/estampilla de Corte de Causas Comunes, Condado de Hamilton

CERTIFICADO

5. en Columbus, Ohio

6. junio 25 de 2009

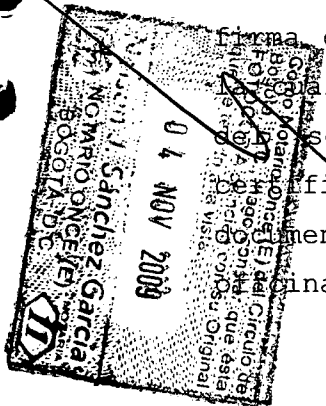
7. por el Secretario de Estado de Ohio

8. No. A 028879

9. Sello/estampilla: El Sello del Secretario de Estado de Ohio

10. Firma: firmado por Jennifer Brunner, Secretario de Estado de Ohio

Esta certificación certifica únicamente la autenticidad de la firma del oficial quien firmó el documento, la capacidad en la que ese oficial actuó y, cuando apropiado, la identidad de ese oficial. El sello o estampilla que lleva el documento. Esta certificación no implica que el contenido del (de los) documento(s) sea correcto ni que tengan la aprobación de esta oficina.



Jimena Escobar Uribe
JIMENA ESCOBAR URIBE
 Traductor e Intérprete Oficial
 Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

Resumen

5

Un polisacárido aislado tiene la estructura $[-\beta(1, 3)\text{-DGalpNAc} - \beta(1, 4)\text{-DGlcP-}]_n$.

El polisacárido puede provenir de una cepa de *Bifidobacterium* NCIMB41003. El polisacárido presenta actividad inmunomoduladora.

10

"Un exopolisacárido"

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un exopolisacárido, y a su uso para el tratamiento y prevención de los desórdenes inflamatorios.

5

Antecedentes de la invención

El tracto gastrointestinal proporciona una interfase protectora entre el ambiente interno y el reto constante de los antígenos derivados de los alimentos y de los microorganismos en el ambiente externo (Sanderson et al., 10 1993). El complejo ecosistema de la microflora intestinal del adulto se estima que hospeda cerca de 500 diferentes especies de bacterias. Algunas de estas especies se consideran potencialmente dañinas por la producción de toxinas, invasión a la mucosa o activación de carcinógenos y de respuestas inflamatorias (Salminen, 1998). Sin embargo, se han identificado cepas bacterianas con 15 actividades que promueven la salud.

Los probióticos son bacterias benéficas que existen en la microflora del intestino saludable y se han definido como un grupo de organismos microbiológicos vivos que afectan benéficamente a un animal huésped al mejorar el balance microbiano intestinal.

Ellos consisten de "bacterias amigables" que son cultivadas en condiciones de laboratorio y que luego se utilizan para restaurar el balance de la microflora, la cual se ha desbalanceado, por ejemplo, por estrés, enfermedad, o como resultado del uso de antibióticos. De manera importante, se ha mostrado que la
5 ingestión de bacterias probióticas puede potencialmente estabilizar la barrera inmunológica en la mucosa del intestino al reducir la generación de citoquinas que favorecen la inflamación local (Isolauri, 1993; Majamaa, 1997). La alteración de las propiedades de la microflora nativa por la terapia probiótica mostró que puede reversar algunos disturbios inmunológicos característicos de la
10 enfermedad de Crohn (Malin, 1996), alergia a los alimentos (Majamaa, 1997), y eczema atópico (Isolauri, 2000).

Una de las especies de bacterias predominantes presentes en la microflora intestinal es *Bifidobacterium*. En el intestino, *Bifidobacterium* fermenta los azúcares para producir ácido láctico. El genoma de *Bifidobacterium longum*
15 codifica muchas proteínas especializadas para el catabolismo de los oligosacáridos, permitiendo que las bacterias utilicen los de las plantas, llamados "no-digeribles" o glicoconjugados y glicoproteínas derivados del huésped. Se piensa que la habilidad de *Bifidobacterium* para competir con otras bacterias gastrointestinales y ocupar un gran porcentaje de la flora bacteriana de la región
20 gastrointestinal puede ser debida, parcialmente a la gran variedad de moléculas que ésta es capaz de usar como fuente de energía.

Mientras que *B. infantis*, *B. breve*, y *B. longum* son los grupos más grandes de bacterias en el intestino de los niños. *Bifidobacteria* se dice que son solamente el tercer o cuarto grupos de bacterias mayoritarias en adultos (y solamente de 3-6% de la flora fecal en los adultos). El número de estas bacterias disminuye en el cuerpo humano, con la edad. En los niños que se han alimentado con leche materna, *Bifidobacteria* constituye cerca de 90% de la bacterias de sus intestinos; sin embargo, este número es más bajo en los niños alimentados con leche embotellada. Cuando los niños alimentados con leche materna cambian su dieta a leche de vaca y alimento sólido, *Bifidobacteria* se unen para aumentar el número de otras bacterias que se encuentran en el cuerpo humano tal como, *Bacteroides* y *Streptococci lactobacilli*.

Bifidobacteria ha mostrado jugar un papel en la modulación del sistema inmune. Se piensa que *B. breve* libera metabolitos que ejercen un efecto anti-TNF capaz de atravesar la barrera intestinal. Se ha reportado que la inflamación de la mucosa en ratones deficientes en interleuquina-10 (IL-10) se reduce alimentando a los animales sujeto con una preparación de bacterias ácido lácticas (Madsen, K et al. 1997; O'Mahony et al., 2001; McCarthy et al., 2004). WO 00/41168 divulga una cepa de *Bifidobacterium infantis* aislada de tracto gastrointestinal humano resecado y lavado la cual es significativamente inmunomoduladora después del consumo oral en humanos.

La investigación científica indica que un aumento de la incidencia de enfermedad puede ser causada por microflora deficiente o comprometida (La

población residente de flora natural en el sistema digestivo) tal que las infecciones en el tracto gastrointestinal (GIT), constipación, síndrome de intestino irritable (IBS), enfermedad inflamatoria del intestino (IBD), enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa, alergia a los alimentos, diarrea
5 inducida por antibióticos, enfermedad cardiovascular y ciertos cánceres como el cáncer colorectal. La evidencia indica que seguir el tratamiento con una única cepa de *Bifidobacterium infantis*, reduce la severidad de los síntomas de IBS (Whorwell et al., 2006). La eficacia se asocia con la modulación de la respuesta del sistema inmune indicando que el mecanismo de acción, en parte, es
10 inmuno-mediado (O'Mahony et al., 2005). La presente invención describe un compuesto aislado de *Bifidobacterium infantis* que replica la actividad inmunomoduladora de *Bifidobacterium infantis in vitro*.

Declaraciones de la invención

La presente invención proporciona un polisacárido producido por
15 *Bifidobacterium infantis* que muestra propiedades inmunomoduladoras. El polisacárido puede ser secretado (exopolisacárido) o no secretado.

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona un polisacárido que comprende la estructura: $[-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc} - \beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$.

El polisacárido se puede aislar de una cepa bacteriana de *Bifidobacterium*.

20 La cepa puede ser tal como NCIMB 41003.

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona el uso de un polisacárido de la invención como un medicamento.

- 5 De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona el uso de un polisacárido de la invención en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir actividad inflamatoria indeseable.

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona el uso de un polisacárido de la invención en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir actividad inflamatoria gastrointestinal indeseable.

- 10 En una implementación la actividad inflamatoria gastrointestinal es la enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, síndrome de intestino irritable, pouchitis, colitis post infección, diarrea asociada a *Clostridium difficile*, diarrea asociada con Rotavirus o diarrea post infecciosa.

- 15 De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona el uso de un polisacárido de la invención en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir artritis reumatoidea.

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona el uso de un polisacárido de la invención en la preparación de un medicamento para tratar o prevenir desórdenes autoinmunes.

De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un polisacárido de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable

En otra implementación la invención también proporciona un alimento que
5 comprende el polisacárido aislado. Por ejemplo el alimento puede ser uno o más de los seleccionados del grupo que comprende yogures, cereales, bebidas y similares

Descripción detallada

10 Se describirán ahora a manera de ejemplo, no limitante, varias características e implementaciones preferidas de la presente invención.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique otra cosa, las técnicas convencionales de química, microbiología y la inmunología, las cuales están dentro de las capacidades de una persona versada en el arte. Tales
15 técnicas se explican en la literatura.

Nosotros hemos identificado un exopolisacárido secretado por *Bifidobacterium* el cual tiene propiedades inmunomoduladoras

El exopolisacárido

La presente invención se refiere a un exopolisacárido biosintetizado por *Bifidobacterium infantis*. Los polisacáridos son sintetizados por una amplia variedad de microorganismos y son usualmente unidades repetidas de azúcares que permanecen asociadas con la superficie celular o son excretadas o ambos. Ellos juegan un papel en las respuestas al estrés celular o pueden contribuir a la virulencia de un patógeno. Recientemente, se ha demostrado el papel inmunomodulador del polisacárido de *Bacteroides fragilis* (Mazmanian et al., 2005).

10 Tratamiento

Se aprecia que todas las referencias aquí, para tratamiento incluyen tratamientos curativos, paliativos y profilácticos. Se prefiere particularmente el tratamiento de mamíferos. Ya sean tratamientos de humanos o veterinarios, ambos se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

15 Inflamación

La inflamación es una respuesta local a un daño celular que se manifiesta por dilatación capilar, infiltración leucocítica, enrojecimiento, calor, dolor, hinchazón, y frecuentemente pérdida de la función. El control de la respuesta inflamatoria se ejerce en un número de niveles (para revisión, consulte Henderson B., y Wilson M. 1998). Los factores que controlan

incluyen citoquinas, hormonas (e. g. hidrocortisona), prostaglandinas, intermediarios reactivos y leucotrienos.

Las citoquinas son proteínas biológicamente activas de bajo peso molecular que
5 están involucradas en la generación y control de respuestas inflamatorias e
inmunológicas, a la vez también regulan el desarrollo, reparan tejidos y hacen
hematopoyesis. Ellas proporcionan un medio de comunicación entre los
leucocitos por sí mismos, y también con otros tipos de células. La mayoría de las
citoquinas son pleiotróficas y expresan múltiples actividades biológicas que se
10 superponen.

