



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-160567- -00000-0000

Fecha: 2011-11-23 15:40:07  
Tra. 2 PATENTES  
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Eve: 1 REGDEPOSITO  
Folios: 46

# Industria y Comercio

## SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

### PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE N° \_\_\_\_\_

54. TÍTULO MEDIO DE CULTIVO INDEFINIDO FUNCIONAL CON  
INDUCTOR NATURAL DE BIOCOMPUESTOS.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL \_\_\_\_\_

71. SOLICITANTE UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

DOMICILIO Medellín, Antioquia, Colombia

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. \_\_\_\_\_



No. 11-160567- -00000-0000

Fecha: 2011-11-23 15:40:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 46

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE**

1

**SOLICITUD DE:**



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad

2

**SOLICITANTE  
(71)**

\* \*

Nombre: **UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA**

Dirección: Calle 67 No. 53-108 Medellín,  
Antioquia, Colombia

Nacionalidad o Domicilio: Medellín, Antioquia,  
Colombia

Lugar de Constitución:

Teléfono :

Fax:

E-mail:

**IDENTIFICACIÓN**

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_

3

**REPRESENTANTE  
O APODERADO**

Nombre: **DILIA MARÍA RODRÍGUEZ  
D'ALEMAN**

Dirección: Cra. 11 No. 86-53 piso 6

Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

**IDENTIFICACIÓN**

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual \_\_\_\_\_

Número 41.654.882 T.P. 20824  
CSJ

4

**INVENTORES (ES)  
(72)**

Nombre: **VER HOJA ANEXA**

Dirección:

Nacionalidad o Domicilio:

5 Título (54)

**MEDIO DE CULTIVO INDEFINIDO FUNCIONAL CON INDUCTOR  
NATURAL DE BIOCOMPUESTOS.**

6 Clasificación Internacional (51) \_\_\_\_\_

7 **Prioridad**

SI ☐

NO ☒

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

8 Para publicar a partir de la fecha de la presente solicitud a los:

6 meses ☐

12 meses ☐

18 meses ☒

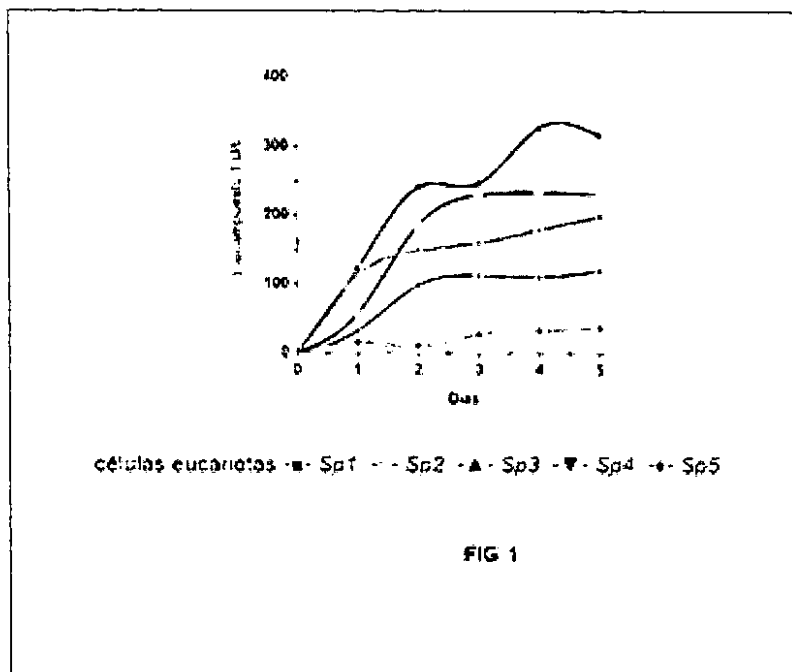
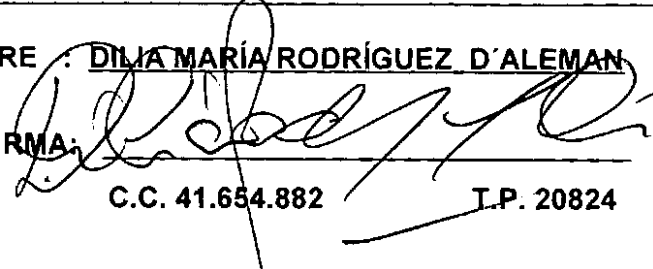
otros ☐

Cual \_\_\_\_\_

9 Comprobante de pago No. 11-105060 // 11-109602 // 11-81168 Fecha 26/10/2011 // 09/11/2011

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación
- ☐ Comprobante de pago por la reivindicación de prioridad
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Certificado de la fecha de presentación de la solicitud prioridad expedida por la autoridad correspondiente y una copia certificada de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Resumen
- ☐ Descripción de la invención.
- ☐ Una o más reivindicaciones
- ☐ Dibujos y/o planos necesarios
- ☐ De ser el caso, copia del 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.

## 11 FIGURA CARACTERÍSTICA

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMANFIRMA: 

C.C. 41.654.882

T.P. 20824

As. P-3140

**ANEXO**

**INVENTORES**

- 1.) **MEJÍA, GALLÓN, Amanda, Inés**  
(Calle 67 # 53-108, Medellin, Colombia);
- 2.) **ARBOLEDA, ECHAVARRÍA, Carolina**  
(Calle 67 # 53-108, Medellin, Colombia).

000002

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
-/-



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 105060

Bogotá D.C., Octubre 26 de 2011 - 16:37:02

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR PAGO       |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 427159961 | 26/10/2011 | 51.250.000.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. | RENTISTICO                                          | CONCEPTO                           | Vr. UNIDITARIO | Vr. CONCEPTO |
|-------|-----------------------------------------------------|------------------------------------|----------------|--------------|
| 1     | 50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL | 99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS | 500.000.00     | 500.000.00   |
|       |                                                     |                                    |                | \$500.000.00 |

SON: \*\*QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*\*

Responsable: \_\_\_\_\_

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-160567- -00000-0000

Fecha: 2011-11-23 15:40:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 46

000003

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: [www.sic.gov.co](http://www.sic.gov.co) e-mail: [info@sic.gov.co](mailto:info@sic.gov.co) Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Octubre 26 de 2011 - 16:37:16

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 109602

Bogotá D.C., Noviembre 09 de 2011 - 16:56:02

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

\*\*\* Soporte del Pago \*\*\*

| TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 325089214 | 09/11/2011 | 59.855.000.00 |

\*\*\* Conceptos Pagados \*\*\*

| CANT. | RENTISTICO                                          | CONCEPTO                           | Vr.UNDITARIO | Vr.CONCEPTO  |
|-------|-----------------------------------------------------|------------------------------------|--------------|--------------|
| 1     | 50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL | 99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS | 135.000.00   | 135.000.00   |
|       |                                                     |                                    |              | \$135.000.00 |
| ===== |                                                     |                                    |              |              |

SON: \*\*CIENTO TREINTA Y CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*

Responsable: \_\_\_\_\_

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-160567- -00000-0000

Fecha: 2011-11-23 15:40:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR  
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 46

000004

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: [www.sic.gov.co](http://www.sic.gov.co) e-mai: [info@sic.gov.co](mailto:info@sic.gov.co) Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Noviembre 9 de 2011 - 16:56:19

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
NIT : 800.176.089-2  
- / -

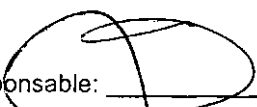
|                                                                                                                                      |                       |                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------|
| <br><b>Industria y Comercio</b><br>SUPERINTENDENCIA | <b>RECIBO DE CAJA</b> | <b>No. 11 - 0081168</b>                   |
|                                                                                                                                      |                       | Bogotá D.C., Agosto 22 de 2011 - 16:50:40 |

RECIBIDO DE : CLARKE MODET NI 830.008.643

|                          |                 |           |           |            |               |
|--------------------------|-----------------|-----------|-----------|------------|---------------|
| *** Soporte del Pago *** |                 |           |           |            |               |
| TIPO PAGO                | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO  | FECHA PAGO | VR. PAGO      |
| CONSIGNACION             | BANCO DE BOGOTA | 062754387 | 411691980 | 22/08/2011 | 46.035.000.00 |

|                                    |                                                         |               |              |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------|--------------|
| *** Conceptos Pagados ***          |                                                         |               |              |
| CANT. RENTISTICO                   | CONCEPTO                                                | Vr. UNDITARIO | Vr. CONCEPTO |
| 1 50005-01-08 PRORROGA DE TERMINOS | 1608 N. CREACION PRORROGA DE TERMINOS O PLAZO ADICIONAL | 86.000.00     | 86.000.00    |
|                                    |                                                         |               | \$86.000.00  |
| =====                              |                                                         |               |              |

SON: \*\*OCHENTA Y SEIS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE\*\*

Responsable:   
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. \_\_\_\_\_

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
  
**No. 11-160567- -00000-0000**  
Fecha: 2011-11-23 15:40:07 Dep. 2020 DIR. NUEVASCR  
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 46

000005

**SOLICITUD**



Espacio reservado para el adhesivo de radicación

**REDUCCIÓN DE TASAS DE SOLICITUD DE PATENTE**

**APLICACIÓN A:**

1

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Presentación solicitud

☐ Exámen de patentabilidad

☐ Tasas de mantenimiento

2

**NOMBRE:** UNIVERSIDAD DE ANTIOQUI

**IDENTIFICACIÓN**

**DIRECCION:** Calle 67 # 53- 108 Medellin, Colombia

☐ C.C. ☐ NIT

**BENEFICIARIO**

**Nacionalidad Domicilio:** Medellin, Colombia

☐ C.E. ☐ Otro

En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos y por lo tanto aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

3

**ANEXOS**

**Micro, Pequeña y Mediana Empresa**

☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea

☐ Documento de constancia de cumplimiento a lo establecido en la Ley 905

**Universidad sin ánimo de lucro**

☒ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación

**Entidad sin ánimo de lucro**

☐ Copia del registro vigente en Cámara de Comercio

4

**Nombre:** DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

**FIRMA:**

C.C. 41,654,882

TP 20824 CSJ

000006

# Clarke, Modet & C<sup>o</sup>

COLOMBIA

SEÑORES  
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES  
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
E. S. D.

REF: SOLICITUD DE PATENTE EN COLOMBIA

EXPEDIENTE No.

