

CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

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

Teléfono: (57-1) 347 3611
Telefax: (57-1) 211 8650
(57-1) 700 4814
Fax in U.S.A.: (1-305) 675 7743

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-121211- -00015-0000

Fecha: 2012-10-19 16:16:18 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 412 REPOSPRESRECU Folios: 23

Señor Director
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Trámite : 011
Evento : 378
Actuación : 444

Referencia : Expediente No. 06.121.211
Asunto : Solicitud de patente para: **COMBINACIÓN QUE
COMPRENDE UN INHIBIDOR DE PDE4 Y UN
ANTAGONISTA DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS M3
EL CUAL ES 3(R)-(2-HIDROXI-2,2-DITIEN-2-ILACETOXI)-
1-(3-FENOXIPROPIL)-1-AZONIABICICLO [2.2.2]OCTANO**
Solicitante : LABORATORIOS ALMIRALL, S.A.
Clase : A61K 031/137, A61K 031/167, A61K 031/434,
Fecha de Solicitud : 30 de noviembre de 2006

I. RECURSO VÍA GUBERNATIVA

Yo, Luz Clemencia DE PÁEZ, en mi condición de apoderada de la sociedad **LABORATORIOS ALMIRALL, S.A.** solicitante de la patente de la referencia, por el presente escrito atentamente manifiesto a usted que debidamente notificada de la Resolución No. **49975** del 24 de agosto de 2012, interpongo en su contra el recurso de **REPOSICIÓN**, para que sea revocada y en consecuencia se conceda el privilegio de patente de invención para **"COMBINACIÓN QUE COMPRENDE UN INHIBIDOR DE PDE4 Y UN ANTAGONISTA DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS M3 EL CUAL ES 3(R)-(2-HIDROXI-2,2-DITIEN-2-ILACETOXI)-1-(3-FENOXIPROPIL)-1-AZONIABICICLO [2.2.2]OCTANO"** a favor de **LABORATORIOS ALMIRALL, S.A.**

II. OPORTUNIDAD DE LA IMPUGNACIÓN

La Resolución No. **49975** del 24 de agosto de 2012, fue publicada mediante listado único fijado el once (11) de septiembre de dos mil doce (2012) y con vencimiento del once (11) de octubre de 2012, por lo que el término para interponer el recurso de reposición vence el

diecinueve (19) de octubre de dos mil doce (2012). En consecuencia, me encuentro dentro de la oportunidad legal.

III. LA DECISIÓN RECURRIDA

3.1 Mediante la Resolución objeto de la presente impugnación, el Superintendente de Industria y Comercio decidió:

3.1.1 Denegar la patente de invención a la creación titulada: **“COMBINACIÓN QUE COMPRENDE UN INHIBIDOR DE PDE4 Y UN ANTAGONISTA DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS M3 EL CUAL ES 3(R)-(2-HIDROXI-2,2-DITIEN-2-ILACETOXI)-1-(3-FENOXIPROPIL)-1-AZONIABICICLO [2.2.2]OCTANO”**

3.2 En la parte motiva de la providencia, se mencionaron los siguientes fundamentos:

3.2.1 “Los documentos D1 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1, porque divulgan composiciones que comprenden un antagonista de receptores muscarínicos M3 y un inhibidor de PDE-4.

3.2.2 “El documento D1 revela el compuesto bromuro de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabicclo[2.2.2]octano (Pág. 8, líneas 13 y 14) y su uso como anticolinérgico en el tratamiento de enfermedades pulmonares como EPOC, y sugiere su uso en combinación con inhibidores de PDE4 (Pág. 1 líneas 19-21 y Pág. 77 líneas 21-22).

3.2.3 “El documento D2 divulga composiciones farmacéuticas para administración tópica en el pulmón las cuales contienen una combinación de un inhibidor de PDE4 (roflumilast o AWD-12-281 o sus sales farmacéuticamente aceptables) y un agente anticolinérgico (tiotropio, ipratropio u oxatropio o sus sales farmacéuticamente aceptables) (reivindicaciones 1-6) con una proporción en peso de 1 a 2 que es de 1:250 a 40:1 (reivindicación 7, Pág. 47-48). El documento revela que la combinación de un agente anticolinérgico y un inhibidor de PDE-4 produce un efecto sinérgico, y que las combinaciones de éstos se pueden emplear con una dosificación menor que la que se presenta en el caso de una monoterapia (Pág. 1 líneas 17-25).