Las cascadas de citoquinas y el control de las redes a la respuesta
inflamatoria, más bien es la acción de una citoquina particular sobre un tipo
de célula particular (Arai KI, et al., 1990). La disminución de la respuesta
inflamatoria produce concentraciones más bajas de las apropiadas que activan
15 las señales y de otros mediadores que permiten el cese de la respuesta
inflamatoria. El factor alfa de necrosis tumoral (TNF α) es una citoquina
proinflamatoria pivotal puesto que inician una cascada de citoquinas y los
efectos biológicos producen el estado inflamatorio. Por lo tanto, los agentes
que inhiben TNF α han sido usados corrientemente para el tratamiento de
20 enfermedades inflamatorias, e.g. infliximab.

Las citoquinas pro-inflamatorias se piensa que juegan un papel principal en la
patogénesis de muchas enfermedades inflamatorias, incluyendo la

enfermedad de intestino irritable (IBD). Las terapias actuales para tratar IBD se dirigen a reducir los niveles de estas citoquinas pro-inflamatorias. El exopolisacárido de la presente invención puede tener una aplicación potencial en el tratamiento de desórdenes inflamatorios. Esto puede lograrse, por ejemplo, aumentando la concentración de citoquinas no-inflamatorias, tal como, pero no limitada a IL-10, y/o disminuir la concentración de citoquinas inflamatorias.

Enfermedad inflamatoria del intestino

La enfermedad inflamatoria del intestino (IBD) se caracteriza por una inflamación intestinal crónica que recae. IBD se subdivide en la enfermedad de Crohn y los fenotipos de colitis ulcerativa. La enfermedad de Crohn puede involucrar cualquier parte del tracto gastrointestinal, pero más frecuente el íleon terminal y el colon. Aproximadamente 10% de los casos se confinan al recto y al colon, La clasificación definitiva de la enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa no se puede hacer y se designan como "colitis indeterminada". Ambas enfermedades incluyen inflamación extra-intestinal de la piel, los ojos o las coyunturas.

La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerativa comúnmente se clasifican como enfermedades autoinmunes y ambas enfermedades se manifiestan por una respuesta anormal del sistema inmune del cuerpo produciendo una

inflamación crónica en el revestimiento interior de los intestinos. La prevalencia de la enfermedad inflamatoria del intestino se aumenta en individuos con otras enfermedades autoinmunes, particularmente espondilitis anquilosante, psoriasis, Cholangitis esclerosante, y esclerosis múltiple.

5 Enfermedad de Crohn

La enfermedad de Crohn es un desorden crónico que causa inflamación del tracto digestivo o gastrointestinal en el que el sistema inmune ataca al intestino.

Aunque la enfermedad de Crohn afecta más comúnmente el final del íleon y el comienzo del colon, esta puede involucrar cualquier parte del tracto gastrointestinal. La inflamación del intestino es transmural y discontinua; este puede contener granulomas o estar asociada con fístulas intestinales o perianales. Se creó que el gen CARD15 y el alelo del gen ABCB1 están asociados con la susceptibilidad a la enfermedad de Crohn.

15 Colitis ulcerativa

La colitis ulcerativa es una enfermedad que causa inflamación y llagas en el revestimiento interior del intestino grueso. Esta es una enfermedad inflamatoria crónica no específica que afecta el intestino. Las úlceras y el sangrado se forman en lugares en donde la enfermedad ha destruido las

células del revestimiento. En contraste con la enfermedad de Crohn, la inflamación es continua y limitada a las capas mucosas del colon y el recto; no se observan fístulas ni granulomas.

Parece que tanto factores genéticos y ambientales son importantes en su etiología. Fuss et al., examinando láminas propias de células T de pacientes con colitis ulcerativa, encontraron que ellas producen cantidades significativamente más grandes de IL13 e IL5 que el control o que las células con la enfermedad de Crohn y poco IFN-gama. Ellos concluyeron que la colitis ulcerativa está asociada con una respuesta Th2 atípica mediada por células NKT no clásicas que producen IL13 y tienen potencial cito-tóxico para las células epiteliales.

Pouchitis

La inflamación crónica y/o aguda del depósito ileal, también llamada "pouchitis", es una complicación observada frecuentemente a largo plazo, de la anastomosis de la bolsa íleo-anal. En los pacientes con colitis ulcerativa, la prevalencia de la pouchitis varía entre menos del 10% hasta más del 40%. La definición de pouchitis incluye síntomas clínicos, lesiones inflamatorias macroscópicas con evidencia endoscópica e histológica de inflamación aguda intensa de la mucosa del depósito.

Diarrea asociada a *Clostridium difficile*

El *Clostridium difficile* es una espora anaerobia, gram-positiva que forma bacilos que se aislaron por primera vez en 1935 de la flora fecal de neonatos saludables. Solo hasta 1978 se estableció su asociación con la colitis
5 pseudomembranosa (PMC) inducida por antibióticos. Casi todos los antibióticos han sido asociados con la diarrea *C. difficile* y la colitis, incluyendo la vancomicina y el metronidazol (los cuales se usan para su tratamiento) y la quimioterapia del cáncer. La frecuencia de la asociación está relacionada con la frecuencia de uso, la vía de administración y el impacto del
10 antibiótico sobre la microflora del colon.

Síndrome del intestino irritable

El síndrome del intestino irritable (IBS) es un desorden crónico que interfiere con las funciones normales del intestino grueso (colon). Este se caracteriza por un grupo de síntomas - dolor por calambre abdominal, sangrado,
15 estreñimiento y diarrea.

El IBS causa mucha incomodidad y angustia, pero no perjudica permanentemente los intestinos y no conduce a sangrado intestinal o a cualquier enfermedad seria, tal como cáncer. Los signos y síntomas del IBS varían ampliamente de una persona a otra y a menudo ocurre con algunas
20 otras enfermedades.

Otros ingredientes activos

Se apreciará que el exopolisacárido de la presente invención se puede administrar profilácticamente o como método de tratamiento bien sea en sí mismo o con otros materiales pro-bióticos y/o prebióticos. En adición, se
5 pueden utilizar las bacterias como parte del régimen profiláctico o régimen de tratamiento usando otros materiales activos tales como aquellos utilizados para tratar la inflamación u otros desordenes, sobre todo aquellos del tracto gastrointestinal. Se pueden administrar tales combinaciones en una formulación única o como una formulación separada administrada al mismo
10 tiempo o en diferentes momentos y utilizando la misma o diferentes vías de administración.

Composiciones farmacéuticas

Una composición farmacéutica es una composición que comprende o consiste de una cantidad efectiva terapéuticamente de un agente activo
15 farmacéuticamente. Preferiblemente esta incluye un vehículo aceptable farmacéuticamente, diluyentes o excipientes (incluyendo combinaciones de éstos). Los vehículos o diluyentes aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en el arte farmacéutico, y se describen, por ejemplo en, Remington's Pharmaceutical Sciences. Para escoger el vehículo
20 farmacéutico, excipiente o diluyente se puede hacer teniendo en cuenta la vía

de administración y los estándares de la práctica farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender según o en adición a –el vehículo, excipiente o diluyente cualquier ligante(s) o lubricante(s), agente(s) de suspensión, agente(s) de recubrimiento, agente(s) de solubilización.

- 5 Ejemplos de vehículos aceptables farmacéuticamente incluyen, por ejemplo, agua, soluciones salinas, alcohol, silicona, ceras, jalea de petróleo, aceites vegetales, polietileno glicoles, propileno glicol, liposomas, azúcares, gelatina, lactosa, amilosa, estearato de magnesio, talco, surfactantes, ácido silícico, parafina viscosa, aceite perfume, esteres mono-glicéridos y di-glicéridos de
- 10 ácidos grasos, esteres de ácidos graso petroetal, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, y los similares.

En donde sea apropiado, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar por cualquiera o más de: inhalación, en forma de un supositorio o pesario, tópicamente en forma de una loción, solución, crema, ungüento o

15 polvos espolvoreables, parche para uso en la piel, oralmente en la forma de tabletas que contienen excipientes tales como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos ya sea solos o en una mezcla con excipientes, o en la forma de elixires, soluciones o suspensiones que contienen agentes saborizantes o colorantes, o se pueden inyectar parenteralmente, por ejemplo

20 intracavernosamente, intravenosamente, intramuscularmente o subcutáneamente. Para administración parenteral, las composiciones se

pueden utilizar mejor en forma de una solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo suficientes sales o monosacáridos para que la solución sea isotónica con la sangre. Para administración bucal o sub-lingual las composiciones se pueden administrar en la forma de tabletas
5 o pastillas que se pueden formular de la manera convencional.

Puede haber diferentes requerimientos de composiciones/formulaciones dependiendo de los diferentes sistemas de liberación. A manera de ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención se puede formular para ser liberada utilizando una mini-bomba o por una vía mucosa, por ejemplo,
10 como un rociador nasal o aerosol para inhalación, o solución que se puede ingerir, o parenteralmente en la cual la composición se formula de una forma inyectable, para liberar, por ejemplo, por una vía intra-venosa, intramuscular o subcutánea. Alternativamente, la formulación se puede diseñar para ser liberada por ambas vías

15 Otras características e implementaciones de la presente invención se describirán ahora a manera de ejemplos no limitantes y con referencia a las figuras acompañantes.

La Figura 1 muestra el esquema de purificación para el exo-polisacárido (PS1) desde el medio acondicionado producido por *Bifidobacterium* 35624
20 (NCIMB 41003).

La Figura 2 muestra la estructura del exopolisacárido (PS1) producido por *Bifidobacterium* 35624 (NCIMB 41003).

La Figura 3. Ilustra que el exopolisacárido (PS1) purificado a partir de *Bifidobacterium* 35624 [NCIMB 41003] muestra actividad inmunomoduladora
5 cuando se co-incuba in vitro con células mono-nucleares de sangre periférica humana.