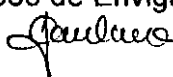
TITULO: MEDIO DE CULTIVO INDEFINIDO FUNCIONAL CON INDUCTOR  
NATURAL DE BIOCOMPUESTOS

SOLICITANTE: UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

Yo, ALBERTO DE JESÚS URIBE CORREA, mayor de edad, vecino de Medellín, identificado con la Cédula de Ciudadanía No. 8.346.555 expedida en Envigado, obrando en mi calidad de Rector y por ende Representante legal de la UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, confiero poder amplio y suficiente a la doctora **DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN** identificada con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 expedida en Bogotá y portadora de la Tarjeta Profesional No. 20,824 del Consejo Superior de la Judicatura, para que en nombre de la sociedad que represento, solicite, tramite y en general realice todas las gestiones necesarias para la obtención del registro de la patente de invención "MEDIO DE CULTIVO INDEFINIDO FUNCIONAL CON INDUCTOR NATURAL DE BIOCOMPUESTOS".

La apoderada queda facultada para recurrir, recibir, transigir, conciliar, notificarse, desistir, renunciar al derecho y sustituir el presente poder.

Atentamente,

  
ALBERTO DE JESÚS URIBE CORREA  
C.C. No. 8.346.555 de Envigado  


ACEPTO:

000007

**DILIA MARÍA RODRIGUEZ D'ALEMAN**  
C.C. No. 41.654.882 de Bogotá  
T.P. 20,824 Minjusticia



NOTARIA  
27  
MEDELLIN

DILIGENCIA DE PRESENTACION PERSONAL Y  
RECONOCIMIENTO DE CONTENIDO Y FIRMA

El anterior escrito dirigido a:  
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y  
Fue presentado por el suscrito Notario Veintisiete  
del Círculo de Medellín por:

URIBE CORREA ALBERTO DE JESUS

identificado con: C.C. 8346555 Y.T.P.



NG

y además declaró que el contenido del anterior documento es  
cierto y que la firma y huella que lo autoriza fue puesta por él. En  
constancia firma.

Medellin 09/11/2011

gvf4rrrdtee3dae

ELIZABETH CRISTINA CARMONA MONTAÑO  
NOTARIA 27 (E) DEL CIRCULO DE MEDELLIN

Dirección: Calle 68 No 61 D 67 Tel: 211 28 11 Fax: 211 28 17 Email: notaria27@une.net.co

*secreto sobre*





INDICE DERECHO

FECHA DE NACIMIENTO 05-ENE-1951  
ANDES  
(ANTIOQUIA)

LUGAR DE NACIMIENTO

1.79

O+

M

ESTATURA

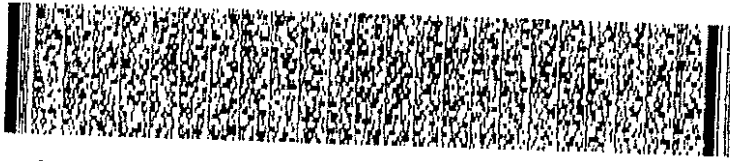
G.S. RH

SEXO

11-SEP-1972 ENVIGADO

FECHA Y LUGAR DE EXPEDICION

*Albino*  
REGISTRADORA NACIONAL  
ALMABEATRIZ BORGIO LOPEZ



A-0100100-14139452-M-0008346555-20080119

00860080194 02 197980985

REPUBLICA DE COLOMBIA  
IDENTIFICACION PERSONAL  
CEDULA DE CIUDADANIA

NUMERO 8.346.555

URIBE CORREA  
APELLIDOS

ALBERTO DE JESUS  
NOMBRES

*Alberto de Jesus Uribe Correa*  
Firma



000008



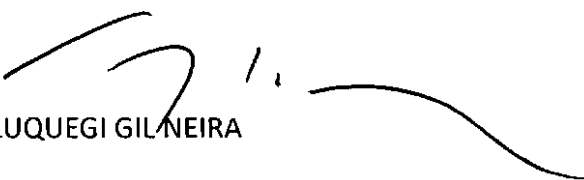
UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA  
1803

EL SECRETARIO GENERAL DE LA UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA,

INFORMA:

- Que la Universidad de Antioquia es un Ente Autónomo con régimen especial, vinculado al Ministerio de Educación Nacional —en lo atinente a las políticas y planeación del sector educativo—, sin ánimo de lucro, cuya creación fue determinada por la Ley 71 de 1878 del extinguido Estado Soberano de Antioquia, y cuya Personería Jurídica deriva de la Ley 153 de 1887.
- Que su autonomía como Universidad Departamental fue reiterada y confirmada por la Ley 30 del 28 de diciembre de 1992.
- Que de conformidad con los artículos 66 de la Ley 30 de 1992, y 40 del Estatuto General de la Universidad, el Rector es el representante legal y su primera autoridad ejecutiva, cargo que en la actualidad desempeña el doctor ALBERTO URIBE CORREA, con cédula 8.346.555 de Envidado, designado mediante la Resolución Superior 1537 del 31 de marzo de 2009.
- Que el Rector como representante legal de la Universidad, está facultado según el Estatuto General de Contratación, artículo 11 del Acuerdo Superior 095 del 21 de octubre de 1996, para suscribir contratos.
- Que el Rector sólo requiere autorización del Consejo Superior Universitario para suscribir contratos cuya cuantía supere el valor de mil quinientos (1500) salarios mínimos legales mensuales vigentes en el país, siempre y cuando los mismos signifiquen egresos para la Universidad.

Medellín, 14 SET. 2011

  
LUQUEGI GIL NEIRA

Lucía V.

000009

**SECRETARÍA GENERAL**

Ciudad Universitaria: Calle 67 N.º 53-108 ■ Recepción de correspondencia: Calle 70 N.º 52-21  
Teléfono: 219 50 20 ■ Fax: 219 50 38 ■ Apartado: 1226  
Correo electrónico: [secretar@quimbaya.udea.edu.co](mailto:secretar@quimbaya.udea.edu.co) ■ Medellín, Colombia

EL SUBDIRECTOR DE INSPECCION Y VIGILANCIA DEL  
VICEMINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR EN  
CUMPLIMIENTO DE LAS FUNCIONES ATRIBUÍDAS POR EL  
DECRETO 5012 DE 2009 Y LA RESOLUCIÓN 7245 DE 2011

RL-0003497-2011

CERTIFICA:

Que el/(la) UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA (Código:1201), con domicilio en MEDELLIN, es una institución de educación superior, OFICIAL, y su carácter académico es el de Universidad, creada mediante Ley 71 de 4 de Diciembre de 1878, expedido(a) por el/la Asamblea Legislativa del Estado Soberano de Antioquia..

Que mediante Decreto 1297 del 30 de mayo de 1964, expedido por el Gobierno Nacional, la Universidad de Antioquia obtuvo reconocimiento como Universidad.

Que la mencionada institución cuenta con seccional(es) en:

- 1219 Carmen De Viboral
- 1220 Andes
- 1221 Caucasia
- 1222 Puerto Berrio
- 1223 Turbo
- 9125 Santa Fe De Antioquia

Que al folio 422 distinguido con el registro 417 del libro de rectores y representantes legales de las instituciones de educación superior aparece inscrito(a) el/(la) DOCTOR ALBERTO DE JESUS URIBE CORREA, identificado(a) con cédula de ciudadanía No 8346555 expedida en Envigado como RECTOR , por un periodo comprendido entre el 7 de Abril de 2009 y el 6 de Abril de 2012, que dicha inscripción se efectuó el 22 de Abril de 2009 de conformidad con lo dispuesto en el/(la) RESOLUCIÓN 1537, del 31 de Marzo de 2009, expedido(a) por el/(la) CONSEJO SUPERIOR.

Que al folio 422 distinguido con el registro 417 del libro de rectores y representantes legales de las instituciones de educación superior aparece inscrito(a) el/(la) DOCTOR ALBERTO DE JESUS URIBE CORREA, identificado(a) con cédula de ciudadanía No 8346555 expedida en Envigado como REPRESENTANTE LEGAL , por un periodo comprendido entre el 7 de Abril de 2009 y el 6 de Abril de 2012, que dicha inscripción se efectuó el 22 de Abril de 2009 de conformidad con lo dispuesto en el/(la) RESOLUCIÓN 1537, del 31 de Marzo de 2009, expedido(a) por el/(la) CONSEJO SUPERIOR.

La información consignada en este certificado corresponde a la última reportada por parte de la institución.

De conformidad con lo establecido por la ley 962 de 2005, los actos de registro aquí certificados quedan en firme cinco (5) días hábiles después de la fecha de inscripción, siempre que no sean objeto del recursos en la vía gubernativa.

El presente documento electrónico tiene validez por cumplir los requisitos de que trata la Ley 527 de 1999, el Decreto Reglamentario 1747 de 2000 y las demás normas que los complementen, modifiquen o reemplacen. Para verificar la autenticidad del presente certificado o ver el documento electrónico, deberá ingresar a [www.mineduccion.gov.co](http://www.mineduccion.gov.co),

Calle 43 No. 57-14 Centro Administrativo Nacional, CAN, Bogotá, D.C. Colombia  
Conmutador: (057) (1) 222 2800 - Fax (057) (1) 222 4953  
[www.mineduccion.gov.co](http://www.mineduccion.gov.co)

000010

Página 1 de 2

menú de Trámites, opción de Consulta de Certificados e ingresar el número de radicado.

Se expide la presente certificación en Bogotá D.C. a los 13 días del mes de Octubre de 2011, por solicitud de UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA.

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |        |                                                                                                          |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Certificado | JUAN GUILLERMO PLATA PLATA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |        |                                                                                                          |
| Propietario | T=SUBDIRECCION DE INSPECCION Y VIGILANCIA, SN=PLATA PLATA, STREET=CALLE 43 NO. 57 14 CAN, S=BOGOTA D.C., OU=SIIF NACION, SERIALNUMBER=158778, O=D.1.3.6.1.4.1.23267.2.3=8989990017, O=D.1.3.6.1.4.1.23267.2.2=91298420, O=D.1.3.6.1.4.1.23267.2.1=48, O=MINISTERIO DE EDUCACION NACIONAL, L=BOGOTA D.C., G=JUAN, E=JPLATA@MINEducacion.GOV.CO, C=CO, CN=JUAN GUILLERMO PLATA PLATA |        |                                                                                                          |
| Fecha Firma | 2011-10-13T14:38:23.593                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Emisor | CN=AC Subordinada Certicámara S.A., O=Sociedad Cameral de Certificación Digital - Certicámara S.A., C=CO |

## CONTRATO DE CESION DE DERECHOS 113 DE 2011

Los abajo firmantes (En adelante CEDENTES)

1. Amanda Inés Mejía Gallón
2. Carolina Arboleda Echavarría

en su carácter de inventores, con domicilios en: Calle 67 # 53-108, Medellín, Antioquia, Colombia.

