

CASTELLANOS & Co. LTDA

ABOGADOS

Calle 94 A No. 7 A - 09
Bogotá, D.C., COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-180116- -00006-0000

Fecha: 2014-09-08 15:46:38 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 28

Señor

Director de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. **11 180116**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para:

"APTAMERO PARA QUIMASA Y SU USO"

Solicitantes: **RIBOMIC INC. y**

OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **5159** notificado el **06 de mayo de 2014** y para el cual solicité oportunamente prórroga de treinta (30) días el **23 de julio de 2014**, atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Modificación a las Reivindicaciones

De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el examinador, se presenta en esta oportunidad un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 13 reivindicaciones, en donde se han realizado las siguientes modificaciones:

- Siguiendo las amables recomendaciones del examinador, se ha modificado la reivindicación 1, incluyendo el contenido de la reivindicación 2.
- Se ha modificado la nueva reivindicación 5 (anterior reivindicación 6), limitando las secuencias a aquellas que comprenden la secuencia de consenso, es decir la SEQ ID NO: 21).
- Se ha incluido la nueva reivindicación 7 dirigida a las secuencias excluidas de la reivindicación 6, excepto para las SEQ ID NO: 7, 10, 16, 27, 29 y 52, las cuales de unen a quimasa pero no inhiben su actividad.

CASTELLANOS & Co. LTDA

A B O G A D O S

Calle 94 A No. 7 A - 09

Bogotá, D.C., COLOMBIA

- Las nuevas reivindicaciones 4 y 8 (anteriores reivindicaciones 5 y 7) han sido modificadas para recitar las modificaciones específicas y las alteraciones como han sido reveladas en la descripción (ver párrafos [0038]-[0040]).
- Las nuevas reivindicaciones 5 a 7 (anteriores reivindicaciones 6 y 8) han sido modificadas para excluir las frases repetidas innecesariamente y se han removido los ítems (c) y (c').
- Se ha limitado el número de nucleótidos sustituidos, suprimidos, insertados o adicionados en la nueva reivindicación 7, ítem (b'') de 1 a 3.
- Se ha combinado el contenido de las reivindicaciones 11 y 12 (reivindicación modificada 10) y se ha especificado la sustancia funcional, de conformidad con el soporte encontrado en la descripción (ver párrafo [0053]).

Se solicita atentamente tener en cuenta este nuevo pliego reivindicatorio para el análisis de patentabilidad, toda vez que no implica una ampliación de la materia inicialmente solicitada y además permite superar las objeciones comunicadas por el examinador.

2. Claridad de las reivindicaciones

Tal como se indica arriba, las reivindicaciones han sido modificadas para presentar la invención de manera más clara. No obstante, se solicita atentamente tener en cuenta la siguiente información:

En relación con los ítems (b) y (b') en las reivindicaciones modificadas 5 y 6, es relevante poner de presente que no se requiere la mención específica de las mutaciones de los nucleótidos. Lo anterior, por cuanto el aptámero se une a quimasa e inhibe su actividad siempre y cuando tenga la secuencia consenso y pueda formar la estructura secundaria parcial común, como se muestra en las figuras 1 a 3, 5 y 6 (estas figuras muestran la estructura secundaria de las SEQ ID NO: 4, 13, 14, 25, 26, 30 a 32, 34, 38 a 40, 43, 48, 49 y 55 a 57, predichas por el programa mfold). Así, aunque muten 1 a 5 nucleótidos en cualquier posición del aptámero, diferentes a la secuencia consenso, el aptámero mirante resultante debería mantener su habilidad de unión e inhibición de quimasa. Adicionalmente, las SEQ ID NO: 41, 42, 44 a 47 y 50 pueden igualmente formar la estructura parcial secundaria común como se muestra en las figuras adjuntas a este memorial.

En vista de la divulgación de la descripción de la presente invención, una persona del oficio normalmente versada en la materia podría obtener aptámeros que tienen una actividad inhibidora de quimasa, en donde los 1 a 5 nucleótidos son sustituidos, suprimidos, insertados o adicionados, sin experimentos exhaustivos.

CASTELLANOS & Co. LTDA

A B O G A D O S

Calle 94 A No. 7 A - 09

Bogotá, D.C., COLOMBIA

En consecuencia, se considera que las reivindicaciones 5 y 6 son claras.

Ahora bien, aunque la nueva reivindicación 7 no comprende la secuencia consenso, se debe tener en cuenta que la descripción de la presente solicitud predice estructuras secundarias de varios de los aptámeros descritos en (a'') (ver figuras 1 a 3 y 6). Por lo tanto, una persona del oficio normalmente versada en la materia podría modificar fácilmente 1 a 3 nucleótidos en las secuencias del aptámero de manera que se mantengan sus estructuras secundarias características. La estructura secundaria predicha del aptámero modificado puede ser confirmada por un software ampliamente conocido en el arte tal como mfold. Por ejemplo, la SEQ ID NO: 51 (45mer) es una secuencia truncada de la SEQ ID NO: 12 (73mer), la cual contiene los residuos 25 a 69 del clon parental. Como se muestra en la figura 1 y en la figura 6, el aptámero de SEQ ID NO: 51, mantiene una estructura secundaria parcial característica del aptámero parental de la SEQ ID NO: 12. En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia podría producir fácilmente variantes activos de la SEQ ID NO: 12 modificando el clon parental de manera que mantenga dicha estructura secundaria parcial.

En vista de la divulgación de la descripción de la presente invención, una persona del oficio normalmente versada en la materia podría obtener aptámeros que tienen actividad inhibidora de quimasa, en donde los 1 a 3 nucleótidos son sustituidos, suprimidos, insertados o adicionados, sin experimentos exhaustivos.

En consecuencia, se considera que la reivindicación 7 es clara.

3. Análisis de patentabilidad

Para la evaluación de la patentabilidad de la invención, el examinador citó los siguientes documentos:

- D1: "Chymase induces profibrotic response via transforming growth factor- β 1/Smad activation in rat cardiac fibroblasts"
- D2: US 5660985
- D3: WO 2005113786

3.1 Novedad

Afirma el examinador que el aptámero descrito en la reivindicación 1 ya había sido divulgado en el documento D3.