La Figura 4 demuestra que el PS1 limita la liberación de la citoquina pro-inflamatoria en respuesta a la estimulación in vitro del receptor 4 similar al Tall (TLR-4).

10 La Figura 5 demuestra que el PS1 limita la liberación de la citoquina pro-inflamatoria en respuesta a la estimulación in vivo del receptor 4 similar al Tall (TLR-4).

La Figura 6 demuestra que el PS1 limita la liberación de la citoquina pro-inflamatoria en respuesta a la re-estimulación in vitro del receptor 4 similar al
15 Tall (TLR-4).

La cepa de *Bifidobacterium* 35624 (NCIMB 41003), cepa se describe en WO 00/42168, la cual se incorpora aquí en su totalidad por referencia. La cepa se depositó en el NCIMB en enero 13, 1999

Ejemplo1 Purificación y determinación de la estructura del exopolisacárido (PS1) del medio acondicionado producido por *Bifidobacterium* 35624

Purificación 100 ml de medio MRS estéril (CM359 MRS Broth, Oxoid Ltd., Basingstoke, HAMPSHIRE, England) suplementado con cisteína al 0.05% (peso/volumen) se colocaron en un erlenmeyer estéril de 250 mL, se inoculó con *Bifidobacterium* 35624. El medio inoculado se incubó en condiciones anaeróbicas (10-01PACK-Anaero, Mitsubishi Gas Chemical Company-America, New York, NY) a 37°C sin agitación, una muestra de medio MRS sin inóculo se uso como control del medio y se proceso idénticamente a la muestra inoculada mediante los procedimientos que señalan más adelante.

Después de 48 horas de crecimiento, el cultivo de *Bifidobacterium* 35624 alcanzó la fase estacionaria y mostró una OD a 600 nm de cerca de 3 (2-3-x 10⁹ unidades formadoras de colonia/ mL). Los cultivos se transfirieron a tubos de centrifuga de policarbonato y se centrifugaron a 40000Xg durante 30 minutos (rotor JA-20, centrifuga Beckman J2-21, Beckman Coluter, Inc., Fullerton, CA), produciendo un sobrenadante claro y un pellet de células apretado. El sobrenadante (medio acondicionado) se retiró cuidadosamente y se usó en la purificación del exopolisacárido (EPS). El pellet de células se desecho.

El esquema de purificación para el EPS del medio acondicionado producido por *Bifidobacterium* 35624 se muestra en la figura 1. A menos que se indique de otra manera, todas las etapas se llevaron a cabo sobre hielo o a 4°C. Se cargaron 80 mL de sobrenadante del cultivo en un dispositivo de ultrafiltración que tiene un peso molecular (MW) límite de 100000 Daltons (concentrador de 100 mL VC1042 Vivacell, Vivascience, Hannover, Germany). Las muestras se concentraron por centrifugación a 2000Xg en una centrifuga clínica. Después que el volumen llegó a cerca de 0.5 mL, el retenido (la fracción HiMW) se diafiltró una vez usando solución salina amortiguadora de fosfatos (PBS) y se concentró hasta cerca de 0.5 mL. EL retenido se transfirió a un tubo de centrifuga estándar de 15 mL. El equipo de ultrafiltración se enjuagó con 4 mL de PBS y las aguas de enjuague se reunieron con lo retenido antes para producir la fracción retenida HiMW.

A la fracción retenida HiMW se le adicionó una solución de ácido tricloroacético (TCA) 100 % para tener una concentración final de TCA 20% (v/v). Las muestras se incubaron durante dos horas sobre hielo y luego se centrifugaron a 8000Xg durante 20 minutos (rotor JA-20). El sobrenadante que contiene el EPS se transfirió a un tubo Corex de 30 mL. El pellet que contiene las proteínas se desechó. El sobrenadante que contiene el EPS se trató con 3 volúmenes de etanol al 95% enfriado con hielo y se incubó durante la noche a -20°C. Luego se centrifugaron los tubos a 8000Xg por 20 minutos (rotor JA-20). El sobrenadante se desecho. El pellet que contiene el

EPS se re-suspendió en 5 mL de PBS y luego se precipitó de nuevo con 3 volúmenes de etanol como se hizo anteriormente. El pellet se secó al aire, sobre hielo, durante 60 minutos y luego se re-suspendió en 9 mL de MgCl_2 10 mM, Tris-HCl 50 mM (pH 7.4).

- 5 Con el propósito de retirar los ácidos nucleicos, se adicionó deoxiribonucleasa I (LS006331, Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, NJ) y ribonucleasa A (R5250, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO) hasta concentraciones finales de 0.1 mg/mL y se incubó durante 2 horas a 37 °C. Las proteínas residuales se retiraron por adición de proteinasa
- 10 K (P2308 Sigma-Aldrich) hasta una concentración final de 0.02 mg/mL y luego se incubó la mezcla durante 2 horas a 37°C. La proteinasa K se inactivó por incubación durante 15 minutos a 70°C, seguido de la adición de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (P7626, Sigma-Aldrich) hasta una concentración final 0.2 mM durante 15 minutos a temperatura ambiente. El EPS purificado
- 15 se precipitó de la solución por adición de tres volúmenes de etanol, como se hizo anteriormente. El pellet se re-suspendió en 9 mL de una solución amortiguadora salina de fosfatos. La muestra re-suspendida se cargó en un tubo de diálisis SnakeSkin (68035, Pierce Biotechnology, Rockford, IL) que tiene un peso molecular límite de 3500 y luego se dializó contra 7 litros de
- 20 agua (2 cambios) durante 48 horas a 4°C.

Se retiró una pequeña alícuota de la muestra dializada para cuantificar el

polisacárido presente usando el método estándar fenol-ácido sulfúrico de Dubois et al. (Anal. Chem. 28, 350-356 (1956)). Una vez se determinó la concentración del EPS, se tomaron alícuotas apropiadas, se congelaron sobre hielo seco, y se liofilizaron a sequedad. El material liofilizado se
5 almacenó a -80°C.

Análisis NMR. Se llevaron a cabo análisis por resonancia magnética nuclear de protones (^1H -NMR) en un espectrómetro Varian Inova de 600 MHz (Varian Medical Systems, Palo Alto, CA). Las muestras liofilizadas se disolvieron en D_2O y después de permitir un intercambio extenso de deuterio, se obtuvo el
10 espectro a 25°C. Los desplazamientos químicos se referenciaron respecto de TSP interno. Se recogieron datos de espectroscopia de co-relación $^1\text{H}^1\text{H}$ (COSY, Espectroscopia de co-relación total (TOCSY), espectroscopia nuclear de efecto Overhauser (NOESY) y espectroscopia de co-relación cuántica única hetero-nuclear protón-carbono (HSQC) en modos de fase sensible
15 usando cuadratura States-Haberhorn-Rubin. Todas las secuencias de pulsos fueron suministradas por el distribuidor automático del espectrómetro y se usaron sin modificación. Se aplicó una potencia baja de pre-saturación a la señal residual HDO. Típicamente, los datos se recogieron con puntos de datos complejos 2048, 512 veces, y escaneos/incremento 16-32. El programa
20 de pulso TOCSY contenido en una secuencia mezclada de 60-ms MLV-17 y el tiempo de mezcla de NOESY fue 150 ms.

Análisis de carbohidratos. El análisis de la composición glicosílica se realizó mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) de derivados de per-O-trimetilsil(TMS) derivados de los monosacáridos metilglicósidos producidos a partir *Bifidobacterium 35624 EPS* purificado por metanolisis ácida (York et al., (1986); Merkle, R. K. y Poppe, I. 1994). Para el análisis de la unión glicosílica, la muestra de EPS se permetiló, depolimerizó, redujo y acetiló. Los acetatos alditol metilados parcialmente (PMAAs) resultantes se analizaron por GC-MS como se describió previamente (York et al, (1986); Merkle y Poppe (1994)).

10 **Determinación de la estructura del EPS.**

El EPS purificado se analizó usando ^1H -NMR. El espectro muestra que este material está compuesto exclusivamente carbohidratos; no hay indicación de ácidos nucleicos, proteínas, lípidos o pequeños contaminantes orgánicos. Se hicieron experimentos de NMR bi-dimensional (2D-NMR) conocidos en el arte y descritos anteriormente que establecieron que la mayoría de los carbohidratos presentes comprenden polisacáridos lineales que consisten de disacáridos repetidos. Combinando los datos de la composición y los análisis la estructura de éste polisacárido (llamado PS1) es [$-\beta(1,3)\text{-unido- D-N-acetil-galactosamina piranosil -}\beta(1,4)\text{-unido-D-glucosa pyranosyl-}]_n$, en donde n indica que esta unidad disacárida se repite n veces, dando un polisacárido que tiene un peso molecular mayor de 100000 Daltons. La estructura de PS1 se puede abreviar como $-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc -}\beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$ y se muestra en la Figura 2. Advierta que no se detecta PS1 en la

muestra de control del medio.

Ejemplo 2. El exopolisacárido(PS1) de *B. infantis* 35624 tiene actividad inmunomodulatoria cuando se co-incuba in vitro con células del sistema inmune humano.

- 5 Las fracciones de EPS se ensayaron usando el análisis de inducción con citoquinas (células mononucleares de sangre periférica) PBMC. En este análisis, las PBMCs se aislaron de la sangre por separación por gradiente de densidad y se incubaron durante 72 horas a 37°C (en presencia de penicilina y estreptomicina) con medio de control, o con incremento de las concentraciones PS1 purificado de *B.*
- 10 *infantis* 35624. Los sobrenadantes se analizaron para niveles de IL-1 β , 1L-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α e IFN- γ , utilizando Kits de descubrimiento de meso-escala (MSD) y se analizaron utilizando un lector de placas MSD.

La Figura 3 explica los resultados de este ensayo. PS1 estimuló la secreción de

15 todas las citoquinas probadas, cuando las PBMCs se estimularon con 1 – 5 μ g/ml de PS1. La actividad estimulante de la citoquina se redujo a niveles de segundo plano, para muchas citoquinas, cuando se utilizaron 10 μ g/ml de PS1.