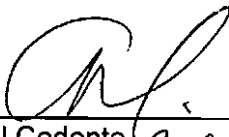
por el presente documento declaran que ceden todos y cada uno de los derechos que le corresponden o puedan corresponderle sobre la invención denominada: **"MEDIO DE CULTIVO INDEFINIDO FUNCIONAL CON INDUCTOR NATURAL DE BIOCOMPUESTOS"**,

a la UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, ente universitario autónomo con régimen especial, nit 890.980.040-8, con domicilio en Calle 67 No. 53-108, Medellín, Antioquia, Colombia.

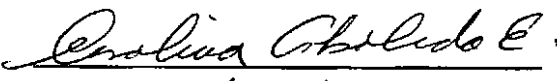
En prueba de la mutua aceptación de esta cesión, ambas partes CEDENTE y CESIONARIO firman el presente documento.

Dado y firmado en Medellín a los **20 SET. 2011**

1. Amanda Inés Mejía Gallón  
c.c. 24.481.038

  
El Cedente 24.481.038

2. Carolina Arboleda Echavarría  
c.c. 43.154.890

  
El Cedente 43.154.890

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA  
ALBERTO URIBE CORREA  
RECTOR  
C.C. 8.346.555

  
  
El Cesionario Paulina

000011

84

ALIGENCIA DE RECONOCIMIENTO DE  
CONTENIDO, FIRMA E IMPRESION DACTILAR 13 SEP 2011

Ante el suscrito Notario Veintisiete del Círculo de Medellín comparecieron:

Amorinda Inés Mejía Gallón  
quien(es) se identificaron con la(s)  
cédula(s) de ciudadanía número(s) 24-481-038 -

Amorinda y declararon: Que  
el contenido del anterior documento es cierto y que la(s) firma(s) y huella(s)  
que autorizan fueron puestas por él(ellos). En constancia firma(n). Medellín

13 SEP 2011

*Amorinda*



ALIGENCIA DE RECONOCIMIENTO DE  
CONTENIDO, FIRMA E IMPRESION DACTILAR 13 SEP 2011

Ante el suscrito Notario Veintisiete del Círculo de Medellín comparecieron:

Carolina Arbeláez Echavarría  
quien(es) se identificaron con la(s)  
cédula(s) de ciudadanía número(s) 43-154-890

Medellín y declararon: Que  
el contenido del anterior documento es cierto y que la(s) firma(s) y huella(s)  
que autorizan fueron puestas por él(ellos). En constancia firma(n). Medellín

13 SEP 2011

*Carolina Arbeláez Echavarría*



Contrato de cesión de derechos 113 de 2011 (Hoja 2)

Cedentes. Amanda Inés Mejía Gallón  
Carolina Arboleda Echavarría

Cesionario Universidad de Antioquia

Inventor **AGENCIA DE RECONOCIMIENTO DE** Invencción **Medio de cultivo inóculo funcional con inductor natural de Biocompuestos**

**CONTENIDO, FIRMA E IMPRESION DACTILAR 20 SEP 2011**

Ante el suscrito Notario Veintisiete del Circulo de Medellín comparecieron:

*Amalia de Jesús Uribe Corrales*  
quien(es) se identificaron con la(s)

cédula(s) de ciudadanía número(s) *8.346.555*

*Enrique* y declararon: Que

el contenido del anterior documento es cierto y que la(s) firma(s) y huella(s)

o autorizan fueron puestas por él(ellas). En constancia firma(n). Medel

*Hector Antonio López Osorio* 20 SEP 2011



000012

84

### Resumen

La presente invención provee un medio de cultivo con inductor natural de biocompuestos.

- 5 En un aspecto general la presente invención divulga un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos que comprende: i) biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza; y ii) un inductor natural, que es vinagre vegetal.

10

000013

**MEDIO DE CULTIVO INDEFINIDO FUNCIONAL CON INDUCTOR NATURAL  
DE BIOCOMPUESTOS**

**CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere al campo de la Biotecnología, específicamente a cultivos celulares. Más específicamente a desarrollo de medios de cultivo funcionales y sustentables que optimicen la producción de biocompuestos.

**ESTADO DEL ARTE**

El cultivo celular es el proceso mediante el cual células procariotas o eucariotas pueden cultivarse en condiciones controladas. En la práctica, el término "cultivo celular" se usa normalmente en referencia al cultivo de células aisladas.

Actualmente, el cultivo de células es una técnica rutinaria de laboratorio en investigaciones biotecnológicas.

Las células se cultivan y mantienen a una temperatura y mezcla de gases adecuados en una incubadora. Las condiciones de cultivo difieren ampliamente para cada tipo celular y la variación de las condiciones para un tipo celular concreto puede dar lugar a la expresión de diferentes fenotipos.

Además de la temperatura y la mezcla de gases, el factor más comúnmente variado en los sistemas de cultivo es el medio de crecimiento o de cultivo.

Estos medios de crecimiento o de cultivo son sustancias nutritivas líquidas, semisólidas o sólidas sobre las que se cultivan las células para multiplicación y crecimiento.

En la división más general de medios de cultivo se hace una diferenciación entre los diseñados para crecimiento de microorganismos y crecimiento de células animales y vegetales. Los medios más comunes para microorganismos son el caldo de cultivo y los platos de agar. La diferencia entre el medio para cultivos celulares y para microorganismos es que los medios para células eucariotas deben adicionarse con sustancias como hormonas o factores de crecimiento.

000014

Otra importante distinción entre los tipos de medios de cultivo es que pueden ser definidos o indefinidos.

5 Un medio definido (también conocido como medio químicamente definido o sintético) es un medio en el que todos los químicos utilizados son conocidos y no contiene levadura o tejidos animales o vegetales.

10 Los medios definidos proveen a las células en cultivo de elementos traza, vitaminas, una fuente de carbono y nitrógeno, donde los azúcares son la fuente de carbono más usada, y las sales de amonio o nitratos como fuente de nitrógeno.

15 Los medios indefinidos (también conocidos como medios basales o complejos) son medios que contienen: una fuente de carbono, agua y una variedad de sales, en combinación con ingredientes complejos, que consisten de una mezcla de muchas especies químicas en proporciones desconocidas, como el extracto de levadura y el hidrolizado de caseína. Los medios indefinidos se eligen muchas veces por las necesidades nutricionales de los organismos o incluso se diseñan para organismos que no se han cultivado en medios definidos.

20 En otra importante clasificación, los medios de cultivo se califican de acuerdo con el origen de los componentes que lo conforman.

25 Los medios de cultivo naturales son los preparados a partir de sustancias naturales de origen animal o vegetal, específicamente extractos de tejidos o infusiones, cuya composición química no se conoce exactamente.

Los medios sintéticos, en cambio, corresponden con medios de cultivo de composición química definida tanto cualitativa como cuantitativamente y se utilizan para obtener resultados reproducibles.

30 Por su utilidad en la práctica, los medios de cultivo o crecimiento también se diferencian en medios mínimos y medios diferenciales.

Un medio mínimo es aquel que contiene los nutrientes mínimos posibles para el crecimiento celular, generalmente sin la presencia de aminoácidos. Típicamente estos medios contienen: una fuente de carbono, varias sales que 000015 permiten la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y agua.

35

Los medios diferenciales son los que incluyen algún tipo de indicador adicionado que permite la identificación de reacciones químicas que se suceden durante el crecimiento celular.

5 También existen los medios mínimos suplementados que son un tipo de medio mínimo que también contiene un agente seleccionado, usualmente aminoácidos y azúcares, como suplemento. Esta suplementación permite el cultivo de líneas específicas de organismos autótrofos.

10 Estos medios suplementados o enriquecidos contienen los nutrientes requeridos para soportar el crecimiento de una amplia variedad de organismos.

Otro tipo de medios son los medios selectivos que se utilizan para el crecimiento de organismos seleccionados y permiten diferenciar entre varios organismos.

15

Incluso, existen medios de cultivo de transporte que mantienen la viabilidad de los organismos durante el almacenamiento, contienen solo sales y soluciones amortiguadoras y carecen de fuentes de carbono, nitrógeno y factores orgánicos de crecimiento.

20

En el contexto de esta invención, también se definen los medios funcionales que por su diseño inicial y contenido de elementos naturales, son un excelente sustrato para el crecimiento celular, particularmente para microorganismos, hongos y levaduras. Estos medios funcionales se diseñan de manera que se reproduzcan las condiciones naturales fisiológicas, son sustentables y de bajo costo.

25

Todos los medios de cultivo o de crecimiento, independientemente a su tipo, contienen distintos nutrientes que van, desde azúcares simples hasta sustancias complejas como extractos proteicos.

30

El diseño de recetas para medios de cultivo y la optimización de condiciones de crecimiento se hace en la mayoría de los casos para potencializar el metabolismo primario y secundario, siendo esto objeto de mucha investigación en el área de Biotecnología.

35

000016

Dentro del diseño de estas recetas la modificación de las fuentes de carbono, nitrógeno, minerales, vitaminas y la adición de inductores de crecimiento, es una de las prácticas más usadas para la optimización de las condiciones de cultivo y para la obtención deseada de productos del metabolismo primario y secundario de las células en cultivo.

Entre las fuentes de carbono más comúnmente utilizadas para el diseño de medios de cultivo se encuentran la glucosa, sacarosa, lactosa, hidrocarburos, grasas presentes en el almidón, azúcar de caña, leche y como fuente de nitrógeno principalmente, proteínas, amonio, nitrato, y nitrógeno, presente en sales de amonio, a amonio puro, sales de nitrato, aire y proteína de soya (Thomé Vieira et. al., 2008; Atalla et. al., 2008).

Particularmente, algunos de los ingredientes más usados como aporte de carbono y nitrógeno en los medios de cultivo son agar, glucosa, peptona, caseína, extracto de malta, extracto de levadura (De Corzo et. al., 2009; Martinko et. al., 1998; Davis et. al., 1990).

Más particularmente, el documento de patente US2009/0005340 se refiere a un método para el cultivo de células de hongos en un medio de cultivo líquido, preferiblemente con extracto de malta y peptona, como fuente de carbono, para producción intracelular o extracelular de uno o más agentes bioactivos entre 7 y 24 días.

A su vez, el documento de patente CN1935992 divulga un medio económico, compuesto por productos agrícolas, para producción limpia y altamente eficiente de un metabolito secundario.

El documento de patente US2009/0005340 también divulga un medio de cultivo líquido bajo unas condiciones que resultan en la producción de compuestos bioactivos, específicamente farmacéuticamente activos.

Alternativamente, dentro del diseño de los medios de cultivo también se contempla la inclusión de aditivos que puedan actuar como posibles inductores de biocompuestos de interés. Estos inductores pueden incluso dirigir la síntesis de un determinado producto de entre varios que se producen generalmente.