CASTELLANOS & Co. LTDA

A B O G A D O S

Calle 94 A No. 7 A - 09

Bogotá, D.C., COLOMBIA

Sin embargo, contrario a lo afirmado, la reivindicación 1 es novedosa sobre el documento D3, toda vez que dicho documento no revela un aptámero contra quimasa (ver opinión escrita expedida para las solicitudes equivalentes en Europa y Singapur, adjuntadas al presente memorial). El nucleótido antisentido con plegamiento tridimensional no se une a la proteína quimasa sino a una secuencia específica del gen de quimasa formando una estructura triple.

En consecuencia, D3 no revela un aptámero en contra de quimasa sino un llamado "antigen", en contra del gen de quimasa.

En vista de lo anterior, el aptámero de la reivindicación 1 resulta novedoso sobre el estado de la técnica.

3.2 Nivel inventivo

El examinador considera que una persona del oficio normalmente versada en la materia contaba con la sugerencia o motivación razonable para diseñar inhibidores de la actividad de quimasa 1, conociendo su estructura como lo divulga el documento D1 y de diseñar bibliotecas de nucleótidos pegados tridimensionalmente tipo aptámero, como revela D3, para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Por lo anterior, se afirma que la reivindicación 1 es obvia a la luz de dichos documentos.

De otro lado se afirma que la persona del oficio normalmente versada en la materia se encontraba en capacidad de deducir la estructura del sitio activo de quimasa 1, con base en las enseñanzas del documento D3 y de utilizar el método SELEX para obtener bibliotecas de oligonucleótidos con plegamiento específico capaz de inhibir la actividad de la enzima, como se divulga en D2. Por lo tanto, las reivindicaciones 2 y 6 son consideradas obvias.

En este sentido, respetuosamente nos apartamos de la opinión del examinador, toda vez que la presente invención no puede ser considerada obvia a la luz de las enseñanzas del estado de la técnica por las siguientes razones:

Como se mencionó anteriormente, D3 simplemente enseña un oligonucleótido antisentido con plegamiento tridimensional complementario a una secuencia de nucleótidos determinada del gen de la quimasa. Por lo tanto, una persona del oficio normalmente versada en la materia no se hubiese visto motivada a combinar las enseñanzas de D2 y D3.

El examinador puede afirmar que la persona del oficio normalmente versada en la materia podría haber sido motivada para inhibir la actividad de la quimasa sobre la base de las

CASTELLANOS & Co. LTDA

A B O G A D O S

Calle 94 A No. 7 A - 09

Bogotá, D.C., COLOMBIA

enseñanzas de D1, así como a obtener un aptámero de unión a la quimasa para inhibir su actividad utilizando el método SELEX de acuerdo a las enseñanzas de D2.

Sin embargo, ninguna de las referencias de la técnica anterior enseña o sugiere la secuencia de consenso definida en la reivindicación 1 y las secuencias de nucleótidos específicas reivindicadas en la solicitud. Tal como se señala en las opiniones escritas de las solicitudes equivalentes en Europa y Singapur, no hubiera sido evidente para la persona del oficio normalmente versada en la materia llegar a las secuencias específicas, debido a la naturaleza no predecible de la metodología de selección y el diseño y debido al hecho de que ninguna de las técnicas anteriores muestra que los aptámeros contra la quimasa eran producibles en absoluto.

Por lo tanto, incluso si se utiliza el método SELEX, no puede predecirse la obtención de aptámeros que comprenden la secuencia de consenso definida en la reivindicación 1.

Por otra parte, los Examinadores de las opiniones escritas mencionadas alegan que la secuencia de consenso no es una garantía para los aptámeros activos, ya que por lo menos las SEQ ID NO: 20, 22, 28 y 31 a 34 no tienen una unión a quimasa que difiere significativamente de la de secuencia aleatoria completa, a partir de la descripción en el párrafo [0090] y en la Tabla 1.

Puede ser cierto que la descripción señale que las SEQ ID NO: 20, 22, 28 y 31 a 34 tienen una actividad de unión equivalente a la de control 40N. Sin embargo, de manera general se considera que el control 40N no se une a la quimasa ya que es una secuencia aleatoria. De hecho, sin embargo, mostró una actividad de unión débil para la quimasa (véase el párrafo [0090] de la descripción). En el método de determinación de la unión quimasa usando un sensograma Biacore, tal como muestra en la Tabla 1, no se considera el sitio de unión de un aptámero para la quimasa. Por lo tanto, los aptámeros que tienen una actividad de unión a la quimasa equivalente no necesariamente tienen una actividad inhibidora equivalente contra la quimasa.

De hecho, una comparación de 40N con las SEQ ID NOs: 20, 22, 28 y 31 a 34 respecto a la actividad inhibidora frente a la quimasa (Tabla 3 de la descripción) ha revelado que, a pesar de que exhiben una actividad de unión a la quimasa equivalente, las SEQ ID NOs: 20, 22, 28 y 31 a 34 mostraron una fuerte actividad inhibidora frente a la quimasa ($IC_{50} = 0,045-0,282 \mu M$; comparable a la de un inhibidor de quimasa conocido, quimostatina), mientras que el 40N no mostró actividad inhibidora contra la quimasa ($IC_{50} > 0,5 \mu M$) (ver párrafos [0103] a [0105] de la descripción).

CASTELLANOS & Co. LTDA

ABOGADOS

Calle 94 A No. 7 A - 09
Bogotá, D.C., COLOMBIA

En vista de estos resultados de ensayo de Biacore y el ensayo de inhibición de la enzima, es evidente que las SEQ ID NOs: 31, 32 y 34, las cuales tienen la secuencia de consenso de la SEQ ID NO: 21 (así como las SEQ ID NOs: 20, 22, 28 y 33) se une con un sitio activo de la enzima para inhibir su actividad, mientras que el 40N sólo se adhiere a la enzima en una forma no específica. Por lo tanto, la secuencia de consenso garantiza la actividad inhibidora frente a la quimasa de un aptámero que contiene misma.

En consecuencia, el objeto de las nuevas reivindicaciones 1, 5 y 6 implica actividad inventiva.

En cuanto a la nueva reivindicación 7 dirigida a los aptámeros que no tienen la secuencia de consenso, se han eliminado las secuencias que no presentan ninguna actividad inhibidora contra la quimasa (es decir, SEQ ID NO: 7, 10, 16, 27, 29 y 52).