Adicionalmente, para probar las PBMCs en reposo, se utilizó el lipopolisacárido

20 con ligando TLR-4 (LPS) para activar las PBMCs con o sin estimulación PS1. Debido a que en experimentos preliminares se observó que 5 μ g/ml de PS1 era

una dosis óptima, se utilizó esta dosis en ensayos posteriores. Estos resultados se explican en la Figura 4 como el valor promedio de citoquina para células estimuladas con LPS + PS1 menos el valor de citoquina para células estimuladas únicamente con LPS. Cuando se hizo co-incubación con PS1, el LPS estimuló a las PBMCs a secretar sustancialmente menos IL-6 y significativamente menos IL-8, TNF- α e IFN- γ .

Ejemplo 3 El exopolisacárido *-B. infantis* 35624 (PS1) tiene actividad anti inflamatoria cuando se inyecta en un modelo de sepsis para ratones.

10

El PS1 se inyectó i.p. en ratones saludables y estos ratones se observaron durante 24 horas. No se apreciaron signos obvios de tensión, lo cual sugiere que este polisacárido fue bien tolerado por los animales y el PS1 no indujo sepsis o una respuesta pro-inflamatoria. Después del período de observación de 24 horas, los animales se inyectaron i.p. con el lipopolisacárido (LPS) con el fin de inducir una respuesta similar a la sepsis. Dos horas más tarde, se seleccionaron todos los animales y se midió, in vitro, la secreción de citoquina de esplenocitos. Los esplenocitos aislados, provenientes de los ratones tratados con PS1 + LPS, liberaron significativamente menos TNF- α en comparación con ratones que recibieron sólo LPS (Figura 5). Adicionalmente, los esplenocitos provenientes de estos animales se volvieron a estimular con LPS, in vitro, y otra vez se observó una respuesta disminuida de citoquina pro-inflamatoria en esplenocitos provenientes de animales expuestos previamente al PS1 (Figura 6).

Estos datos reunidos demuestran que el EPS1, proveniente de la *Bifidobacterium infantis* 35624, tiene actividad inmunomodulatoria y protege contra respuestas inflamatorias mediadas por LPS o TLR-4.

5

Aunque el ensayo arriba mencionado describe el exopolisacárido (PSI) secretado, se visualiza que una forma no secretada del exopolisacárido, por ejemplo una célula asociada o membrana asociada / forma capsular o enlazada del exopolisacárido, se comportaría en una forma similar al EPS secretado. El ensayo descrito en este documento se diseñó para examinar el EPS secretado, pero será claro para una persona experta en el arte que una proporción del EPS secretado puede enlazarse con la célula (por ejemplo, célula asociada o capsular) durante la producción del EPS y previamente al transporte o liberación del EPS desde la célula.

15

La invención no se limita a las implementaciones descritas más arriba, las cuales se pueden variar en detalle.

Referencias

- Arai KI, et al., Annu Rev Biochem 59: 783-836, 1990
- Fuss et al., "Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis". Inflamm Bowel Dis. 2005 enero; 11(1): 74-5
- Henderson B., y Wilson M. En "Bacteria-Cytokine interactions in health and disease", Isolauri et al., Clin Exp Allergy 30: 1605-10, 2000
- Isolauri et al. Pediatr Res. 33:548-53, 1993
- Madsen et al., Gastroenterology 112:A1030, 1997
- 10 Majamaa et al., J Allergy Clin Immunol 99: 179-86, 1997
- Malin et al., Br J Rheumatol 35: 689-94, 1996
- McCarthy et al., Gut 53: 694-700, 2004
- Mazmanian et al., Cell 122: 107-118, 2005
- Merkle y Poppe Methods Enzymol. 230: 1-15, 1994
- 15 O'Mahony et al., Aliment Pharmacol Ther 15: 1219-25, 2001
- O'Mahony et al., Gastroenterology 128: 541-51, 2005
- Portland Press, 79-130, 1998
- Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. 1985 (Editor: A.R. Gennaro)
- 20 Salimen, Int J Food Microbiol 20: 93-106, 1998
- Sanderson et al., Gastroenterology 104: 622-39, 1993
- Whorwell et al., Am J Gastroenterol 101: 1581-90, 2006
- York et al., Methods Enzymol. 118: 3-40, 1986

REIVINDICACIONES

1. Un polisacárido aislado que comprende la estructura [$-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc} - \beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$
2. Un polisacárido aislado a partir de una cepa bacteriana que comprende la estructura [$-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc} - \beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$
3. Un polisacárido aislado a partir de una cepa de *Bifidobacterium* que comprende la estructura [$-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc} - \beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$
4. Un polisacárido aislado a partir de una cepa de *Bifidobacterium* que comprende la estructura [$-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc} - \beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$
5. Un polisacárido aislado a partir de una cepa de *Bifidobacterium* NCIMB 41003 que comprende la estructura [$-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc} - \beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$
6. Utilización de un polisacárido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de actividad inflamatoria indeseable.
7. Utilización de un polisacárido de acuerdo con cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de actividad inflamatoria gastrointestinal indeseable.

- 5 8. Utilización de acuerdo con la reivindicación 7 en donde la actividad inflamatoria gastrointestinal es la enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, síndrome de intestino irritable, pouchitis, colitis post-infecciosa, diarrea asociada a *Clostridium difficile*, diarrea asociada a Rotavirus o diarrea post-infecciosa.

10

9. Utilización de un polisacárido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de artritis reumatoidea.

15

10. Utilización de un polisacárido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de desórdenes autoinmunes.

20

11. Una composición farmacéutica que comprende un polisacárido de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5 y un vehículo farmacéutico aceptable.

12. Un producto alimenticio que comprende un polisacárido de acuerdo

con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

5 13. Un producto alimenticio como se reivindica en la reivindicación 12 en donde el producto alimenticio es uno o más seleccionados de un grupo que comprende: yogures, cereales, bebidas.

14. Un polisacárido aislado sustancialmente como se describe antes.

10 15. Utilización de un polisacárido aislado sustancialmente como se describe antes.

16. Una composición farmacéutica sustancialmente como se describe antes.

15 17. Un producto alimenticio sustancialmente como se describe antes.