- 3.2.4 “La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1, y la composición de D1 consiste en que el documento D1 no revela específicamente una composición que contenga el compuesto bromuro de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano y 3-(ciclopropilmetoxi)-N-(3,5-dicloro-4-piridinil)-4-(difluorometoxi)-benzamida (roflumilast), pero si establece que los antagonistas de receptores muscarínicos como el bromuro de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano se pueden usar en combinación con inhibidores de PDE4.
- 3.2.5 “La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y la composición de D2 consiste en que la composición de D2 contiene tiotropio, ipratropio u oxatropio en lugar de bromuro de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano.
- 3.2.6 “Asimismo, no se evidencia un efecto técnico inesperado logrado por el hecho de incluir el compuesto bromuro de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano en las composiciones reveladas en el documento D2, porque dicho documento ya enseñaba que la combinación de un agente anticolinérgico y un inhibidor de PDE-4 produce un efecto sinérgico, Adicionalmente, el ensayo presentado por la solicitante, realizado con tiotropio y roflumilast también presenta una amplia variabilidad (debida al tamaño pequeño de la muestra) y no permite concluir adecuadamente acerca de la carencia de sinergia entre los dos compuestos, por lo tanto no controvierte lo afirmado en el documento D2 que afirma que dicha combinación es sinérgica.
- 3.2.7 “Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿cómo modificar la composición conocida en D2 para obtener una composición alternativa que combine un antagonista de PDE-4 con un inhibidor de los receptores muscarínicos M3?.
- 3.2.8 “Sin embargo, el documento D1 revela el compuesto bromuro de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano y sugiere su uso en combinación con inhibidores de PDE-4.
- 3.2.9 “En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, se vería motivada por lo revelado en el documento D1 a cambiar el antagonista de receptores

muscarínicos (tiotropio, oxatropio o ipratropio) de la composición revelada en D2 por el compuesto bromuro de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano que presenta la misma actividad y el cual ya había sido sugerido en el documento D1 para ser usado en combinación con inhibidores de PDE4.

3.2.10 "Adicionalmente, el efecto generado por la combinación de un antagonista de receptores muscarínicos y un inhibidor de PDE-4 ya había sido divulgado previamente pues en dicho documento se establece la combinación de tres diferentes antagonistas de receptores muscarínicos con una amplia variedad de inhibidores de PDE-4, por lo cual, se considera que el objeto reclamado se deriva de lo revelado previamente en el estado de la técnica.

3.2.11 "Ahora bien, puesto que la reivindicación dependiente 2 no menciona características adicionales, se considera que tal reivindicación tampoco tiene nivel inventivo.

IV. OBJETO DEL RECURSO

De acuerdo con los argumentos que expongo a continuación, solicito atentamente a su Despacho lo siguiente:

1. Revocar la Resolución No. **49975** del 24 de agosto de 2012.
2. Conceder el privilegio de patente de invención para **"COMBINACIÓN QUE COMPRENDE UN INHIBIDOR DE PDE4 Y UN ANTAGONISTA DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS M3 EL CUAL ES 3(R)-(2-HIDROXI-2,2-DITIEN-2-ILACETOXI)-1-(3-FENOXIPROPIL)-1-AZONIABICICLO [2.2.2]OCTANO"** a favor de **LABORATORIOS ALMIRALL, S.A.**

V. FUNDAMENTOS DEL RECURSO

Respetuosamente me permito disentir de lo expuesto por ese Despacho en la Resolución objeto del presente recurso, toda vez que la presente solicitud sí cumple con el requerimiento de nivel inventivo exigido en la Decisión 486, como se demostrará a continuación:

5.1 La presente solicitud sí tiene nivel inventivo

A pesar de lo anterior y con el fin de demostrar que la presente solicitud cumple no sólo con el requerimiento de novedad (como se demostró en respuesta al oficio No. 57) sino también con el requerimiento de nivel inventivo, se pone de presente lo siguiente:

El artículo 18 de la Decisión 486 señala lo siguiente:

Artículo 18.- Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica.