Habitualmente, estos aditivos se utilizan como suplemento al medio basal después de varios días de cultivo con el fin de no inhibir el crecimiento celular.

No es común encontrar medios suplementados desde la receta inicial debido a que estos inductores pueden inhibir el crecimiento celular.

La adición de estos inductores busca además de optimizar las condiciones de cultivo, disminuir los tiempos de cultivo y los costos asociados al mismo.

5 En su definición más amplia, los inductores utilizados para adición o suplementación de medios de cultivo pueden ser químicos o naturales.

La adición o suplementación de medios de cultivo con compuestos químicos como inductores de compuestos de interés se ha reportado para todo tipo de célula.

10

Otras investigaciones demostraron la influencia de los metales en la fase de crecimiento en células bacterianas (Billard et. al., 2001).

15

Holker y colaboradores publicaron la expresión mejorada de manganeso peroxidasa y lacasa en presencia de manganeso y compuestos aromáticos a partir de hongos de la podredumbre blanca de la madera (Holker et. al., 2000).

Merroun describió igualmente la interacción de los metales y bacterias en reacciones de biorremediación (Merroun et. al., 2007).

20

Kuryshe y colaboradores demostraron también que la sobrecarga de hierro aumenta la liberación de ácido araquidónico y su incorporación en fosfatidilcolina, así como la inducción de la ciclooxigenasa-2 y la producción de eicosanoides, en miocitos ventriculares de ratas neonatales (Kuryshe et. al., 2001).

25

Asimismo, Legorreta y colaboradores demostraron el incremento de la síntesis de tioles en tejidos de pastos marinos como respuesta a la exposición al cadmio (Legorreta et. al., 2001).

30

Específicamente, como inductores químicos se han usado compuestos fenólicos, flavonoides, iones metálicos, alcaloides, estilbenos, aceites esenciales y ácidos grasos, entre otros (Roat et. al., 2009; Ramani et. al., 2009; Maharik et. al., 2009).

000018

Más específicamente, dentro de los inductores químicos más usados se encuentran el ácido fenilacético, ácidos benzoicos sustituidos y algunos aminoácidos específicos para producción de antibióticos; ABTS (2, 2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfónico), iones metálicos como  $Mn^{+2}$  y el alcohol veratrílico para producción de enzimas (Bourbonnais et. al., 1995; Johannes et. al., 1996; Majcherczyk et. al., 1999); ácido ferúlico, aminoácidos aromáticos, isoeugenol para síntesis de aromas (Bartolome, et. al., 1997; Ranadive et. al., 1994; Dignum et. al., 2001; Havkin-Frenkel et. al., 2005).

Incluso, se ha probado que distintos compuestos aromáticos pueden aumentar las cantidades producidas de metabolitos de interés (Collins et. al., 1997; Chen, et. al., 2003).

Faison y Kirk en 1985 demostraron concretamente que compuestos aromáticos como el alcohol veratrílico y sustratos como el manganeso, activan la producción de metabolitos enzimáticos al ser utilizados como suplementación para medios sintéticos mínimos.

Experimentalmente existe evidencia de la adición de compuestos como xilidina, ácido ferúlico, alcohol veratrílico y pirogalol como inductores de compuestos de interés (Minusi et. al., 2007). Particularmente, se ha reportado el uso de medios sintéticos o incluso naturales suplementados con compuestos aromáticos como Trinitrotolueno, xilidina, catecol y pirogalol, entre otros (Elisashvili et. al., 2010).

Otros compuestos como el ácido gálico, ácido vainillínico, el guayacol, entre otros también se han divulgado como potenciadores de la producción enzimática y median en las funciones celulares (Niladevi et. al., 2008).

Sin embargo, se ha demostrado que sustancias basadas en fenol (por ejemplo, fenol, guayacol, ácido tánico, eugenol) sufren una conversión y producen derivados que pueden ser perjudiciales para la piel (y posiblemente las vías respiratorias). Cada uno de estos compuestos tiene grupos hidroxilo fenólicos que se oxidan fácilmente para producir compuestos reactivos como quinonas (Buckley et. al., 2006).

Específicamente, se ha evaluado la toxicidad aguda de compuestos como el guayacol en ratones, asociándolo con cáncer y disfunción orgánica compleja. Por lo tanto se ha concluido que es un producto extremadamente tóxico cuyo uso debe ser restringido o prohibido (Martinez et. al., 2009).

Por su lado, Dos Santos y colaboradores en 2004 concluyeron que el catecol es un compuesto citotóxico, al ser un metabolito del benceno, probablemente ejerce citotoxicidad debido a la generación de superóxido y quinonas en su auto-oxidación.

5 También, se ha demostrado el efecto cancerígeno generalizado de compuestos como la xilidina en modelos animales (National Toxicology Program (Cas No. 87-62- 7)).

10 Igualmente, existen reportes que indican que debido a la relativa inercia del grupo nitro muchos de los compuestos nitroaromáticos pueden ser recalcitrantes en el medio ambiente. El 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) es un compuesto que se utiliza ampliamente como un explosivo y presenta toxicidad para la flora microbiana natural del suelo y del agua (Baggy et. al., 1999).

15 La alta toxicidad de los inductores químicos utilizados para suplementación de medios de cultivo constituye otra limitante para su adición en las recetas de medios de cultivo funcionales con aplicaciones finales en humanos y animales.

20 Alternativamente a los compuestos fenólicos y como inductores químicos, también se encuentran reportes sobre el suplemento con cobre e iones  $\text{Fe}^{3+}$  e investigaciones donde el etanol y los iones  $\text{Mn}^{2+}$  se han utilizado para inducir la producción de metabolitos (Fonseca et. al., 2010; Arboleda et. al., 2008).

25 Rathore y Singhal en 2001 estudiaron la influencia del zinc y cobre en un medio básico sintético para el crecimiento celular y producción de metabolitos enzimáticos, demostrando el aumento en la actividad celular (Rathore et. al., 2001).

30 Más particularmente, la patente CN101638621, divulga un medio de cultivo compuesto por salvado de trigo, glucosa, polvo de levadura, fosfato dihidrógeno de potasio, sulfato de magnesio, vitamina B1,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  en solución acuosa. Como resultado de esta invención se divulga un aumento considerable en la producción de metabolitos secundarios de interés.

35 Sin embargo, estos aditivos químicos deben adicionarse como suplemento al medio de cultivo inicial en bajas cantidades debido a su interferencia con el crecimiento celular y a su alto costo.

000020

Opcionalmente, se han reportado inductores naturales por su afinidad con el crecimiento celular y reducción de costos.

5 Específicamente, se han incluido como inductores naturales en medios de cultivo el bagazo de caña, el salvado del trigo, el salvado de arroz, el salvado del maíz, la cáscara del arroz, la cáscara del plátano, la pulpa de remolacha, la pulpa de la manzana, la harina de trigo, harina del maíz, arroz cocido al vapor, almidón y pulpa de café, entre otros (Pandey et. al., 2000).

10 También se conoce el efecto inductor del quitosano sobre la producción de metabolitos secundarios. (Lockwood et. al., 2007; Chang et. al., 1998).

En el documento de patente CN1935992 el medio de cultivo para producción de metabolitos secundarios se compone por harina de maíz, salvado de cereales, salvado de maní y agua.

15 El documento de patente C12N000902 divulga un medio de fermentación para crecimiento celular limpio y efectivo compuesto por harina de maíz, salvado de granos, nueces y agua.

En el documento de patente US7883708 se reporta un medio de cultivo convencional suplementado con isoflavonas (Soya) luego de varios días de cultivo para producción de biocompuestos de interés.

20 El documento US20090311751 describe una fermentación sumergida en una variedad de sustratos lignocelulósicos de residuos orgánicos, tales como los residuos de la producción de etanol a partir de cebada ó cáscaras de mandarina. La suplementación del medio de cultivo con residuos orgánicos, más precisamente, con los subproductos de la producción de etanol con  
25 cebada, aumenta la producción de los metabolitos. Con la adición de otros residuos del procesamiento de fruta, preferiblemente residuos de cítricos, como sustrato de crecimiento y fuente de componentes inductivos, se logra también un aumento en la producción de biocompuestos de interés.

30 Otras divulgaciones referencian el uso de derivados fermentativos vegetales como aditivos para el medio de cultivo. Específicamente, el documento de patente KR100949670 indica el uso de un medio de cultivo sólido que incluye vinagre de madera de varios tipos de árboles y sus partes hasta en el 50%

000021

para crecimiento de una cepa bacteriana. Los materiales cultivados se producen por la fermentación del vinagre de madera en el medio.

5 El documento de patente WO2010147345 indica el crecimiento de una cepa bacteriana novedosa en un medio de cultivo que contiene hasta el 50% de líquido piroleñoso. Este medio permite el consumo animal de la cepa cultivada y otras aplicaciones industriales de la misma.

10 Sin embargo, los ingredientes naturales – medios e inductores – que por lo general están compuestos por componentes complejos que hacen parte de recursos de la agroindustria y se realizan bajo condiciones sólidas o semisólidas, presentan algunas limitantes en el cultivo. La naturaleza sólida del medio trae problemas al medir parámetros de fermentación tales como el pH, la temperatura, el contenido de humedad, la concentración de sustrato y de  
15 productos. Los procesos de transferencia de masa son limitados por la difusión, muchos aspectos ingenieriles como el diseño de reactores y el escalado están muy poco caracterizados (Pandey et. al., 2009).

Asimismo, los derivados naturales presentan limitaciones en cuanto a su caracterización y trazabilidad.

20 Consecuentemente, aún existe mucha investigación y desarrollo en medios naturales, sustentables, de bajo costo que induzcan diferente fenotipos u optimicen la producción de biocompuestos de manera reproducible.

Si bien en el estado de la técnica se divulgan medios de cultivo para la producción de metabolitos a partir de la fermentación celular, los medios  
25 reportados no incluyen sustratos naturales como fuente única de carbono, nitrógeno, vitaminas, minerales y cobre y emplean inductores químicos y soluciones comerciales de elementos traza.

Particularmente, persiste la necesidad de medios naturales que incluyan inductores naturales no tóxicos de alta trazabilidad para la optimización en la  
30 producción de biocompuestos.

La presente invención provee un medio de cultivo indefinido funcional que comprende un sustrato natural como fuente única de carbono, nitrógeno, vitaminas, minerales y cobre y un inductor natural grado farmacéutico con efectos sorprendentes y reproducibles sobre la producción de biocompuestos.

El medio de cultivo de la invención contiene un inductor natural refinado grado farmacéutico como elemento inicial de su receta, evitando la suplementación posterior del medio o cultivo en el tiempo.

5 El medio de cultivo de la invención es sustentable y permite la reducción en tiempo y costos de los procesos de cultivo celular y obtención de biocompuestos de interés.