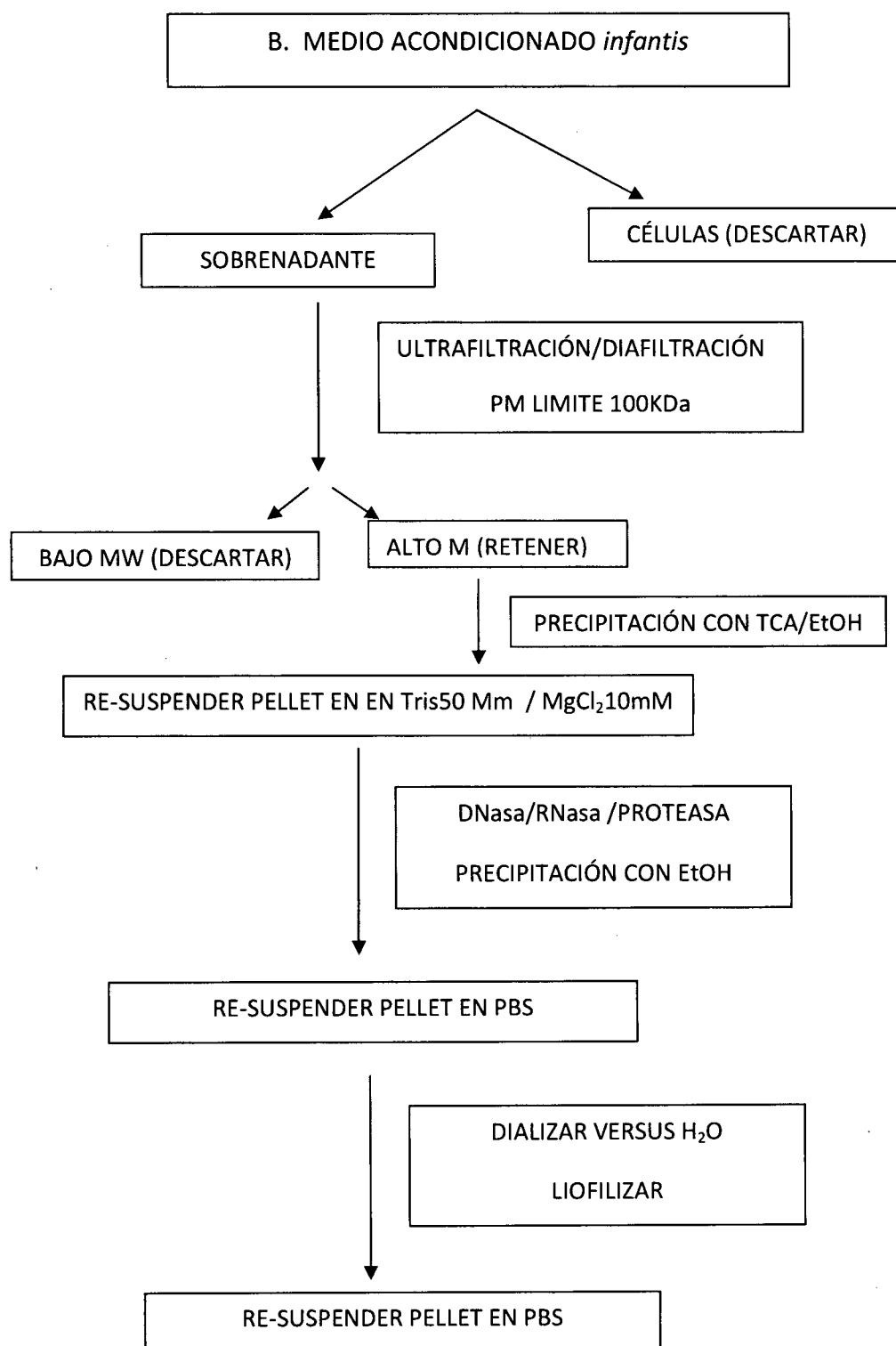


FIG 1

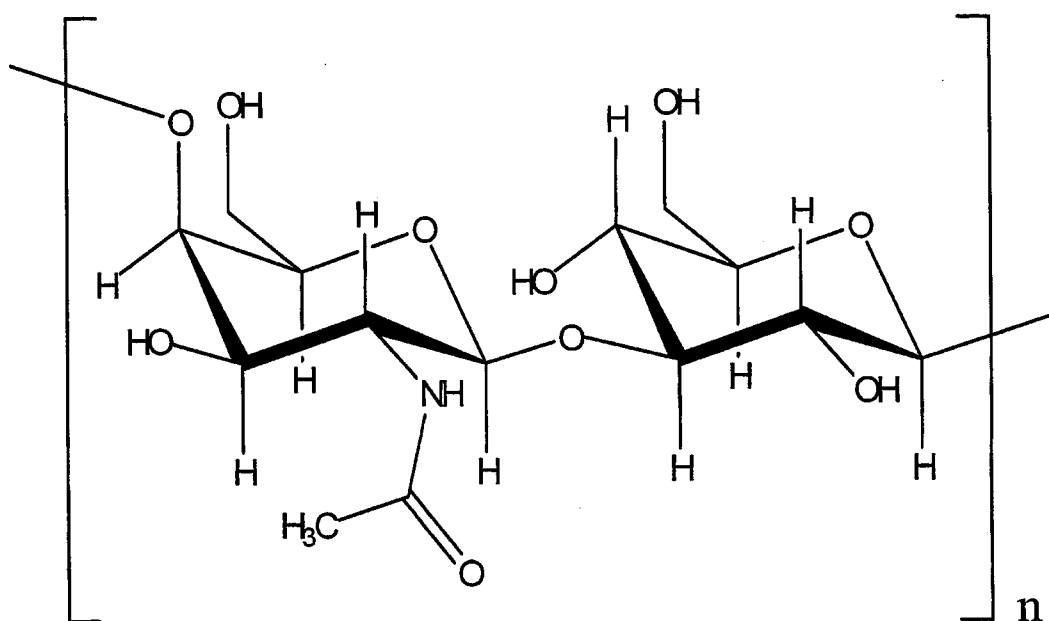
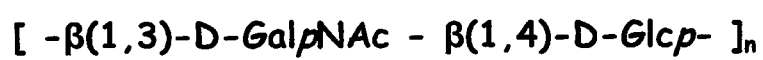


FIG 2

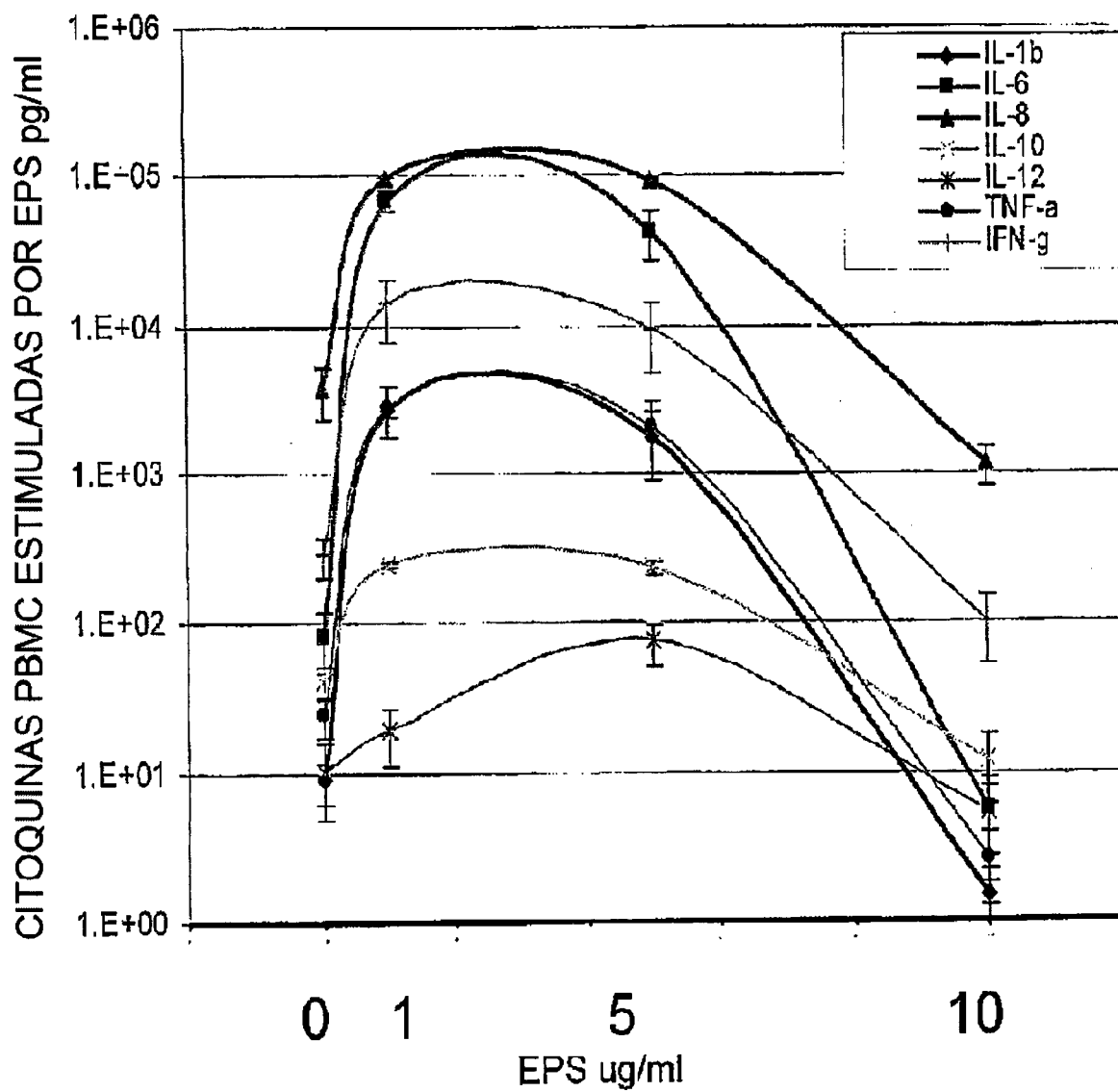
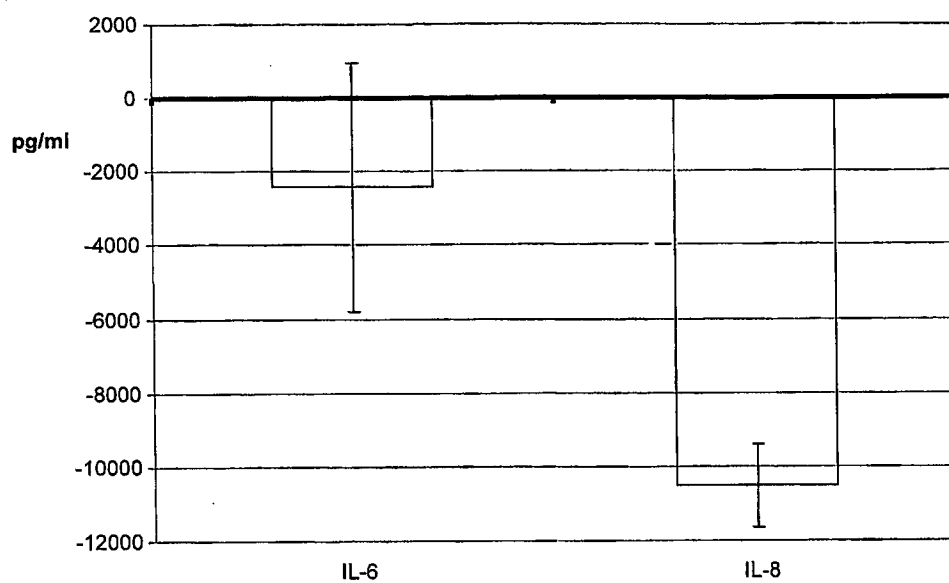


FIG 3

(a)



(b)