Consecuentemente, una invención se considerará inventiva si la misma no hubiese resultado obvia a partir del arte previo, para una persona del oficio normalmente versada en la materia. Esto a su vez implica que el Examinador a cargo de esta evaluación debe colocarse en el momento exacto en el que el inventor buscaba resolver el problema técnico contemplado en la solicitud y para el cual poseía la literatura y el conocimiento disponibles en dicho momento.

Siguiendo entonces los lineamientos de la Jurisprudencia aplicable al análisis del nivel inventivo de una solicitud de patente, se considera que una anterioridad o una combinación de dos anterioridades puede afectar dicho requerimiento de patentabilidad, si una persona medianamente versada en la materia encuentra enseñanzas o sugerencias claras que, a partir de un conocimiento medio en dicho campo, le permitan llegar de manera obvia a la invención reivindicada. Adicionalmente se considera que una mejora sustancial, un efecto inesperado o una ventaja con respecto al arte previo es un indicio de nivel inventivo, por cuanto aporta un salto tecnológico en la regla técnica.

Respecto a lo anterior, el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina ha expuesto en la Interpretación Prejudicial del proceso 13-IP-2010:

"En este orden de ideas, se puede concluir que una invención goza de nivel inventivo cuando a los ojos de un experto medio en el asunto de que se trate, se necesita algo más que la simple aplicación de los conocimientos técnicos en la materia para llegar a ella, es decir, que de conformidad con el estado de la técnica el invento no es consecuencia clara y directa de dicho estado".

[señalado fuera del texto]

Por lo anterior, se entiende que para que una persona medianamente versada en la materia pudiera derivar de manera obvia una invención, requeriría simplemente aplicar sus conocimientos técnicos. En contraste, todo aquello que va más allá de la simple aplicación de los conocimientos técnicos y que no ha sido revelado en el estado de la técnica, debe ser considerado inventivo.

A este respecto, respetuosamente manifestamos nuestro desacuerdo con el análisis llevado a cabo por el Examinador y con las conclusiones del mismo y solicitamos atentamente la reconsideración de las razones por las cuales se decidió negar la patente, con base en la siguiente información:

La presente invención hace referencia a una composición farmacéutica que comprende una combinación específica de sustancias activas que provee una mejora sorprendente en relación con la broncodilatación. En particular, este efecto ventajoso se logra con la combinación específica de un inhibidor de PDE-4 (roflumilast) con un antagonista del receptor muscarínico M3 específico. El antagonista del receptor muscarínico M3 específico se define en la reivindicación 1 de la presente solicitud como una sal de 3(R)-(2-hidroxi-2,2-ditien-2-ilacetoxi)-1-(3-fenoxipropil)-1-azoniabiciclo[2.2.2]octano. Este compuesto ha sido asignado con INN aclidinio.

El efecto mejorado broncodilatador que surge cuando estos dos compuestos se combinan es evidente a partir de los resultados anteriormente presentados, los cuales se adjuntan nuevamente para mejor referencia. La Prueba Experimental 1 muestra los resultados obtenidos para cerdos de nueva guinea Dunkin-Hartley machos, a los cuales se les administró una combinación de: (a) bromuro de aclidinio y (b) roflumilast. Se ha encontrado que esta combinación de sustancias activas fue significativamente más activa que el valor esperado para la evaluación de la actividad de las monoterapias correspondientes. Los resultados reportados en la Prueba Experimental 1 muestran lo siguiente:

- El bromuro de aclidinio administrado de manera individual logró un 23% de inhibición de la broncoconstricción
- El Roflumilast administrado de manera individual tuvo un efecto insignificante sobre la inhibición de la broncoconstricción.
- Sin embargo, cuando las dos sustancias activas se administraron juntas, hubo un aumento significativo de 38% de inhibición de la broncoconstricción.

Como se explica en la descripción de la invención, la mejora en la broncodilatación que proviene de la terapia de combinación tiene además la ventaja de lograr un efecto terapéuticamente útil empleando concentraciones inferiores de cada componente activo. Esto, a su vez, permite que los efectos secundarios del medicamento sean minimizados.