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

La presente invención provee un medio de cultivo con inductor natural de biocompuestos.

10

En un aspecto, la presente invención se refiere a un medio natural, sustentable de bajo costo que contiene un inductor de origen natural que potencia la síntesis de biocompuestos a través del cultivo de células vivas.

15

Específicamente, el medio de la invención comprende como fuente de macromoléculas, un sustrato natural que es una biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y una mezcla de minerales en traza.

20

Más específicamente, el medio de la invención incluye, en combinación con el sustrato vegetal, un inductor natural que es un vinagre vegetal que se obtiene mediante el proceso de pirólisis, reposo y destilación fraccionada, hasta alcanzar un producto refinado de grado farmacéutico totalmente reproducible.

25

El vinagre se compone de compuestos fenólicos y polifenólicos, ácidos orgánicos, alcoholes, cetonas cíclicas y otros hidrocarburos aromáticos, todos presentes en cantidades traza que se potencian sinérgicamente, y evitan el uso de una concentración alta de alguno de ellos que pueda llegar a ser tóxico.

30

Particularmente, la toxicidad evaluada del inductor natural, luego del proceso de refinación, se clasificó en categoría 5 o como no clasificable evaluada por MB Research Laboratories con Buenas Prácticas de laboratorio (BPL). (1765 Wentz Road, P.O. Box 178, Spinnerstown, PA 18968).

35

El medio de la invención contiene una cantidad inversamente proporcional entre biomasa vegetal y el inductor natural.

000023

Particularmente, en el medio de la invención el inductor es compatible con el crecimiento celular y está presente en la composición inicial del medio, lo que hace innecesaria la suplementación posterior del medio con el inductor.

5 El medio de la invención es un medio de cultivo funcional que posibilita la optimización de la producción de biocompuestos.

### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FIGURAS**

10 **Figura 1.** Producción de Biocompuesto 1 en diferentes células eucariotas -■- Sp1, -□- Sp2. -▲- Sp3. -▼- Sp4. -◆- Sp4.

15 **Figura 2.** Producción del Biocompuesto 1 en diferentes células eucariotas -■- Sp1, -□- Sp2. -▲- Sp3. -▼- Sp4. -◆- Sp4 en presencia de un medio suplementado con un inductor de Cobre a concentraciones entre 100 y 750 uM, durante 21 días de cultivo.

**Figura 3.** Cromatograma del estándar del Biocompuesto 2.

20 **Figura 4.** Conjunto de cromatogramas de muestras con diferentes tipos de tratamiento y donde se observa las variaciones en concentración del Biocompuesto 2.

25 **Figura 5.** Cromatograma con los picos relacionados con la producción del Biocompuesto 2 a partir de un medio sintético, medio natural y medio de la invención.

### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN**

La presente invención provee un medio de cultivo con inductor natural de biocompuestos.

30 En un aspecto general el medio de la invención es un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos que comprende biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y una mezcla de minerales en traza y un inductor natural.

35 Esta biomasa vegetal incorpora alto contenido de cobre que no exceda una concentración milimolar y dicha biomasa vegetal se encuentra entre el 1 y el 50% en peso total del medio.

000024

La biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre del medio de la invención comprende, en su aspecto más general, una mezcla de vitaminas seleccionadas del grupo que consiste de A, B1, B2, B12, D, E, ácido fólico, niacina o mezclas de las mismas en una proporción determinada. Esta proporción de vitaminas en una concentración al menos micromolar.

La biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre del medio de la invención comprende, en su aspecto más general, una mezcla de minerales en traza seleccionados del grupo que consiste de calcio, cobre, fósforo, magnesio, manganeso, zinc, potasio y hierro o compuestos y mezclas de los mismos en una proporción deseada. Esta proporción de minerales en traza que no exceda una concentración milimolar.

En otro aspecto, el medio de la invención, la biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza puede ser, mas no limitarse a, frutas, frutos secos, granos, cereales, verduras, tubérculos, legumbres, cacao, y sus derivados, partes y mezclas o combinaciones de los mismos. Todos éstos que pueden ser frescos o tratados.

En otro aspecto, el medio de la invención, la biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza, se selecciona del grupo que consiste de frutas, verduras o cereales o mezclas de los mismos.

En otro aspecto, el medio de la invención, la biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza, se selecciona del grupo de frutas que consiste de plátano, banano, cacao, algarrobo y sus derivados y mezclas de los mismos y sus frutos secos.

En otro aspecto, el medio de la invención, la biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza, se selecciona del grupo de verduras que consiste de pepino, tubérculos como yuca y papa sus derivados y mezclas de los mismos o sus partes.

En otro aspecto, el medio de la invención, la biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza se selecciona del grupo de legumbres que consiste de frijol y lentejas.

000025

En otro aspecto, el medio de la invención, la biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza, se selecciona del grupo de cereales que consiste de maíz, trigo, arroz, avena, cebada, millo, salvados, sus derivados y mezclas de los mismos o sus partes.

5 Opcionalmente, la biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza, también puede contener bagazo de caña, residuos de cosecha de todos los anteriores y aserrín de diferentes maderas, pastos o mezcla de ellos, frescos, tratados o partes de los mismos.

10 En su aspecto más general, el medio de la invención comprende opcionalmente como fuente de carbono y energía jarabe glucosado y/o fructosado compuesto por maltosa, maltotriosa, glucosa, oligosacáridos, fructuosa o materia seca del mismo en cualquier combinación o mezcla.

15 En este mismo aspecto general, el medio de la invención incluye un inductor natural que es un vinagre de gramínea refinado grado farmacéutico. Este inductor natural que se encuentra entre el 1 y el 50% en peso total del medio. Este inductor natural puede provenir de cualquier parte de la planta, es decir, hojas, raíces, tallos, flores, semillas o partes de los mismos.

20 Opcionalmente, en su aspecto más general, el medio de la invención incluye extracto de malta o de levadura como fuente alterna y/o complementaria de nitrógeno.

Opcionalmente también, el medio de la invención puede ser suplementado adicionalmente con compuestos de cobre.

25 Opcionalmente además, el medio de la invención puede contener ácidos grasos de cadena larga, preferentemente linoleico y linolénico.

30 En su aspecto más general, el medio de la invención puede ser líquido, sólido o semisólido.

El medio de la invención proporciona un medio natural, que comprende biomasa e inductores de procedencia vegetal de bajo costo y no tóxico.

000026

El medio de la invención puede diseñarse para producción de múltiples biocompuestos. La composición del medio de la invención proporciona las condiciones óptimas para cultivo de células y obtención de biocompuestos, sin la adición de sustancias tóxicas, o sintéticas o suplementos de alto costo.

5

Los biocompuestos obtenidos con el medio de la invención se logran en corto tiempo y en mayores concentraciones cuando se comparan con aquellos obtenidos en cultivos convencionales

10

#### **MODALIDADES PREFERIDAS DE LA INVENCION**

En un aspecto de la invención, se define como modalidad preferida, sin restringir su alcance, un medio de cultivo que comprende:

15

Biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza que es una mezcla de cereales y otros. Preferentemente, mezcla de cereales de maíz y trigo, algarrobo, o brotes de bambú y combinaciones de los mismos.

20

Particularmente, la mezcla de cereales contiene una cantidad de cobre que no excede una concentración milimolar, vitaminas en una concentración al menos micromolar y minerales en traza que no exceden una concentración milimolar.

25

El medio de la invención en su modalidad preferida comprende como fuente de carbono y energía jarabe glucosado de yuca o maíz.

30

Específicamente, el medio de la invención en su modalidad preferida comprende un inductor natural que es un vinagre vegetal el cual se obtiene por un proceso de pirólisis, reposo y destilación fraccionada, hasta conseguir un vinagre refinado grado farmacéutico. El vinagre se compone de compuestos fenólicos y polifenólicos, ácidos orgánicos, alcoholes, cetonas cíclicas y otros hidrocarburos aromáticos, presentes en cantidades traza.

Más específicamente, el inductor natural del medio de la invención es un vinagre vegetal refinado, preferentemente un vinagre de gramínea.

000027

Más preferentemente, el inductor natural del medio de la invención es un vinagre refinado de *Bambusoideae* que es una mezcla de compuestos fenólicos y polifenólicos, presentes en cantidades traza.

5 El medio de la invención, en su modalidad preferida, contiene biomasa vegetal en una relación inversamente proporcional al inductor.

El medio de la invención en su modalidad preferida es líquido o liofilizado.

10 Opcionalmente el medio de la invención, en su modalidad preferida, se suplementa con extracto de levadura.

Opcionalmente el medio de la invención, en su modalidad preferida, se suplementa con compuestos de cobre.

15 Opcionalmente el medio de la invención, en su modalidad preferida, se suplementa con ácidos linoléico y linolénico.

### **Ejemplos**

20 Los siguientes ejemplos corresponden a la preparación y aplicaciones del medio de cultivo de la invención.

Estos ejemplos buscan ilustrar el objeto de la invención, por lo tanto, no deben interpretarse en ningún caso como limitativos.

25

### **Ejemplo 1: Preparación del Medio de la Invención**

**Se diseñó y preparó un medio de cultivo natural indefinido funcional para crecimiento celular.**

30

**Preparación del Inductor natural:** El vinagre de *Bambusoideae* se obtuvo por un proceso de pirólisis a altas temperaturas por encima de 100°C durante las etapas preliminares de la producción de carbón en ausencia de oxígeno. El vapor producido por este proceso de pirólisis es condensado y colectado. El producto obtenido es un líquido ligeramente amarillo o transparente, con olor a humo, gravedad específica de 1001-1008 g/L, pH entre 3.4 a 3.7, y refinado mediante procesos de destilación.

35

000028

**Preparación de preinóculos y medio de la invención:** Se extrajeron 4 plugs cilíndricos de biomasa celular, sembrada previamente en agar malta para la siembra de los preinóculos.

5 El medio de cultivo se preparó mezclando un inductor vinagre vegetal refinado grado farmacéutico identificado como R2 rotulado como MVG-Lote N°11M envase 1 de 19 con biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza en una relación inversamente proporcional al inductor, jarabe glucosado y extracto de levadura. El medio se suplementó con  
10 compuestos de cobre y ácidos linoleico y linolénico. Se prepararon 3 erlenmeyers de 250 cc, con volumen de trabajo de 83 cc cada uno. El ajuste del pH se realizó con buffer citrato fosfato 0.1M ácido cítrico y 0.2M fosfato de sodio a 4,56. La esterilización de los componentes se realizó mediante calor húmedo en autoclave a 121°C, 103 KPa durante 15 minutos. Los bloques  
15 cilíndricos de la cepa se adicionaron en cada uno de los erlenmeyers y se mantuvieron a 30°C en la incubadora. Este preinóculo se utilizó posteriormente para el cultivo a escala de biorreactor. El medio de la invención se obtuvo para cultivo inmediato de células eucariotas y se mantiene a 4°C o se liofiliza.