A este respecto, se podría considerar que no hay garantía de que las variantes se definen en (b") tengan actividades de unión y de inhibición a la quimasa, ya que los aptámeros descritos en (a") no la poseen.

Sin embargo, tal como se indicó arriba, la solicitud predice las estructuras secundarias de muchos de los aptámeros descritos en (a") (ver figuras 1 a 3 y 6). Consecuentemente, la persona del oficio normalmente versada en la materia podría haber modificado fácilmente 1 a 3 nucleótidos en las secuencias de aptámero con el fin de conservar su estructura secundaria característica. La estructura secundaria predicha del aptámero modificado se puede confirmar por un software ampliamente conocido tal como mfold.

Por lo tanto, el objeto de la reivindicación 7 también implica una actividad inventiva.

3.3 Conclusión

Teniendo en cuenta los argumentos acá presentados, es posible establecer que la presente invención no sólo es novedosa sino también inventiva sobre el estado de la técnica, superando así las objeciones formuladas por el examinador.

4. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por trece (13) reivindicaciones.
- Figuras que muestran la estructura secundaria parcial común para las SEQ ID NO: 41, 42, 44 a 47 y 50
- Opinión escrita para la solicitud equivalente en Europa

CASTELLANOS & Co. LTDA

A B O G A D O S

Calle 94 A No. 7 A - 09
Bogotá, D.C., COLOMBIA

- Opinión escrita para la solicitud equivalente en Singapur

Señor Director,



Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. 39.779.654 de Bogotá

T.P.A. No. 70.819 del C.S.J.

Calle 94A No. 7A-09 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.

MCA/jm

P2374

RESPUESTA EXAMEN DE FONDO

- 8 SET. 2014

REIVINDICACIONES MODIFICADAS EN RESPUESTA A

EXAMEN DE FONDO

1. Un aptámero que se une a quimasa para inhibir la actividad de quimasa que comprende una secuencia de nucleótidos representada por $X_1GAUAGAN_1N_2UAAX_2$ (SEQ ID NO: 21; cada uno de X_1 y X_2 , sea idéntico o no, es A o G, y cada uno de N_1 y N_2 , sea idéntico o no, es A, G, C, U o T).
2. El aptámero de conformidad con la reivindicación 1, en donde N_1N_2 es GA, GU, GC, UU, GT o CU:
3. El aptámero de conformidad con la reivindicación 1, en donde X_1 y X_2 son ambos A o ambos G.
4. El aptámero de conformidad con la reivindicación 2 ó 3, el cual es modificado o alterado por:
 - (a) modificación de un residuo de azúcar de cada nucleótido por fluoración, O-alquilación, O-arilación, S-alquilación, S-arilación o aminación;
 - (b) la cual una base de ácido nucleico es alterada por alteración de posición 5 de pirimidina, alteración de posición 6- y 8- de purina, alteración con una amina extracíclica, sustitución con 4-tiouridina, o sustitución con 5-bromo o 5-yodo-uracilo;
 - (c) la cual un grupo $P(O)O$ contenido en el aptámero es sustituido con $P(O)S$, $P(S)S$, $P(O)NR_2$, $P(O)R$, $R(O)OR'$, CO o CH_2 o 3'-amina [en donde cada unidad de R o R' es independientemente H o un alquilo sustituido o no sustituido]; o
 - (d) finalizar en 3' o 5', o añadir a un extremo del mismo un polietilenglicol, aminoácido, péptido, dT invertido, ácido nucleico, nucleósidos, Miristoílo, Litocólico-oleílo, Docosanilo, Lauroílo, Estearoílo, Palmitoílo, Oleoílo, Linoleílo, otros lípidos, esteroides, colesterol, cafeína vitaminas, pigmentos, sustancias fluorescentes, agente anticáncer, toxina, enzimas, sustancia radiactiva o biotina.
5. El aptámero de conformidad con la reivindicación 1, que comprende cualquiera de las secuencias de nucleótidos (a) y (b) siguientes:

- (a) una secuencia de nucleótidos seleccionada entre SEQ ID NO: 4, 13, 14, 25, 26, 30-32, 34, 38-50, 53-57, 59-65 y 69-72 (con la condición de que el uracilo puede ser timina); y
- (b) una secuencia de nucleótidos de (a) como se indica arriba, en donde 1 a 5 nucleótidos están sustituidos, suprimidos, insertados o adicionados.

6. El aptámero de conformidad con la reivindicación 1, que comprende cualquiera de las secuencias de nucleótidos (a') y (b') siguientes:

- (a') una secuencia de nucleótidos seleccionada entre SEQ ID NO: 56(1)-56(7), 56(9), 56(11), 56(12), 56(15)-56(52), 61(1), 69(1), 69(2), y 72(1)-72(8) (con la condición de que el uracilo puede ser timina); y
- (b') una secuencia de nucleótidos de (a') como se indica arriba, en donde 1 a 5 nucleótidos están sustituidos, suprimidos, insertados o adicionados.

7. Un aptámero que se une a quimasa para inhibir la actividad de quimasa, que comprende cualquiera de las secuencias de nucleótidos (a'') y (b'') siguientes:

- (a'') una secuencia de nucleótidos seleccionada entre SEQ ID NO: 5, 6, 8, 9, 11, 12, 15, 17-20, 22-24, 28, 33 y 51 (con la condición de que el uracilo puede ser timina); y
- (b'') una secuencia de nucleótidos de (a'') como se indica arriba, en donde 1 a 3 nucleótidos están sustituidos, suprimidos, insertados o adicionados.