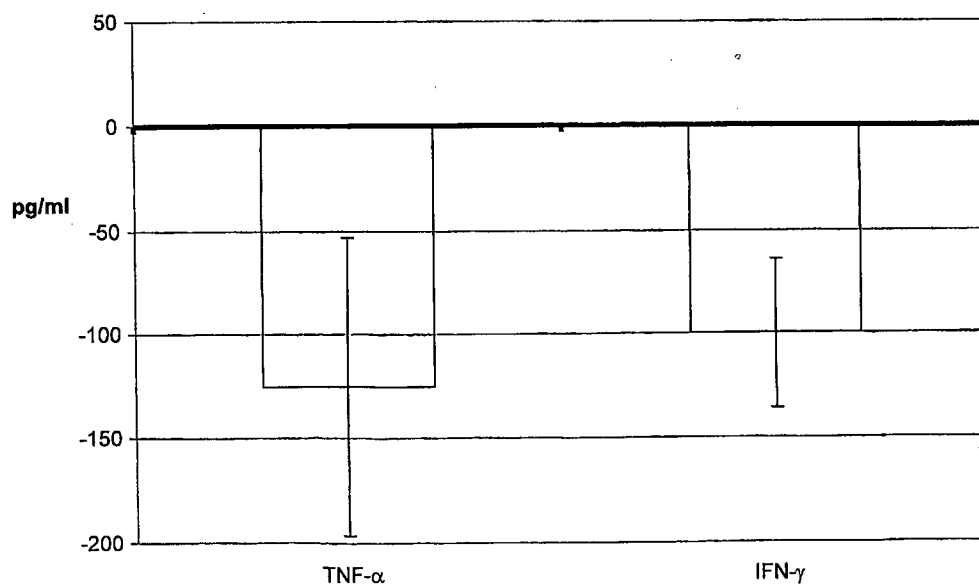


FIG 4

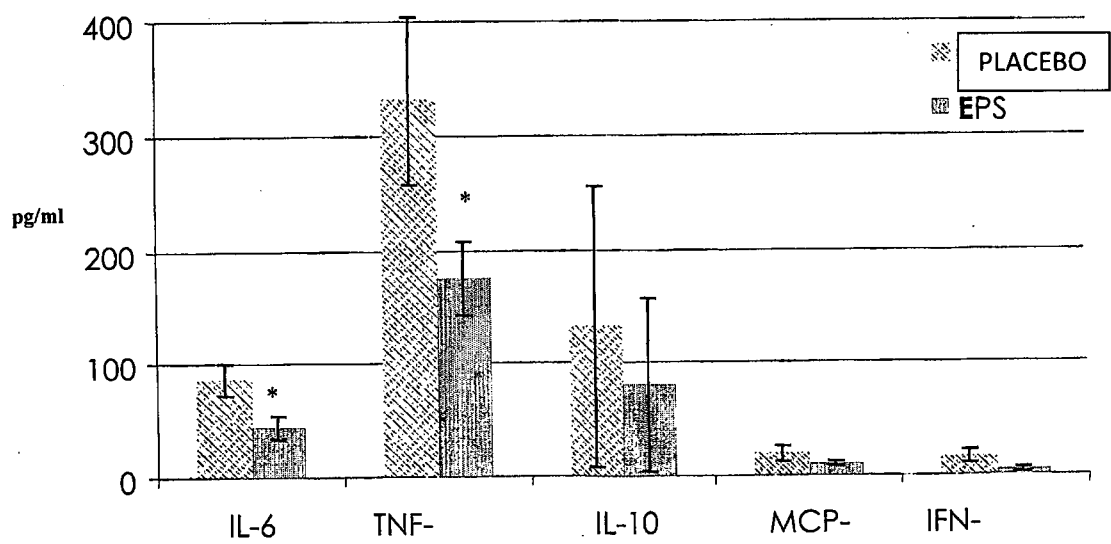
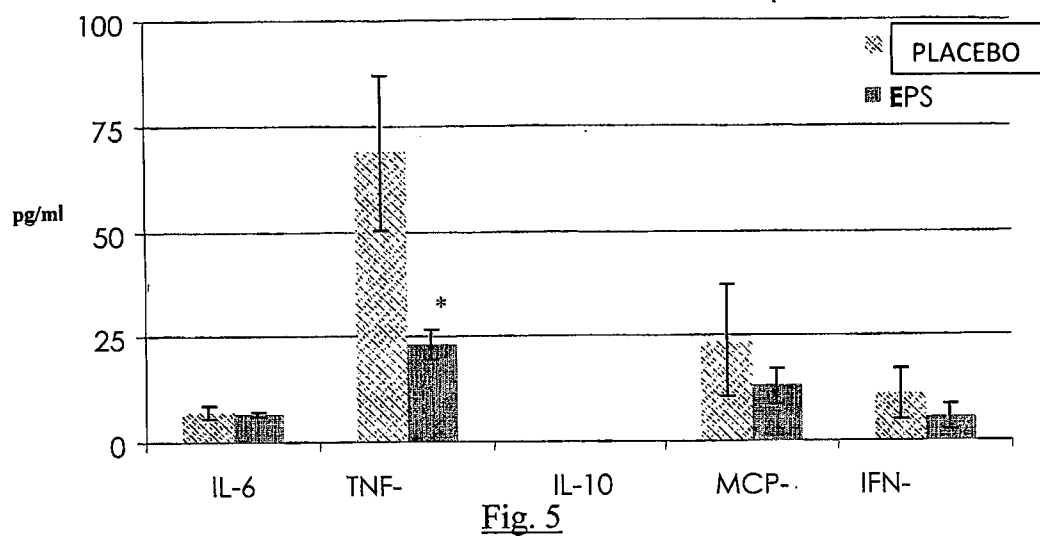


FIG. 6

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

RECORD COPY

For receiving Office use only

International Application No. **PCT/IE 2008 / 0 0 0 0 5 4**

International Filing Date **02 MAY 2008**

Name of receiving Office and PCT International Application No.

Applicant's or agent's file reference (if desired) (12 characters maximum) **ALIM34/C/WO**

Box No. I TITLE OF INVENTION

An Exopolysaccharide

Box No. II APPLICANT

☐ This person is also inventor

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Alimentary Health Limited
2800 Cork Airport Business Park
Kinsale Road
Cork
Ireland

Telephone No.

Facsimile No.

Applicant's registration No. with the Office

State (that is, country) of nationality:

IE

State (that is, country) of residence:

IE

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☒ all designated States except the United States of America

☐ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒ agent

☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

O'BRIEN, John A. WELDON, Michael J.
c/o John A. O'Brien & Associates
Third Floor,
Duncairn House
14 Carysfort Avenue,
Blackrock,
County Dublin, Ireland

Telephone No.

+ 353 1 2883877

Facsimile No.

+ 353 1 2883878

Agent's registration No. with the Office

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)*If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.*

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

The Proctor & Gamble Company
6090 Centre Hill Road
Cincinnati
Ohio 45224
USA

This person is:

- ☒ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
US

State *(that is, country)* of residence:
US

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

GRANT, Raymond Alan
5733 Reswin Drive
Fairfield
Ohio 45014
USA

This person is:

- ☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
US

State *(that is, country)* of residence:
US

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

O'MAHONY, Liam
5 The Lagen
Riversdale
Rathcormac
County Cork, Ireland

This person is:

- ☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
IE

State *(that is, country)* of residence:
IE

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

SHEIL, Barbara
11 Fernwood
Doughcloyne
Wilton
County Cork, Ireland

This person is:

- ☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:
IE

State *(that is, country)* of residence:
IE

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Box No. V DESIGNATIONS

The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for both regional and national patents.

However:

- ☐ DE Germany is not designated for any kind of national protection
- ☐ JP Japan is not designated for any kind of national protection
- ☐ KR Republic of Korea is not designated for any kind of national protection
- ☐ RU Russian Federation is not designated for any kind of national protection

(The check-boxes above may only be used to exclude (irrevocably) the designations concerned if, at the time of filing or subsequently under Rule 26bis.1, the international application contains in Box No. VI a priority claim to an earlier national application filed in the particular State concerned, in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of this earlier national application.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country or Member of WTO	regional application: regional Office	international application: receiving Office
item (1) May 4, 2007	60/924,242	US		
item (2)				
item (3)				

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Transmit certified copy: the receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office) identified above as:

- ☐ all items ☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ other, see Supplemental Box

Restore the right of priority: the receiving Office is requested to restore the right of priority for the earlier application(s) identified above or in the Supplemental Box as item(s) _____. (See also the Notes to Box No. VI; further information must be provided to support a request to restore the right of priority.)

Incorporation by reference: where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) (if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA / EP

Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):

Date (day/month/year) Number Country (or regional Office)

Box No. VIII DECLARATIONS

The following declarations are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) (mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration):

		Number of declarations
☐ Box No. VIII (i)	Declaration as to the identity of the inventor	:
☐ Box No. VIII (ii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	:
☐ Box No. VIII (iii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	:
☐ Box No. VIII (iv)	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	:
☐ Box No. VIII (v)	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	:

10/06/08

11:55

RECU 10/06/2008 14:03 00223388995
PATENTS OFFICE → 90041223388995

PT4

NO.500 002

Sheet No. ...4...

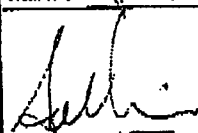
PCT/IE 2008 / 0 0 0 0 5 4

Box No. IX CHECK LIST: LANGUAGE OF FILING

This international application contains:		This international application is accompanied by the following item(s) (mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item):		Number of items
(a) on paper, the following number of sheets:		1. ☒ fee calculation sheet		1
request (including declaration and supplemental sheets)	4	2. ☐ original separate power of attorney		
description (excluding sequence listing and/or tables related thereto)	17	3. ☐ original general power of attorney		
claims	2	4. ☒ copy of general power of attorney; reference number, if any:		3
abstract	1	5. ☐ statement explaining lack of signature		
drawings	5	6. ☒ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):		1
Sub-total number of sheets	29	7. ☐ translation of international application into (language):		
sequence listing		8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material		
tables related thereto		9. ☐ sequence listing in electronic form (indicate type and number of carriers)		
(for both, actual number of sheets if filed on paper, whether or not also filed in electronic form; see (c) below)		(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application):		
Total number of sheets	29	(ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter		
(b) ☐ only in electronic form (Section 801(a)(i))		(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column		
(i) ☐ sequence listing		10. ☐ tables in electronic form related to sequence listing (indicate type and number of carriers)		
(ii) ☐ tables related thereto		(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-quater) only (and not as part of the international application)		
(c) ☐ also in electronic form (Section 801(a)(ii))		(ii) ☐ (only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-quater)		
(i) ☐ sequence listing		(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column		
(ii) ☐ tables related thereto		11. ☐ other (specify):		
Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which are contained the		Figure of the drawings which should accompany the abstract: 2		
☐ sequence listing:		Language of filing of the international application: English		
☐ tables related thereto:				
(additional copies to be indicated under items 9(ii) and/or 10(ii), in right column)				

Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).



John O'Brien

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:	02 MAY 2008	2. Drawings: ☒ received: ☐ not received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA / EP	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 November 2008 (13.11.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/135959 A1

(51) International Patent Classification:

C08B 37/00 (2006.01) *C12P 19/04* (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)

(74) Agents: O'BRIEN, John, A. et al.; John A. O'Brien & Associates, Third Floor, Duncairn House, 14 Carysfort Avenue, Blackrock, County Dublin (IE).