20 **Cultivo a escala de Biorreactor.** El medio de cultivo es igual al utilizado para los preinóculos. Una vez homogenizados los componentes y ajustado el pH, se procedió a esterilizarlo a 121°C a 718 Pa de presión durante 15 minutos.

**Condiciones de trabajo del biorreactor:** Inóculo entre 1 y 15 %; temperatura  
25 entre 25 y 35°C, pH entre 3,5 y 5; agitación entre 50 y 200 rpm; aireación  $\cong$  entre 1 y 3 L/min ( $\cong$  300 a 600% saturación de O<sub>2</sub>); volumen de trabajo = 5000 cm<sup>3</sup>.

| Posibles Mezclas |                 | Posibles Mezclas |                 |
|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| Inductor         | Biomasa Vegetal | Inductor         | Biomasa vegetal |
| 1%               | 2%              | 8%               | 16%             |
| 2%               | 1%              | 16%              | 8%              |
| 2%               | 4%              | 16%              | 24%             |
| 4%               | 2%              | 24%              | 16%             |
| 4%               | 8%              | 24%              | 48%             |
| 8%               | 4%              | 48%              | 24%             |

## **Ejemplo 2: Producción Biocompuesto 1**

### **Cultivo de células en fermentación sumergida en un medio sintético y el medio de cultivo de la invención para inducir la producción del Biocompuesto 1**

**Producción del Biocompuesto 1 con el medio sintético:** La producción de biocompuesto 1 se estudió utilizando un medio sintético con un inductor de cobre. El inductor se adicionó al cuarto día de inoculado el medio. La actividad del biocompuesto 1 se monitoreó durante 20 días. Se evaluaron cuatro concentraciones de  $\text{CuSO}_4$ , entre 150 - 750  $\mu\text{M}$  para la inducción del biocompuesto 1 en cultivos sumergidos.

**Producción del Biocompuesto 1 con el medio de la invención:** El medio de cultivo se preparó mezclando un inductor vinagre vegetal refinado grado farmacéutico identificado como R2 rotulado como MVG-Lote N°11M envase 1 de 19 con una combinación de biomasa vegetal en una relación inversamente proporcional al inductor, jarabe glucosado y extracto de levadura. El medio se suplementó con compuestos de cobre y ácidos linoleico y linolénico. Se prepararon 3 erlenmeyers de 250 cc, con volumen de trabajo de 83 cc cada uno. El ajuste del pH se realizó con buffer citrato fosfato 0.1M ácido cítrico y 0.2M fosfato de sodio a 4,56. La esterilización de los componentes se realizó mediante calor húmedo en autoclave a 121°C, 103 KPa durante 15 minutos. La concentración del inductor natural se mantuvo de acuerdo a la composición inicial del medio de la invención.

**Condiciones de trabajo del biorreactor:** Inóculo entre 1 y 15 %; temperatura entre 25 y 35°C, pH entre 3,5 y 5; agitación entre 50 y 200 rpm; aireación  $\cong$  entre 1 y 3 L/min ( $\cong$  300 a 600% saturación de  $\text{O}_2$ ); volumen de trabajo = 5000  $\text{cm}^3$ .

**Células en cultivo:** Se utilizaron cuatro tipos de células vivas, conservadas en refrigeración y activadas para su uso in vivo para evaluar la producción del Biocompuesto 1. Denotadas como Sp1, Sp2, Sp3, Sp4 y Sp5 como se muestra en la figura 1.

000030

**Resultados de la producción del Biocompuesto 1**

5 Se observa en la Figura 1, que la producción de Biocompuesto 1 a partir del cultivo de diferentes células (-■- *Sp1*, -□- *Sp2*, -▲- *Sp3*, -▼- *Sp4*, -◆- *Sp5*) en cuatro cultivos celulares utilizando el medio sintético y en ausencia de cualquier inductor químico, da como resultado que la máxima producción encontrada del Biocompuesto 1 se presenta a 340 U/L, luego inicia una fase estacionaria y disminución de la actividad metabólica hasta 0 U/L.

10 Se seleccionó para inducción con cobre, el cultivo celular con mayor producción del Biocompuesto 1: -■- *Sp1*.

15 De acuerdo con los datos de la figura 2, se observó que la producción del Biocompuesto 1 de -■- *Sp1* alcanzó una concentración máxima de 11650 U/L cuando se utilizó un medio sintético y un inductor de cobre. La Figura 2 muestra la producción de Biocompuesto 1 a partir del cultivo de -■- *Sp1* en medio sintético con un inductor de Cobre a concentraciones entre 100 y 750  $\mu$ M y los datos corresponden a los 21 días de cultivo.

20 Los resultados promedio de 3 réplicas para la producción del Biocompuesto 1 con el medio de invención en cultivo sumergido realizado bajo las mismas condiciones del cultivo sintético se presentan en la siguiente tabla.

25 **Tabla 1.** Determinación de actividad del Biocompuesto 1 a los 8 días de cultivo con el medio de la invención.

| Muestra | Actividad enzima Biocompuesto 1 (U/L). |                |                | Promedio |
|---------|----------------------------------------|----------------|----------------|----------|
|         | R <sub>1</sub>                         | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |          |
| 1       | 18504                                  | 18701          | 21592          | 19599    |
| 2       | 24844                                  | 25544          | 28498          | 26295    |
| 3       | 26467                                  | 26746          | 28591          | 27268    |
|         |                                        |                |                | 24387    |

30 La producción del Biocompuesto 1 de -■- *Sp1* alcanzó una concentración máxima de 28591 U/L utilizando el medio de la invención.

000031

Se realizó una comparación entre la obtención del biocompuesto 1 a través de un medio sintético y un medio de acuerdo con la invención.

**Tabla 2.** Comparación de resultados para la obtención del Biocompuesto 1 con medio sintético y con el medio de la invención descritos anteriormente.

5

| Medio                                 | Producción Máxima<br>Biocompuesto 1 | Tiempo<br>(Días) |
|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------|
| de la Invención                       | 28089 U/L                           | 8 días           |
| Sintético                             | 100 - 200U/L                        | 21 días          |
| Sintético suplementado con inductores | 8500 U/L                            | 21 días          |

Estos resultados corroboran que en los cultivos celulares realizados con el medio de la invención se obtiene de manera sorprendente el Biocompuesto 1 en mayor concentración y en menor tiempo de cultivo.

10

**Ejemplo 3: Producción Biocompuesto 2**

**Cultivo de células en medio sintético, medio natural y en el medio de la invención para inducción de la producción del Biocompuesto 2, producto del metabolismo secundario de las células en cultivo.**

15

**Preparación de los cultivos celulares:** Como medio sintético se utilizó medio Kirk que contiene principalmente fuente de carbono, nitrógeno, minerales traza, vitaminas y solución amortiguadora de pH.

20

Como medio natural se utilizó una solución compuesta por hidrolizado de residuos de la agroindustria.

25

El medio de cultivo de la invención contiene como Inductor natural un vinagre vegetal refinado grado farmacéutico identificado como R2 rotulado como MVG-Lote N°11M envase 1 de 19. Se adicionó igualmente, una combinación de biomasa vegetal en una relación inversamente proporcional al inductor, jarabe glucosado; extracto de levadura de cerveza y se suplementó el medio inicial y con ácidos linoleico y linolénico. Una vez homogenizados los componentes y

ajustado el pH se procedió a esterilizar el medio a 121°C a 718 Pa de presión durante 15 minutos.

**Condiciones de trabajo del biorreactor:** Inóculo entre 1 y 15 %; temperatura entre 25 y 35°C, pH entre 3,5 y 5; agitación entre 50 y 200 rpm; aireación  $\cong$  entre 1 y 3 L/min ( $\cong$  300 a 600% saturación de O<sub>2</sub>); volumen de trabajo = 5000 cm<sup>3</sup> (5 L).

### Determinación del Biocompuesto 2

**Proceso de extracción:** 10 g de biomasa se disolvió en 250 mL de metanol 70% y se deja en agitación por 24 horas, se rotaevapora, la fase acuosa se ajusta a pH de 7 con HCl 0,2 M y se extrajo con diclorometano:etilacetato (90:10). El extracto obtenido se centrifugó a 4000 rpm por 5 minutos a 5°C, se extrajo la fase orgánica y se secó bajo atmosfera de nitrógeno a 35°C

**Preparación de las muestras para el análisis:** De la biomasa obtenida del medio sintético y del medio de la invención preparados como se describe en el Ejemplo 1, se tomaron muestras de biomasa por triplicado 50 gramos secos, se mezclaron con etanol al 70% (v/v) y se agitaron a temperatura ambiente por 5 días; luego se secaron en rotaevaporador bajo presión reducida. Dos muestras se solubilizaron en diferentes solventes, metanol, acetato de etilo y otra en cloroformo y se realizaron las extracciones, luego se rotaevaporaron y se disolvieron en metanol para el análisis cromatográfico.

**Análisis por HPLC:** El análisis de la biomasa por HPLC se llevó a cabo en un equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución marca Shimadzu), y un detector de arreglo de diodos (SPD-M20A), un automuestreador y controlado mediante un software LC solution. La columna analítica usada fue RP-C18. La longitud de onda fue a 270nm. El proceso de elución de las muestras se llevó a cabo con un flujo de 1.0ml/min a temperatura ambiente. La fase móvil A consistió en agua y la fase móvil B acetonitrilo usando una elución isocrática. El volumen de inyección fue de 20ul. La concentración del Biocompuesto 2 se determinó en una curva de calibración usando un estándar del Biocompuesto 2.

000033

## Resultados de la producción del Biocompuesto 2

**Concentración del B2 en Biomasa obtenida con el medio de invención:** De acuerdo a la curva de calibración, el Biocompuesto 2 presente en la biomasa evaluada se encuentra en una concentración media de 80,8220 ppm. La figura 3 muestra el pico del Biocompuesto 2 presente en las muestras de los cultivos celulares realizados y el cual aparece a un tiempo de retención de 20 minutos.

La Figura 4 evidencia las diferencias en concentración del Biocompuesto 2 de acuerdo a los diferentes métodos de extracción utilizados, el cromatograma de la muestra S7 sugiere que es el mejor método de extracción y tratamiento de la muestra y la Figura 5 muestra que el Biocompuesto 2 es producido en el medio de cultivo de la invención a una concentración mucho mayor que la producida en un medio sintético y un medio natural bajo las mismas condiciones de cultivo. Incluso, en el medio natural no se detectó el Biocompuesto 2.