8. El aptámero de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, el cual es modificado o alterado por:

- (a) modificación de un residuo de azúcar de cada nucleótido por fluoración, O-alquilación, O-arilación, S-alquilación, S-arilación o aminación;
- (b) la cual una base de ácido nucleico es alterada por alteración de posición 5 de pirimidina, alteración de posición 6- y 8- de purina, alteración con una amina extracíclica, sustitución con 4-tiouridina, o sustitución con 5-bromo o 5-yodo-uracilo;
- (c) la cual un grupo P(O)O contenido en el aptámero es sustituido con P(O)S, P(S)S, P(O)NR₂, P(O)R, R(O)OR', CO o CH₂ o 3'-amina [en donde cada unidad de R o R' es independientemente H o un alquilo sustituido o no sustituido]; o

(d) finalizar en 3' o 5', o añadir a un extremo del mismo un polietilenglicol, aminoácido, péptido, dT invertido, ácido nucleico, nucleósidos, Miristoílo, Litocólico-oleílo, Docosanilo, Lauroílo, Estearoílo, Palmitoílo, Oleoílo, Linoleílo, otros lípidos, esteroides, colesterol, cafeína, vitaminas, pigmentos, sustancias fluorescentes, agente anticáncer, toxina, enzimas, sustancia radiactiva o biotina.

9. El aptámero, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde cada uno de los grupo hidroxilo de las posiciones 2' de los nucleótidos pirimidínicos o nucleóticos de purina respectivos contenidos en el aptámero, sea idéntico o no, se pueden sustituir con un átomo o un grupo seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, un átomo de flúor y un grupo metoxi.

11. Un complejo que comprende el aptámero de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y una sustancia funcional la cual es:

- (a) una sustancia de afinidad seleccionada de biotina, estreptavidina, polinucleótidos que poseen afinidad para la secuencia complementaria blanco, anticuerpos, glutatión sefarosa, histidina,
- (b) sustancias para marcación seleccionada de sustancias fluorescentes, sustancias luminescentes y radioisótopos,
- (c) una enzima seleccionada de peroxidasa de rábano y fosfatasa alcalinas,
- (d) vehículo de administración de fármaco seleccionado de liposoma, microesferas, péptidos y polietilenglicoles), o
- (e) un fármaco seleccionado entre los que se usan en la terapia de misiles, análogos de mostaza nitrogenada, etileniminas, nitrosoureas, agentes alquilantes, antagonistas metabólicos tipo folato, análogos de purina, análogos de pirimidina, alcaloides de la vinca y sus análogos, derivados de podofilotoxina, antracilinas y sus análogos, otros antibióticos citotóxicos, compuestos de platino, pentostatina, miltefosina, estramustina, topotecano, irinotecano y bicalutamida.

11. Un agente farmacéutico que comprende el aptámero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o el complejo de acuerdo con la reivindicación 10.

12. Un método de detectar quimasa, que comprende usar el aptámero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o el complejo de acuerdo con la reivindicación 10.

13. Un método de purificar quimasa, que comprende usar el aptámero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o el complejo de acuerdo con la reivindicación 10.

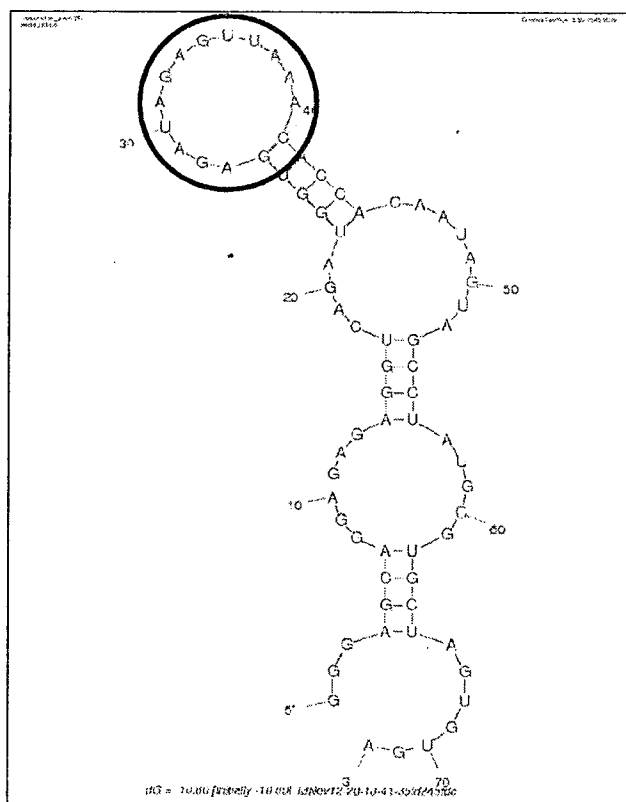
SEQ ID NO: 41:

GGGAGCAGGAGAGAGGUCAGAUGGUGAGAUAGAGUUAACACCACAAUAGUAGCCUAUGCGU
GCUAGUGUGA

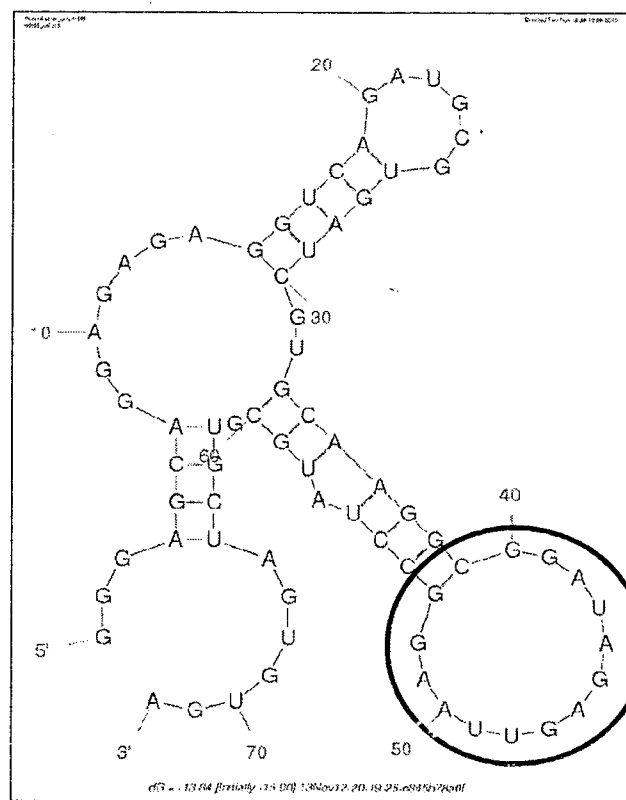
SEQ ID NO: 42:

GGGAGCAGGAGAGAGGUCAGAUGGUGAGAUAGAGUUAACAGGCGGAUAGAGUUAAGGCCUAUGCG
UGCUAGUGUGA

SEQ ID NO: 41



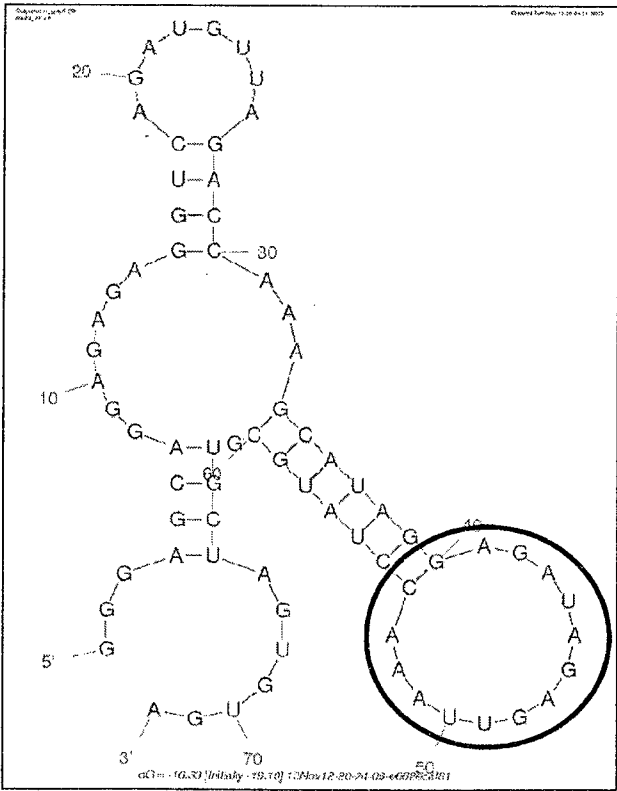
SEQ ID NO: 42



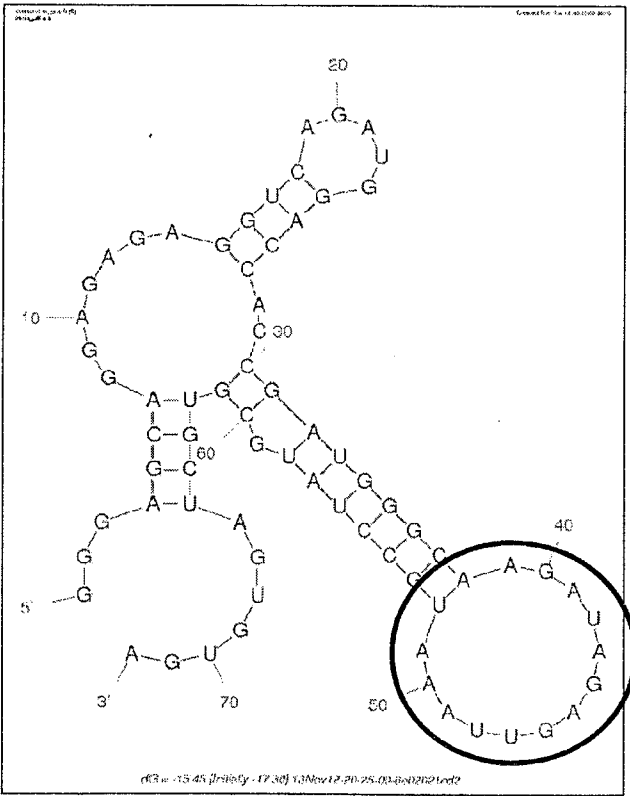
SEQ ID NO: 44:
GGGAGCAGGAGAGAGGUCAGAUGUUAGACCAAAGCAUAGGAGAUAGAGUUAACCUAUGCGU
GCUAGUGUGA

SEQ ID NO: 45:
GGGAGCAGGAGAGAGGUCAGAUGGACCACCGAUGGGCAAGAUAGAGUUAAGCCUAUGCGU
GCUAGUGUGA

SEQ ID NO: 44



SEQ ID NO: 45



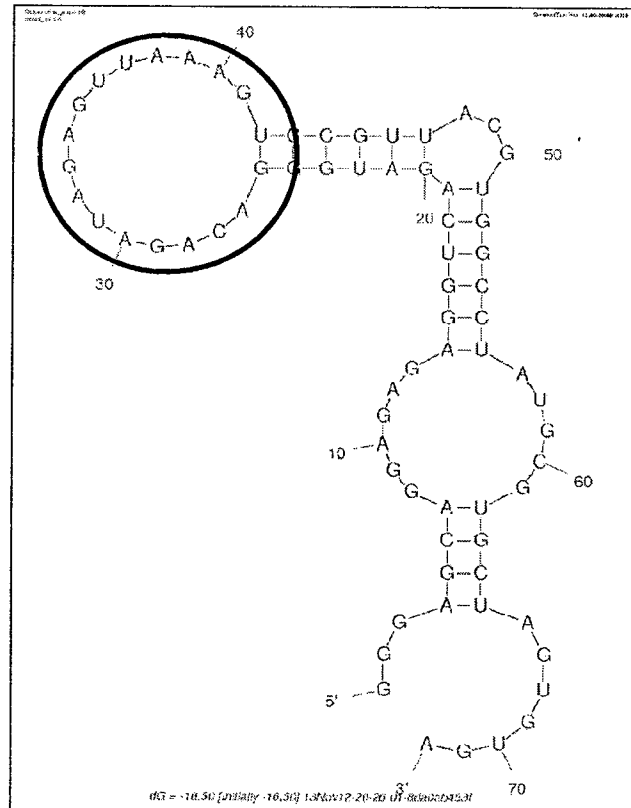
SEQ ID NO: 46:

GGGAGCAGGAGAGAGGUCAGAUGGGACAGAUAGAGUUAAGUCCGUUACGUGGCCUAUGCG
UGCUAGUGUGA

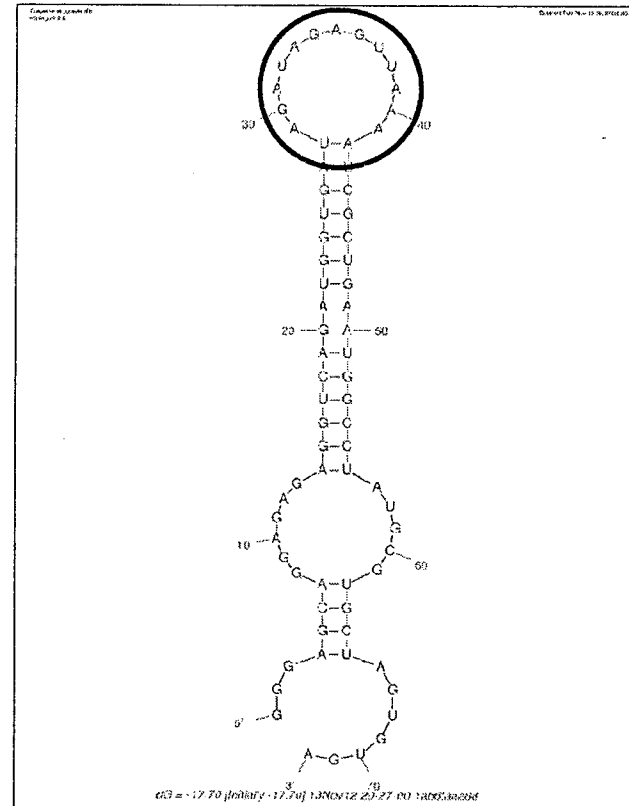
SEQ ID NO: 47:

GGGAGCAGGAGAGAGGUCAGAUGGUGAUAGAUAGAGUUA AAAAUCGCUGAAUGGCCUAUGCG
UGCUAGUGUGA

SEQ ID NO: 46



SEQ ID NO: 47

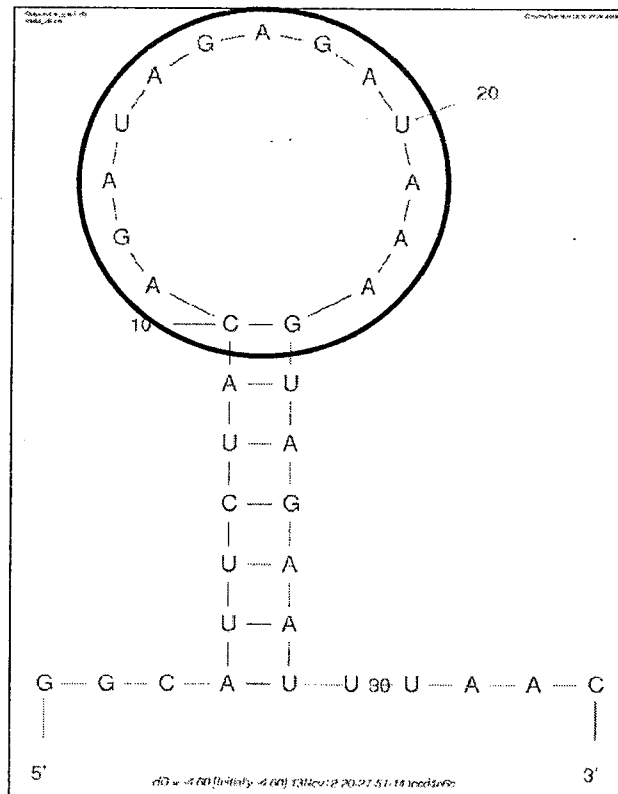


SEQ ID NO: 50:

GGCAUUCUACAGAUAGAGAUAAAGUAGAAUUUAAC

15

SEQ ID NO: 50



15

Datum
Date cf Form 1507
Date

Blatt
Sheet 1
Feuille

Anmelde-Nr:
Application No: 10 786 245.0
Demande n°:

The examination is being carried out on the **following application documents**

Description, Pages

1-82: filed with entry into the regional phase before the EPO

Sequence listings, SEQ ID NO

1-72: filed with entry into the regional phase before the EPO

Claims, Numbers

1-15: filed with entry into the regional phase before the EPO

Drawings, Sheets

1/8-8/8: filed with entry into the regional phase before the EPO

Reference is made to the following documents; the numbering will be adhered to in the rest of the procedure.

- D1: WO 2005/113786 A2 (1 December 2005)
- D2: ANNUAL REVIEW OF MEDICINE: SELECTED TOPICS IN THE CLINICAL SCIENCES, vol. 56, (2005), pages 555-583 [XP009055846]
- D3: CURRENT OPINION IN PHARMACOLOGY, vol. 8, (28 January 2008), pages 147-152 [XP022535295]
- D4: MOL. CELL BIOCHEM., vol. 310, (2008), pages 159-166 [XP019578357]
- D5: EUR. J. CARDIOTHORAC. SURG., vol. 33, (2008), pages 25-31 [XP022394016]

1 AMENDMENTS (Art.123 EPC)

The amendments filed with the entry into the regional phase before the EPO do comply with the requirements of Article 123(2) EPC.

2 **NOVELTY** (Art. 54 EPC)

None of the available prior art documents discloses a chimase-binding aptamer comprising the claimed sequence(s). Hence, the subject-matter of present claims 1-15 is considered as novel in the sense of Art. 54 EPC.

3 **INVENTIVE STEP** (Art. 56 EPC)

- 3.1 The aptamers claimed to bind to chymase and to inhibit its activity are characterised by SEQ ID 21 in claim 1. However, as stated in the application said 'consensus' sequence is not a guarantee for active aptamers (see [0090]). Indeed, when looking at [0090] and Table 1, it is clear that at least SEQ IDs 20,22,28,31-34 do not have a chymase-binding which differs significantly from that of a complete random sequence. Hence, the problem underlying the application cannot be seen to be solved over the whole breadth of the claimed scope, contrary to the requirements of Art. 56 EPC.
- 3.2 However with regard to the specific sequences shown to bind and inhibit chymase, document D1 is considered to be the prior art closest to the subject-matter of the claims as it discloses the inhibition of chymase with various categories of inhibitors, including nucleic acid inhibitors, for treating cardiovascular or fibrotic diseases. A similar teaching can be found in documents D4 and D5, cited in the international search report.
- 3.3 The subject-matter of the claims therefore differs from this known teaching in that aptamers comprising a consensus sequence defined by SEQ ID 21 are use as chymase inhibitors.
- 3.4 The problem to be solved by the present invention may therefore be regarded as the provision of alternative inhibitors of chymase for the treatment of cardiovascular or fibrotic diseases. The solutions proposed being aptamers characterised by comprising SEQ ID 21.