(21) International Application Number:

PCT/IE2008/000054

(22) International Filing Date: 2 May 2008 (02.05.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/924,242 4 May 2007 (04.05.2007) US

(71) Applicants (for all designated States except US): **ALIMENTARY HEALTH LIMITED** [IE/IE]; 2800 Cork Airport Business Park, Kinsale Road, Cork (IE). **THE PROCTOR & GAMBLE COMPANY** [US/US]; 6090 Centre Hill Road, Cincinnati, OH 45224 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **GRANT, Raymond, Alan** [US/US]; 5733 Reswin Drive, Fairfield, OH 45014 (US). **O'MAHONY, Liam** [IE/IE]; 5 The Lagan, Riversdale, Rathcormac, County Cork (IE). **SHEIL, Barbara** [IE/IE]; 11 fernwood, Doughcloyne, Wilton, County Cork (IE).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

(54) Title: AN EXOPOLYSACCHARIDE

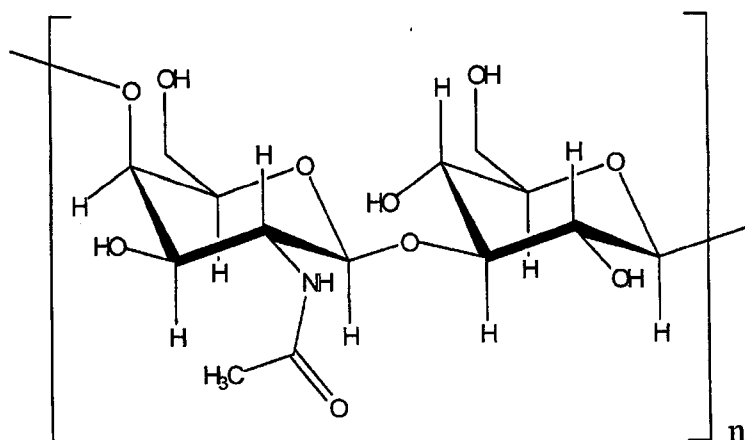


Fig. 2

(57) Abstract: An isolated polysaccharide has the structure $[-\beta(1,3)\text{-D-GalpNAc} - \beta(1,4)\text{-D-Glcp-}]_n$. The polysaccharide may be from a Bifidobacterium strain NCIMB41003. The polysaccharide exhibits immunomodulatory activity.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IE2008/000054

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C08B37/00 C12P19/04 A61K31/715

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C08B C12P A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00/42168 A (IRELAND TRADING AS BIORESEARCH [IE]; NAT UNIVERSITY OF IRELAND CORK [I]) 20 July 2000 (2000-07-20) claims 1-53	1-17
A	FR 2 652 590 A (OM LAB SA [CH]) 5 April 1991 (1991-04-05) claims 1-13	1-17
A	EP 0 201 332 A (MORINAGA MILK INDUSTRY CO LTD [JP]) 12 November 1986 (1986-11-12) claims 1-11	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 July 2008

Date of mailing of the international search report

16/07/2008

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Gerber, Myriam

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IE2008/000054

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0042168	A	20-07-2000	AT 367820 T	15-08-2007
			AT 326525 T	15-06-2006
			AT 326012 T	15-06-2006
			AU 3071500 A	01-08-2000
			AU 779405 B2	20-01-2005
			AU 3071600 A	01-08-2000
			AU 3071700 A	01-08-2000
			BR 0007481 A	09-04-2002
			BR 0007550 A	30-10-2001
			CA 2359334 A1	20-07-2000
			CA 2360243 A1	20-07-2000
			CN 1338940 A	06-03-2002
			CN 1342196 A	27-03-2002
			DE 60028003 T2	12-04-2007
			DE 60035670 T2	30-04-2008
			DK 1143985 T3	19-11-2007
			DK 1141235 T3	18-09-2006
			EP 1143985 A2	17-10-2001
			EP 1141235 A2	10-10-2001
			EP 1145001 A2	17-10-2001
			ES 2290008 T3	16-02-2008
			ES 2265331 T3	16-02-2007
			ID 30449 A	06-12-2001
			ID 29150 A	02-08-2001
			WO 0041707 A2	20-07-2000
			WO 0042429 A2	20-07-2000
			JP 2004502633 T	29-01-2004
			JP 2002534113 T	15-10-2002
			MX PA01007144 A	24-04-2002
			MX PA01007152 A	02-04-2003
			NO 20013429 A	27-08-2001
			NO 20013467 A	14-09-2001
			NZ 529353 A	24-06-2005
			NZ 530273 A	29-04-2005
			PT 1141235 T	31-10-2006
			RU 2308483 C2	20-10-2007
			RU 2279282 C2	10-07-2006
			TR 200102058 T2	21-12-2001
			TR 200102059 T2	21-02-2002
			US 2002006432 A1	17-01-2002
FR 2652590	A	05-04-1991	AR 242263 A1	31-03-1993
			AU 644604 B2	16-12-1993
			AU 6263190 A	11-04-1991
			BE 1004569 A3	15-12-1992
			BG 60275 B2	31-03-1994
			BR 9004147 A	03-09-1991
			CA 2025155 A1	30-03-1991
			CH 679677 A5	31-03-1992
			CZ 9004665 A3	12-03-1997
			DD 295764 A5	14-11-1991
			DE 4028018 A1	11-04-1991
			DK 191290 A	30-03-1991
			EG 19285 A	30-10-1994
			ES 2025972 A6	01-04-1992
			FI 95483 B	31-10-1995
			GB 2244998 A	18-12-1991
			GR 90100706 A	20-01-1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International application No
PCT/IE2008/000054

Patent document/ cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2652590	A		HU 61333 A2	28-12-1992
			IT 1243709 B	21-06-1994
			JP 3170503 A	24-07-1991
			LU 87809 A1	18-02-1991
			MA 21945 A1	01-04-1991
			NL 9001998 A	16-04-1991
			NO 904041 A	02-04-1991
			NZ 235338 A	25-09-1991
			PL 286821 A1	04-11-1991
			PT 95346 A	22-05-1991
			SE 9002557 A	01-03-1991
			RU 2023445 C1	30-11-1994
			RU 2025127 C1	30-12-1994
			TR 25353 A	01-03-1993
			US 5114848 A	19-05-1992
			ZA 9006492 A	29-05-1991
EP 0201332	A	12-11-1986	CA 1270764 A1	26-06-1990
			DE 3686596 D1	08-10-1992
			DE 3686596 T2	18-02-1993
			JP 1472401 C	27-12-1988
			JP 61257930 A	15-11-1986
			JP 63020807 B	30-04-1988
			US 4797389 A	10-01-1989

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA BAJO EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización de Propiedad
Intellectual Mundial
Oficina Internacional

(43) Fecha de Publicación Internacional
13 Noviembre 2008 (13.11.2008)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2008/135959 A1

(51) Clasificación de la Patente Internacional:
C08B 37/00 (2006.01) C12P 19/04 (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)

(74) Agentes: O'BRIEN, John, A. et al.; John A.
O'Brien & Associates, Third Floor, Duncairn
House, 14 Carysfort Avenue, Blackrock,
County Dublin (IE).

(21) Número de solicitud internacional: PCT/IE2008/000054

(22) Fecha de radicación internacional:
2 Mayo 2008 (02.05.2008)

(25) Idioma de radicación: Inglés

(26) Idioma de publicación: Inglés

(30) Fecha prioritaria:
60/924,242 4 Mayo 2007 (04.05.2007) US

(71) Solicitantes (para todos los Estados designados excepto US): ALIMENTARY
HEALTH LIMITED [IE/IE]; 2800 Cork Airport Business Park, Kinsale Road,
Cork (IE). THE PROCTOR & GAMBLE COMPANY [US/US]; 6090 Centre Hill
Road, Cincinnati, OH 45224 (US).

(72) Inventores; y

(75) Inventores / solicitantes (para US solamente): GRANT, Raymond, Alan
[US/US]; 5733 Reswin Drive, Fairfield, OH 45014 (US). O'MAHONY, Liam
[IE/IE]; 5 The Lagan, Riversdale, Rathcormac, County Cork (IE). SHEIL,
Barbara [IE/IE]; 11fernwood, Doughcloyne, Wilton, County Cork (IE).

(81) Estados designados (a menos que se
indique de otra manera, para cada clase de
protección nacional disponible): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR,
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA,
NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO,
RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV,
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se
indique de otra manera, para cada clase de
protección regional disponible): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), Eurasia (AM, AZ, BY, KG,
KZ, MD, RU, TJ, TM), Europa (AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

— Con el Informe de Búsqueda Internacional

(54): Título: UN EXOPOLISACÁRIDO

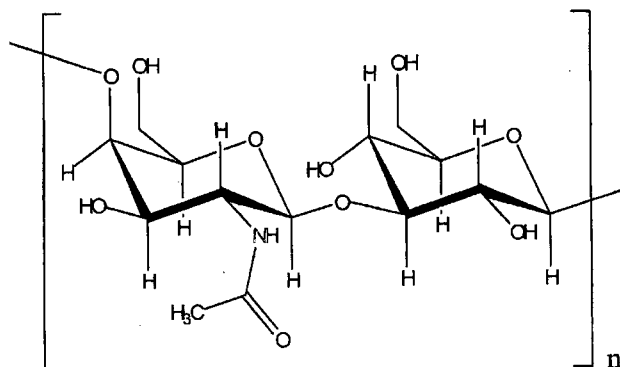


Fig. 2

(57) Resumen: Un polisacárido aislado tiene la estructura $[-\beta(1, 3)\text{-DGalpNAc} - \beta(1, 4)\text{-DGlcp-}]_n$. El polisacárido puede provenir de una cepa de Bifidobacterium NCIMB41003. El polisacárido presenta actividad inmunomoduladora.