**Tabla 3.** Comparación de la producción del Biocompuesto 2 en ppm producido con un medio sintético, uno natural y con el medio de la invención.

| Medio           | Concentración<br>Biocompuesto 2 | Tiempo de cultivo |
|-----------------|---------------------------------|-------------------|
| de la invención | 86.4145 mg/L                    | 10 días           |
| sintético       | 1.2 mg/L                        | 10 días           |
| Natural         | ausencia                        | -                 |

## Ejemplo 4: Producción del Biocompuesto 3

### Cultivo de células en un medio sintético y en el medio de la invención para inducción de la producción del Biocompuesto 3.

**Preparación de los cultivos celulares:** Como medio sintético se utilizó medio Kirk que contiene principalmente fuente de carbono, nitrógeno, minerales traza, vitaminas y solución amortiguadora de pH.

El medio de cultivo de la invención usado contiene como inductor natural un vinagre vegetal refinado grado farmacéutico identificado como R2 rotulado como MVG-Lote N°11M envase 1 de 19. Se adicionó igualmente una

000034

combinación de biomasa vegetal en una relación inversamente proporcional al inductor, jarabe glucosado; extracto de levadura de cerveza y se suplementó el medio inicial y con ácidos linoleico y linolénico. Una vez homogenizados los componentes y ajustado el pH se procedió a esterilizar el medio a 121°C a 718 Pa de presión durante 15 minutos.

**Condiciones de trabajo del biorreactor:** Inóculo entre 1 y 15 %; temperatura entre 25 y 35°C, pH entre 3,5 y 5; agitación entre 50 y 200 rpm; aireación  $\cong$  entre 1 y 3 L/min ( $\cong$  300 a 600% saturación de O<sub>2</sub>); volumen de trabajo = 5000 cm<sup>3</sup> (5 L)

**Resultados para la producción del Biocompuesto 3**

**Tabla 4.** Evaluación de la producción de Biocompuesto 3 con el medio de la invención y un medio sintético.

| Medio     | Tiempo (Días) | Biocompuesto 3 / Reactor 5 Litros | Porcentaje |
|-----------|---------------|-----------------------------------|------------|
| Invención | 7 días        | Peso seco: 480 gr                 | 9,6%       |
| Sintético | 7 días        | Peso seco: 331,02 gr              | 6.6%       |

El estado de la técnica ha reportado para producción de Biocompuesto 3, utilizando diferentes fuentes de carbono y nitrógeno, períodos de cultivo de mínimo 45 días y hasta 200 días en condiciones de cultivo comparables a las indicadas para el presente ejemplo (E.lclal Erke, 2009 and Mayszumi Et. al., 1993).

**Caracterización proximal de Biocompuesto 3 en el medio de la Invención:**  
El análisis proximal del Biocompuesto 3 obtenido en el medio de la invención evidencia que hay un contenido de proteína de 13%, grasa bruta del 17% y FDT (Fibra dietaria total) del 64%; al igual que un aporte calórico total de 593.9 Kcal/100g como se presenta en las siguientes tablas.

**Tabla 5.** Análisis proximal de Biocompuesto 3 obtenido con el medio de invención.

000035

| Componente  | %       |
|-------------|---------|
| Proteína    | 13,0899 |
| Grasa bruta | 17,67   |
| FDT         | 63,80   |

El Biocompuesto 3 producido con el medio de la invención presenta alto contenido proteico y fibra.

5           **Tabla 6.** Proteína de Biocompuesto 3 obtenido con diferentes medios.

|                   | Biocompuesto 3<br>(medio invención) | Biocompuesto 3<br>(FES) |
|-------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| Proteína          | 13,1%                               | 7.3%                    |
| Tiempo de cultivo | 7 días                              | 30 días                 |

En el estado del arte se reporta que el contenido proteico alcanzado para el Biocompuesto 3 es cercano al 7% luego de 30 días de cultivo (Chiu Et. al., 2000). El Biocompuesto 3 obtenido con el medio de la invención presenta un contenido calórico de 13.1% en 7 días de cultivo.

**Ejemplo 5: Producción Biocompuesto 4**

15           **Cultivo de células en un medio sintético, un medio natural y en el medio de la invención para inducción de la producción del Biocompuesto 4.**

20           **Preparación de los cultivos celulares:** Como medio sintético se utilizó medio Kirk que contiene principalmente fuente de carbono, nitrógeno, minerales traza, vitaminas y solución amortiguadora de pH.

Como medio natural se utilizó una solución compuesta por hidrolizado de residuos de la agroindustria.

25           El medio de cultivo de la invención usado contiene como Inductor natural un vinagre vegetal refinado grado farmacéutico identificado como R2 rotulado como MVG-Lote N°11M envase 1 de 19. Se adicionó igualmente, biomasa vegetal en una relación inversamente proporcional al inductor, jarabe

000036

glucosado; extracto de levadura de cerveza y se suplementó el medio inicial y con ácidos linoleico y linolénico. Una vez homogenizados los componentes y ajustado el pH se procedió a esterilizar el medio a 121°C a 718 Pa de presión durante 15 minutos.

5

**Condiciones de trabajo del biorreactor:** Inóculo entre 1 y 15 %; temperatura entre 25 y 35°C, pH entre 3,5 y 5; agitación entre 50 y 200 rpm; aireación  $\cong$  entre 1 y 3 L/min ( $\cong$  300 a 600% saturación de O<sub>2</sub>); volumen de trabajo = 5000 cm<sup>3</sup>.

10

**Resultados para la producción del Biocompuesto 4**

**Tabla 7.** Evaluación de la producción de Biocompuesto 4 a partir de de cultivos celulares con diferentes medios.

15

| Medio              | Abs1<br>$\lambda=490\text{nm}$ | Ab2<br>$\lambda=490\text{nm}$ | Ab3<br>$\lambda=490\text{nm}$ | Promedio | DS    | Concentración<br>ppm<br>(x Factor de<br>dilución) | %<br>Biocompuesto<br>4 |
|--------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------|-------|---------------------------------------------------|------------------------|
| de la<br>invención | 0.361                          | 0.268                         | 0.479                         | 0.370    | 0.106 | 2723.611                                          | 4.36                   |
| Sintético          | 0.853                          | 0.787                         | 0.838                         | 0.826    | 0.034 | 652.778                                           | 0.073                  |
| Natural            | 0.520                          | 0.498                         | 0.546                         | 0.521    | 0.024 | 398.778                                           | 0.250                  |

La tabla 7 muestra los resultados de la concentración de Biocompuesto 4 obtenidos con diferentes medios de cultivo, se observa que la producida con el medio de la invención, bajo las mismas condiciones experimentales, es hasta 7 veces mayor que la producida con el medio natural y hasta 4 veces mayor que la producida en un medio sintético.

20

En el estado del arte se conoce que la producción del Biocompuesto 4 es menor al 1% a escala de bioreactor durante 30 días de cultivo (Joica Habijani and Marin Berovi, 2000).

25

### REIVINDICACIONES

- 5            1.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos que comprende:
- a.      Biomasa vegetal que incorpora alto contenido de cobre, vitaminas y minerales en traza;
- b.      Inductor natural que es un vinagre vegetal refinado grado farmacéutico.
- 10           2.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1, caracterizado porque comprende opcionalmente un jarabe glucosado y/o fructosado.
- 15           3.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1, caracterizado porque comprende opcionalmente extracto de malta y/o levadura.
- 20           4.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 3, caracterizado porque opcionalmente se suplementa con cobre adicional.
- 25           5.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 4, caracterizado porque opcionalmente comprende con ácidos grasos de cadena larga.
- 30           6.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 5, caracterizado porque comprende ácidos linoléico y linolénico.
- 35           7.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1, caracterizado porque la biomasa vegetal es una mezcla.
8.      Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 7, caracterizado porque la biomasa vegetal se selecciona de frutas, verduras, cereales o mezclas de los mismos.

000038

9. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 8, caracterizado porque la biomasa vegetal es una mezcla de cereales.
- 5 10. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 9, caracterizado porque la biomasa vegetal incorpora cobre en una cantidad que no excede una concentración milimolar.
- 10 11. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 10, caracterizado porque la biomasa vegetal incorpora vitaminas en una concentración al menos micromolar.
- 15 12. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 11, caracterizado porque la biomasa vegetal incorpora vitaminas especialmente del complejo B.
- 20 13. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 12, caracterizado porque la biomasa vegetal incorpora minerales en traza en una cantidad que no excede una concentración milimolar.
- 25 14. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1, caracterizado porque el inductor natural es un vinagre de gramíneas.
- 30 15. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 14, caracterizado porque el inductor natural es un vinagre de *Bambusoideae*.
- 35 16. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 15, caracterizado porque comprende el inductor natural en una proporción inversamente proporcional al contenido de biomasa vegetal.

000039

17. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 16, caracterizado porque comprende biomasa vegetal en una proporción de al menos 1%.
- 5 18. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 17, caracterizado porque comprende el inductor natural en una proporción de al menos 1%.
- 10 19. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 18, caracterizado porque es líquido, sólido o semisólido.
- 15 20. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 19, caracterizado porque está liofilizado.
- 20 21. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 1 - 20, caracterizado porque es líquido.
- 25 22. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos que comprende:  
a. Mezcla de cereales que incorpora una cantidad de cobre que no excede una concentración milimolar, vitaminas especialmente del complejo B en una concentración al menos micromolar y minerales en traza que no exceden una concentración milimolar; y  
b. Inductor natural, que es un vinagre de *Bambusoideae* refinado grado farmacéutico.
- 30 23. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 22, caracterizado porque es líquido.
- 35

000040

24. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 22 - 23, caracterizado porque está liofilizado.

5

25. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 22 - 24, caracterizado porque comprende opcionalmente un jarabe glucosado y/o fructosado.

10

26. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 22 - 25, caracterizado porque comprende opcionalmente extracto de malto y/o levadura.

15

27. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 22 - 26, caracterizado porque opcionalmente se suplementa con cobre.

20

28. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 22 - 27, caracterizado porque opcionalmente comprende con ácidos grasos de cadena larga.

25

29. Un medio de cultivo indefinido funcional con inductor natural de biocompuestos de acuerdo a la Reivindicación 22, caracterizado porque comprende ácidos linoleico y linolénico.