- 3.5 Although, it is well known from the prior art that aptamers are at least as efficient inhibitors as antibodies, that aptamers have been designed to specifically treat cardiovascular or fibrotic disease (see D2 and D3), it would not have been obvious to the skilled person to arrive to the specific sequences, due to the non-predictable nature of the selection and design methodology and due to the fact that none of the prior art has shown that aptamers against chymase were producible at all (see however point 3.1 *supra*).

4 **CLARITY, SUPPORT, DISCLOSURE** (Art. 83 and 84 EPC)

- 4.1 From the objection outlined in point 3.1 *supra* follows that the claimed subject-matter is not properly disclosed such as to allow the skilled person to perform the 'invention' (Art. 83 EPC). Indeed, not only do not all sequences comprising SEQ ID 21 bind significantly to chymase and inhibit its activity, but it is furthermore stated in [0090] that said binding is independent from the presence of SEQ ID 21 in the aptamer.
- 4.2 This lack of disclosure is further increased by the fact that in [0103]-[0105] it is shown and stated that all aptamers comprising SEQ ID 21 have chymase inhibitory activity. In view of this, the skilled person is totally unable to reproduce the invention as claimed presently.
- 4.3 In view of this seemingly great variety and unpredictability of features necessary to achieve the purposed binding and inhibiting properties, it is highly questionable that any alteration of the active sequences, not speaking about sequences of only 70% identity, would not affect said properties. Hence again, the skilled person is faced with an undue burden when trying to reproduce the claimed 'invention'.

1305305037

 DANISH PATENT AND TRADEMARK OFFICE SINGAPORE WRITTEN OPINION	Application No. 201109067-7
--	---------------------------------------

Date of mailing: 17 MAJ 2013	DKPTO SE No. SE 2012 02311D	REPLY DUE: within FIVE MONTHS of the date of the Registrar's letter enclosing the written opinion	
Applicant's or agents file reference 1101138PAT/RIBOMIC/MN/SFQ/ELY		Application filing date 11/06/2010	Priority date 11/06/2009
International Patent Classification (IPC)			
Int. Cl. C12N 15/115 (2010.01), A61K 31/7088 (2006.01), A61P 9/00 (2006.01), A61P 19/04 (2006.01), A61P 43/00 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01)			
Applicant: RIBOMIC INC. (JP); OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)			

1. This first written opinion consists of a total of 10 sheets.
2. This opinion contains indications relating to the following items:

- | | | | |
|------|-------------------------------------|---|---|
| I | ☒ | Basis of the opinion | 
175175 |
| II | ☒ | Priority | |
| III | ☐ | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial | |
| IV | ☐ | Lack of unity of invention | |
| V | ☒ | Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; Citations and explanations supporting such statement | |
| VI | ☐ | Certain documents cited | |
| VII | ☐ | Certain defects in the application | |
| VIII | ☒ | Certain observations on the application | ZZ:17MAY 07:43W07 0001
1905 20MAY13 AM11:22 |

3. The search report was issued by the Japanese Patent Office, and the date of completion is 01/07/2010.
4. If no reply is filed, the examination report will be established on the basis of this opinion.
5. The date by which the examination report will be established is: 11/03/2014.

Date of submission of the request to the Danish Patent and Trademark Office: 14/09/2012	Date of Written Opinion: 15/04/2013
Name and mailing address Danish Patent and Trademark Office Helgeshøj Allé 81 2630 Taastrup Denmark Tel. No.: +45 4350 8000 Fax No.: +45 4350 8001	Authorized Officer Tine Haarmark Nielsen



ACTION

I. Basis of the opinion

1. This opinion has been drawn on the basis of:

- ☒ The application as originally filed.
- ☐ The description, pages, as originally filed,
 pages, filed with the request (and dated.....)
 pages,.....with the letter of(dated.....)
- ☐ The claims, pages, as originally filed,
 pages, filed with the request (and dated.....)
 pages,.....with the letter of(dated.....)
- ☐ The drawings, sheets/fig, as originally filed,
 sheets/fig, filed with the request (and dated.....)
 sheets/fig, received onwith the letter of
- ☐ The sequence listing part of the description:
 pages, as originally filed,
 pages, filed with the request (and dated.....)
 pages,.....with the letter of(dated.....)
- ☐ Applicants reply dated.....

2. The amendments have resulted in the cancellation of: pages:

 sheets of drawings/figures no.

3. ☐ This opinion has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the supplemental box.

4. Additional observations, if necessary:

This written opinion is based on both the International Search Report for WO 2010143714 and the Supplementary European Search Report (ESR) for the corresponding EP 2441833. The following documents disclosed in the ESR are enclosed in this written opinion:

WO 2005113786 A2 (BAYER HEALTHCARE AG [DE]) 01/12/2005

NIMJEE, S. M. et al.: "APTAMERS: AN EMERGING CLASS OF THERAPEUTICS", ANNUAL REVIEW OF MEDICINE : SELECTED TOPICS IN THE CLINICAL SCIENCES, Vol. 56, 2005, pages 555-583

KEEFE, A. D. et al.: "Aptamers as candidate therapeutics for cardiovascular indications", CURRENT OPINION IN PHARMACOLOGY, Vol. 8, No. 2, published online 28/01/2008, pages 147-152

Moreover, the provided English translation of the Japanese document MIYAGAWA et al (2008) has been taken into account.

II. Priority

- ☒ This report is based upon the assumption that the priority claim is valid
- ☐ This report has been established in consideration of the claimed priority dated
- ☐ This written opinion has been established as if no priority had been claimed due to the failure to furnish within the prescribed time limit the requested
- ☐ copy of the earlier application whose priority has been claimed.
- ☐ translation of the earlier application whose priority has been claimed.
- ☐ This written opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claims has been found invalid.
Thus for the purposes of this written opinion, the filling date indicated above is considered to be the relevant date.
- ☐ Additional observations relating to the priority, if necessary:

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step, or to be industrially applicable have not been and will not be examined in respect of:

☐ the entire application,

☐ claims no.'s:

because

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims no.'s are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims no.'s are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed:

☐ no search report has been established for said claim no.'s

IV. Lack of unity of invention

There are multiple inventions in this application, as follows:

1. Consequently, only the parts relating to claims no's..... of the application were the subject of examination in establishing this opinion.

V. Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement.

1. Statement:

Novelty	YES	Claims 1-19
	NO	Claims
Inventive step	YES	Claims
	NO	Claims 1-19
Industrial applicability	YES	Claims 1-13, 15-19
	NO	Claims 14

2. Citations and explanations:

D1-D3 are from the corresponding European Search Report; D4-D6 are from the International Search Report.

(D1) WO 2005/113786 A2 (BAYER HEALTHCARE AG [DE]) 01/12/2005

(D2) NIMJEE, S. M. et al.: "APTAMERS: AN EMERGING CLASS OF THERAPEUTICS", ANNUAL REVIEW OF MEDICINE: SELECTED TOPICS IN THE CLINICAL SCIENCES, Vol. 56, 2005, pages 555-583

(D3) KEEFE, A. D. et al.: "Aptamers as candidate therapeutics for cardiovascular indications", CURRENT OPINION IN PHARMACOLOGY, Vol. 8, No. 2, published online 28/01/2008, pages 147-152

(D4) ZHAO, XIAO-YAN et al.: "Chymase induces profibrotic response via transforming growth factor- β 1/Smad activation in rat fibroblasts", MOLECULAR CELL BIOCHEMISTRY (2008), Vol. 310, pages 159-166

(D5) KANEMITSU, H. et al.: "Chronic chymase inhibition preserves cardiac function after left ventricular repair in rats", EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY (2008), Vol. 33, pages 25-31.

(D6) English translation of MIYAGAWA, S. et al.: "Development of RNA aptamers for therapeutics", DRUG DELIV. SYST. (2008), Vol. 23, No. 5, pages 534-543

D1 discloses chymase (CMA1) inhibitors such as antisense molecules or an RNA molecule (page 4, lines 24-28; page 6, lines 27-29; page 27, line 5 – page 28, line 13; claim 21). Moreover, the therapeutic use of CMA1 regulators are described (claim 21).

D2, D3 and D6 describe the development of aptamers for therapeutic use. D2 discloses a list of aptamers which have antiviral, anticoagulating, antiangiogenesis, anti-inflammatory, antiproliferative or immune modulating effect (D2: whole document). D3 describes aptamers that are anticoagulant, antithrombotic or anti-adhesion aptamers and thus can be used for cardiovascular indications (see whole document).

Continued in the Supplementary Box.

VI. Certain documents cited				
1. Certain published documents:				
Category	Publication no. Patent no.	publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
2. Non-written disclosures				
Kind of non-written disclosure	Date of non-written disclosure (day/month/year)	Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)		

VII. Certain defects in the application

The following defects in the form or contents of the application have been noted:

VIII. Certain observations on the application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The claimed subject matter is not properly disclosed such as to allow the skilled person to perform the invention. Not only do not all the sequences comprising SEQ ID NO:21 bind significantly to chymase and inhibit its activity, but it is furthermore stated in [0090] that said binding is independent from the presence of SEQ ID NO:21 in the aptamer. This lack of disclosure is further increased by the fact that in [0103]-[0105] it is shown and stated that all aptamers comprising SEQ ID NO: 21 have chymase inhibitory activity. In view of this, the skilled person is totally unable to reproduce the invention as claimed presently.

In view of this seemingly great variety and unpredictability of features necessary to achieve the purposed binding and inhibiting properties, it is highly questionable that any alteration of the active sequences, not speaking about sequences of only 70% identity, would not affect said properties. The skilled person is faced with an undue burden when trying to reproduce the claimed invention.

- ☒ The claimed invention is patentable according to section 13(2) of SG Patents Act.
- ☐ The claimed invention is unpatentable according to Section 13(2) of SG Patents Act,
- In case of divisional application filed under section 20(3) or 47(4) or as mentioned in section 26(6) with a date of filing on or after 1 July 2004:
- ☐ The application complies with section 84(1) of SG Patents Act.
- ☐ The application does not comply with section 84(1) of SG Patents Act, and comments on the additional matter are in the supplemental box.

Supplemental Box (To be used when the space in any of Boxes I to VIII is not sufficient)
Continuation of Box V: D4 and D5 describe the effect of chymase inhibition with two different chymase inhibitors (see the whole documents). <u>Novelty:</u> The subject matter of claims 1-19 is not described in the prior art documents D1-D6 and is therefore novel. <u>Inventive step:</u> Claim 1 concern an aptamer that binds to chymase to inhibit a chymase activity. The subject matter of claim 1 differs from the closest prior art D1 in that the chymase inhibitor is an aptamer. However, it would be obvious for a person skilled in the art to combine the knowledge of chymase inhibition disclosed in D1 with the knowledge of aptamers as inhibitors described in D2, D3 and D6. Accordingly, an inventive step cannot be acknowledged for the subject matter of claim 1. Claim 2 defines the chymase inhibiting aptamer to comprise SEQ ID NO: 21. This sequence comprises a consensus sequence. However, as stated in the application, said consensus sequence is not a guarantee for active aptamers (see [0090]). In fact, when looking at [0090] and Table 1, it is clear that at least SEQ ID NO: 20, 22, 28, 31-34 do not have a chymase-binding which differs significantly from that of a complete random sequence. Hence, the problem underlying the problem cannot be seen to be solved over the whole breadth of the claimed scope. Thus, an inventive step cannot be acknowledged for the whole scope of claim 2. The same applies mutatis mutandis for claims 3-19. With regard to the specific sequences shown to bind and inhibit chymase; Although, it is well known in the prior art that aptamers are at least as efficient inhibitors as antibodies, that aptamers have been designed to specifically treat cardiovascular or fibrotic disease (see D2 and D3), it would not have been obvious to the skilled person to arrive to the specific sequences, due to the non-predictable nature of the selection and design methodology. <u>Industrial Applicability:</u> Industrial applicability is acknowledged for the subject matter of claims 1-13 and 15-19. Claim ¹⁴13 concerns the pharmaceutical composition of claim ¹³14 "which is used to prevent or treat a cardiovascular or fibrotic disease". Claim ¹⁵15 may therefore be directed to a method of treatment of the human/animal body. Consequently, the subject matter of the claim is not industrial applicable, cf. Patents Act section 16(2).