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional No.
PCT/IE2008/000054

A. CLASIFICACION DE LA MATERIA OBJETO		
INV. C08B37/00 C12P19/04 A61K31/715		
De acuerdo con la clasificación internacional de patentes (IPC) o ambas la clasificación nacional y IPC		
B. CAMPOS BUSCADOS		
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguida de símbolos de clasificación)		
C08B C12P A61K		
Otra documentación buscada además de la documentación mínima a la extensión que tales documentos están incluidos en los campos buscados		
Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, términos de búsqueda usados)		
ÉPO-Internal, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN RELEVANTES		
Categoría *	Cita del documento, con indicación, donde sea apropiado, de los pasajes relevantes	Relevante para la reivindicación No.
A	W0 00/42168 A (IRELAND TRADING AS BIORESEARCH [IE]; NAT UNIVERSITY OF IRELAND CORK [I]) 20 Julio 2000 (2000-07-20) Reivindicaciones 1-53	1-17
A	FR 2 652 590 A (OM LAB SA [CH]) 5 Abril 1991 (1991-04-05) Reivindicaciones 1-13	1-17
A	EP 0 201 332 A (MORINAGA MILK INDUSTRY CO LTD [JP]) 12 Noviembre 1986 (1986-11-12) Reivindicaciones 1-11	1-17

☐ Documentos adicionales están listados en la continuación del recuadro C. ☒ Ver anexo de familia de patentes	
* Categorías especiales de los documentos citados: "A" Documentos que definen el estado general del arte que no se considere que sean de relevancia particular. "E" Ultimo documento pero publicado en o después de la fecha de radicación internacional. "L" Documento que puede causar dudas sobre la(s) reivindicación(es) o el que se cita para establecer la fecha de publicación de otra cita u otra razón especial (como se especifica). "O" Documentos que se refieren a una divulgación oral, uso, exhibición u otros medios. "P" Documento publicado antes de la fecha de radicación internacional pero mas tarde de la fecha de prioridad reivindicada. "T" Ultimo documento publicado después de la fecha de radicación internacional o de la fecha prioritaria y que no este en conflicto con la solicitud pero se cita para entender el principio o teoría que subraya la invención "X" Documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse novedosa o no puede ser considerada que involucre un nivel inventivo cuando el documento se toma solo "Y" Documento de relevancia particular; la invención reivindicada no se puede considerar que involucre un nivel inventivo cuando el documento esté combinado con uno o más de otros documentos, tal combinación es obvia para una persona versada en el arte. "&" Miembro de documento de la misma familia de patentes	
Fecha al completar realmente la búsqueda internacional 8 Julio 2008	Fecha del correo del informe internacional de búsqueda 16/07/2008
Nombre y Dirección de Correo de la ISA Oficina Europea de Patentes – P.B.5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31- 70) 340-2040 Tx: 31 651 epo nl, Fax :(+ 31- 70) 340-3016	Oficial autorizado Gerber, Myriam

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Información sobre los miembros de la familia de patentes

Solicitud internacional No.

PCT/IE2008/000054

Información sobre los miembros de la familia de patentes				
Documento patente citado en el informe de búsqueda		Fecha de Publicación	Miembro(s) de la Familia de patentes	Fecha de Publicación
WO 0042168	A	20-07-2000	AT 367820 T	15-08-2007
			AT 326525 T	15-06-2006
			AT 326012 T	15-06-2006
			AU 3071500 A	01-08-2000
			AU 779405 B2	20-01-2005
			AU 3071600 A	01-08-2000
			AU 3071700 A	01-08-2000
			BR 0007481 A	09-04-2002
			BR 0007550 A	30-10-2001
			CA 2359334 A1	20-07-2000
			CA 2360243 A1	20-07-2000
			CN 1338940 A	06-03-2002
			CN 1342196 A	27-03-2002
			DE 60028003 T2	12-04-2007
			DE 60035670 T2	30-04-2008
			DK 1143985 T3	19-11-2007
			DK 1141235 T3	18-09-2006
			EP 1143985 A2	17-10-2001
			EP 1141235 A2	10-10-2001
			EP 1145001 A2	17-10-2001
			ES 2290008 T3	16-02-2008
			ES 2265331 T3	16-02-2007
			ID 30449 A	06-12-2001
			ID 29150 A	02-08-2001
			WO 0041707 A2	20-07-2002
			WO 0042429 A2	20-07-2000
			JP 2004502633 T	29-01-2004
			JP 2002534113 T	15-10-2002
			MX PA01007144 A	24-04-2002
			MX PA01007152 A	02-04-2003
			NO 20013429 A	27-08-2001
			NO 20013467 A	14-09-2001
			NZ 529353 A	24-06-2005
			NZ 530273 A	29-04-2005
			PT 1141235 T	31-10-2006
			RU 2308483 C2	20-10-2007
			RU 2279282 C2	10-07-2006
			TR 200102058 T2	21-12-2001
			TR 200102059 T2	21-02-2002
			US 2002006432 A1	17-01-2002

FR 2652590	A	05-04-1991	AR 242263 A1	31-03-1993
			AU 644604 B2	16-12-1993
			AU 6263190 A	11-04-1991
			BE 1004569 A3	15-12-1992
			BG 60275 B2	31-03-1994
			BR 9004147 A	03-09-1991
			CA 2025155 A1	30-03-1991
			CH 679677 A5	31-03-1992
			CZ 9004665 A3	12-03-1997
			DD 295764 A5	14-11-1991
			DE 4028018 A1	11-04-1991
			DK 191290 A	30-03-1991
			EG 19285 A	30-10-1994
			ES 2025972 A6	01-04-1992
			FI 95483 B	31-10-1995
			GB 2244998 A	18-12-1991
			GR 90100706 A	20-01-1992
			HU 61333 A2	28-12-1992
			IT 1243709 B	21-06-1994
			JP 3170503 A	24-07-1991
			LU 87809 A1	18-02-1991
			MA 21945 A1	01-04-1991
			NL 9001998 A	16-04-1991
			NO 904041 A	02-04-1991
			NZ 235338 A	25-09-1991
			PL 286821 A1	04-11-1991
			PT 95346 A	22-05-1991
			SE 9002557 A	01-03-1991
			RU 2023445 C1	30-11-1994
			RU 2025127 C1	30-12-1994
			TR 25353 A	01-03-1993
			US 5114848 A	19-05-1992
			ZA 9006492 A	29-05-1991

Solicitud internacional No.
PCT/IE2008/000054

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Información sobre los miembros de la familia de patentes

Información sobre los miembros de la familia de patentes					
Documento patente citado en el informe de búsqueda		Fecha de Publicación	Miembro(s) de la Familia de patentes		Fecha de Publicación
EP 0201332	A	12-11-1986	CA	1270764 A1	26-06-1990
			DE	3686596 D1	08-10-1992
			DE	3686596 T2	18-02-1993
			JP	1472401 C	27-12-1988
			JP	61257930 A	15-11-1986
			JP	63020807 B	30-04-1988
			US	4797389 A	10-01-1989

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

O'BRIEN, John, A.
John A. O'Brien & Associates
Third Floor, Duncairn House
14 Carysfort Avenue
Blackrock, County Dublin
IRLANDE

Date of mailing (day/month/year) 12 June 2008 (12.06.2008)	
Applicant's or agent's file reference ALIM34/C/WO	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/IE2008/000054	International filing date (day/month/year) 02 May 2008 (02.05.2008)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 04 May 2007 (04.05.2007)
Applicant ALIMENTARY HEALTH LIMITED et al	

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable)* The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable)* An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
04 May 2007 (04.05.2007)	60/924,242	US	16 May 2008 (16.05.2008)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Athina Nickitas-Etienne

e-mail PT04.PCT@WIPO.INT
Telephone No. +41 22 338 74 04

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Form PCT/IB/304 (October 2005)

1/DOQSZHL10

58

**BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE**

National Food Biotechnology Centre,
University College Cork,
Cork,
Ireland.

INTERNATIONAL FORM

VIABILITY STATEMENT
Issued pursuant to Rule 10.2 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified on the following page

**NAME AND ADDRESS OF THE PARTY
TO WHOM THE VIABILITY STATEMENT
IS ISSUED**

I. DEPOSITOR	II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM
Name: AS ABOVE	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: NCIMB 41003
Address:	Date of the deposit or of the transfer ¹ : 13 January 1999
III. VIABILITY STATEMENT	
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 13 January 1999. ² On that date, the said microorganism was:	
³ ☒ viable ³ ☐ no longer viable	

- ¹ Indicate the date of the original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).
- ² In the cases referred to in Rule 10.2(a)(ii) and (iii), refer to the most recent viability test.
- ³ Mark with a cross the applicable box.

IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED⁴

V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY

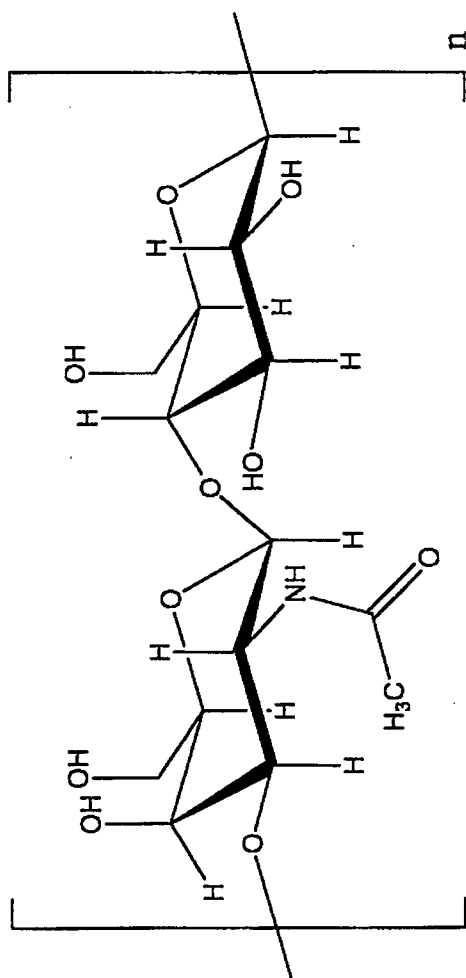
Name: NCIMB Ltd.

Address: 23 St Macha Drive,
Aberdeen
A24 3RY
Scotland

Signature(s) of person(s) having the power
to represent the International Depositary
Authority or of authorised official(s)

Ronald S. Pina
Date: 15 January 1999

⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.





REQUISITOS MÍNIMOS PARA ADMISIÓN A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION

[X]

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]
- ◆ Descripción de la invención [X]
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes [X]
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X]

COMPLETA [X]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fech

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-126669-00000-0000
Fecha: 2009-11-09 14:40:23 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 62

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5,7y10'
Conmutador: 3 82 0840
Fax: 3505220
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá D.C. - Colombia