30

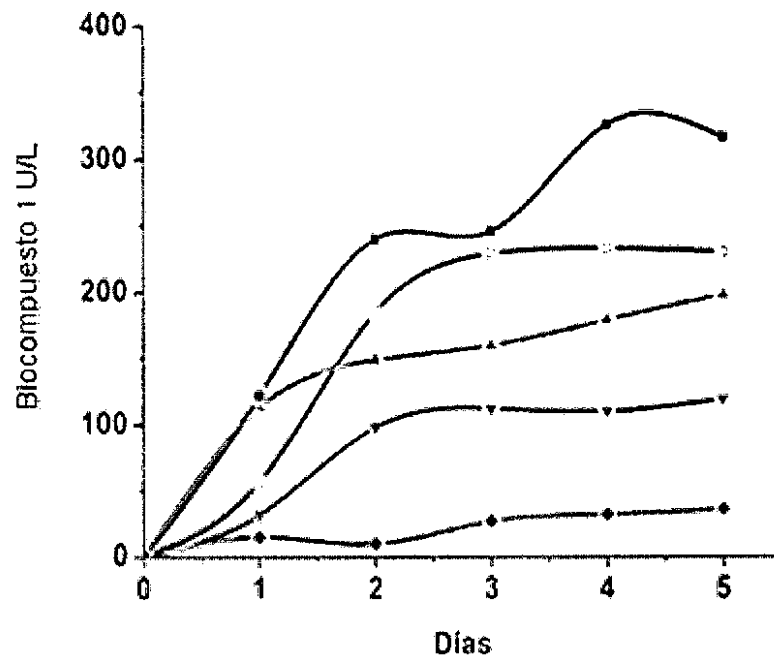
30. Un proceso de cultivo caracterizado porque el crecimiento celular se realiza en el medio de acuerdo cualquiera de las Reivindicaciones precedentes.

35

31. Un producto obtenido por el proceso de la Reivindicación anterior.

000041

1/5



5

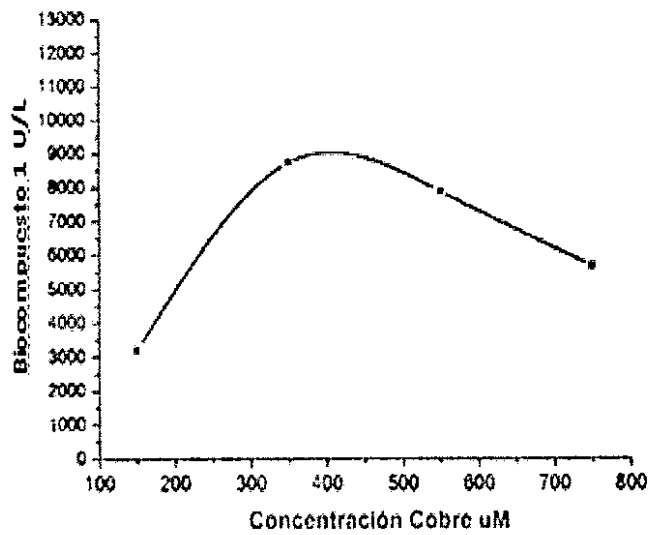
células eucariotas -■- Sp1, -□- Sp2, -▲- Sp3, -▼- Sp4, -◆- Sp5

10

FIG 1

000042

2/5



5

FIG 2

000043

3/5

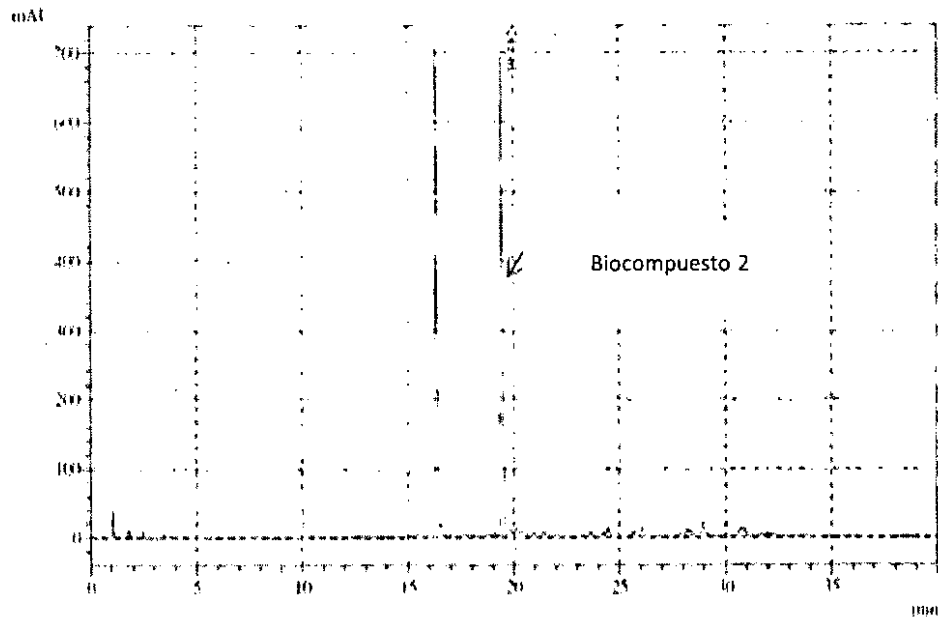
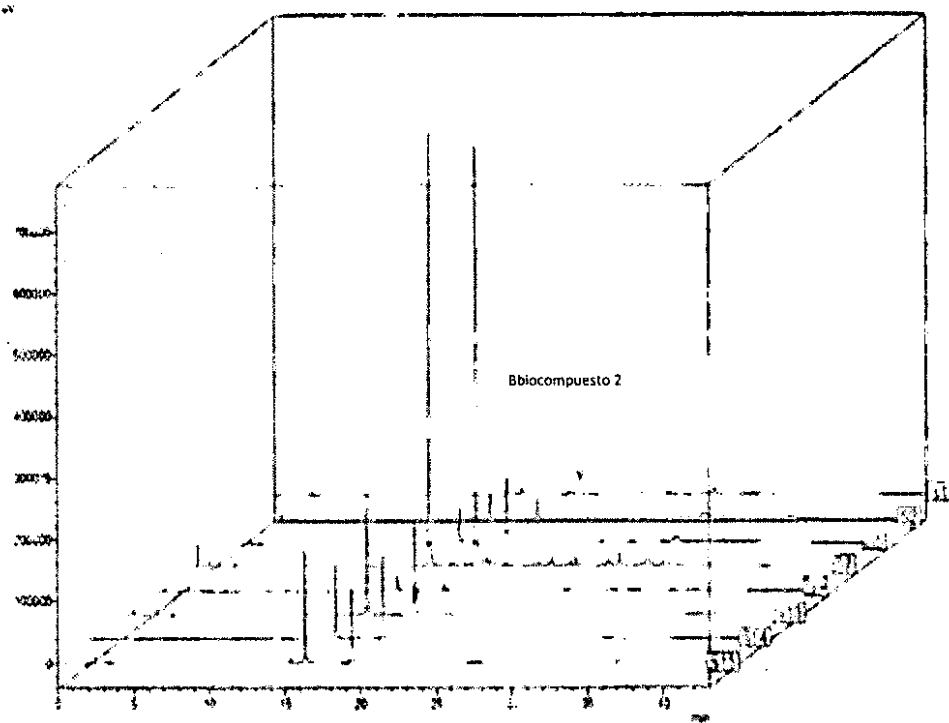


FIG 3

000044

4/5



5

FIG 4

000045

5/5

5

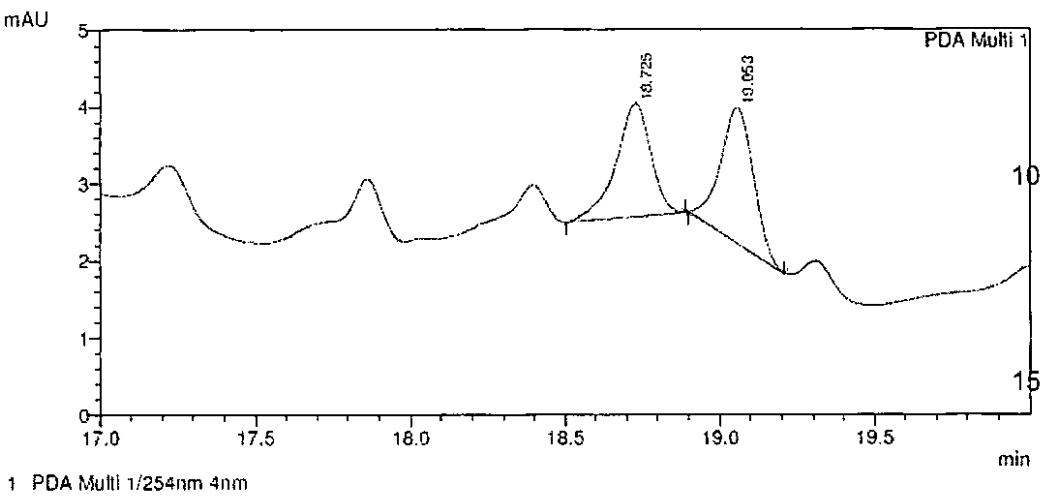


FIG 5

20



No. 11-160567- -00000-0000

Fecha: 2011-11-23 15:40:07 Dep. 2020 DIR NUEVASCR  
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO  
Act. 411 PRESENTACION Folios: 46

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

|                                              |                                                                                     |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/>          | Indicación que se solicita una patente.                                             |
| <input checked="" type="checkbox"/>          | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud   |
| <input checked="" type="checkbox"/>          | Descripción de la invención                                                         |
| <input checked="" type="checkbox"/>          | Dibujos de ser estos pertinentes                                                    |
| <input type="checkbox"/>                     | Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento) |
| Completa <input checked="" type="checkbox"/> | Incompleta <input type="checkbox"/>                                                 |

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

|                                   |                                                                                                                         |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>          | Indicación que se solicita una PCT                                                                                      |
| <input type="checkbox"/>          | Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen) |
| <input type="checkbox"/>          | Dibujos de ser estos pertinentes                                                                                        |
| <input type="checkbox"/>          | Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)                                     |
| Completa <input type="checkbox"/> | Incompleta <input type="checkbox"/>                                                                                     |

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

|                                   |                                                                                                           |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>          | Indicación que se solicita Diseño industrial                                                              |
| <input type="checkbox"/>          | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud                         |
| <input type="checkbox"/>          | Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño |
| <input type="checkbox"/>          | Comprobante de pago de las tasas establecidas                                                             |
| Completa <input type="checkbox"/> | Incompleta <input type="checkbox"/>                                                                       |

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

|                                   |                                                                                   |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/>          | Indicación que se solicita un esquema de trazado                                  |
| <input type="checkbox"/>          | Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud |
| <input type="checkbox"/>          | Representación gráfica de un esquema de trazado                                   |
| <input type="checkbox"/>          | Comprobante de pago de las tasas establecidas                                     |
| Completa <input type="checkbox"/> | Incompleta <input type="checkbox"/>                                               |