Ahora bien, el Examinador afirma en la Resolución acá impugnada lo siguiente:

“Adicionalmente, el ensayo presentado por la solicitante, realizado con tiotropio y roflumilast también presenta una amplia variabilidad (debida al tamaño pequeño de la muestra) y no permite concluir adecuadamente acerca de la carencia de sinergia entre los dos compuestos”

[subrayado fuera del texto]

En este sentido es relevante apreciar que el aumento en la inhibición de la broncoconstricción observado en la Prueba Experimental 1 es estadísticamente significativo. Esto se explica con mayor detalle en la Declaración adjunta, preparada por el Dr. Gavaldà. Por lo tanto, la posición del examinador en relación con el tamaño de muestra es infundada. Teniendo en cuenta que ya tenemos un resultado estadísticamente significativo, no sería ético ampliar el tamaño de la muestra empleando más animales. Eso podría causar un sufrimiento adicional innecesario a los animales.

Para la persona medianamente versada en la materia resulta de gran importancia el hecho que el efecto terapéutico mejorado indicado anteriormente no se observa con otros antagonistas de receptores muscarínicos M3. Lo anterior se demuestra con la Prueba Experimental 2 (ver documento adjunto) en donde se reportan los resultados de las pruebas realizadas con una combinación de tiotropio (un antagonista del receptor muscarínico M3 líder en el mercado) y roflumilast. Los resultados demuestran claramente que la combinación de tiotropio y roflumilast no proporcionó ninguna protección incrementada contra la broncoconstricción inducida por ACh, en comparación con tiotropio de manera individual. En efecto, cuando el tiotropio se combinó con roflumilast, se observó una reducción en la inhibición de la broncoconstricción, en comparación con el efecto observado con tiotropio solo.

De nuevo, al igual que para la Prueba Experimental 1, es importante apreciar que los resultados en la Prueba Experimental 2 son estadísticamente significativos. Esto se explica con mayor detalle en la Declaración adjunta preparada por el Dr. Gavaldà. En consecuencia, la posición del examinador en relación con el tamaño de muestra es infundada.

También es importante tener en cuenta los diferentes mecanismos de acción de los antagonistas de M3 y de los inhibidores de PDE4. Los antagonistas de M3 son una clase de sustancias activas conocidas que tienen eficacia en broncoprotección. Por esta razón, la inhibición de la broncoconstricción se observa cuando el aclidinio se administra de manera individual. En contraste, el roflumilast es un inhibidor de PDE4. Los inhibidores de PDE4 son una clase de sustancias activas conocidas por tener actividad anti-inflamatoria, pero no son generalmente activos en la consecución de broncoprotección. En el curso normal de acontecimientos, la administración de un inhibidor de PDE4 no inhibe la broncoconstricción generada con acetilcolina. Esto se confirma por el cambio insignificante en la broncoconstricción observado cuando el roflumilast se administra solo.

Por tanto, es muy sorprendente que la combinación de aclidinio y roflumilast resulte en una inhibición de la broncoconstricción incrementada, sobre la observada con aclidinio solo. Dado que roflumilast tiene actividad insignificante en este modelo cuando se administra como monoterapia, es un resultado sorprendente y sinérgico observar que el roflumilast potencia de forma significativa la actividad broncoprotectora del aclidinio.

Actividad inventiva sobre D1 y D2

D1 describe un alto número de compuestos como nuevos antagonistas de M3, incluyendo bromuro de aclidinio. Sin embargo, como ha reconocido el examinador, D1 no describe la combinación específica de aclidinio y roflumilast. De hecho, D1 ni siquiera menciona roflumilast.

Además, el efecto mejorado broncoprotector discutido anteriormente no se describe en D1. Por lo tanto, no existe ninguna motivación a partir de D1 que lleve a la persona medianamente versada en la materia a combinar el compuesto específico aclidinio con roflumilast, para producir una broncodilatación mejorada, como se describe arrina.

De otro lado, el documento D2 no revela el aclidinio. D2 claramente por lo tanto no puede proporcionar ninguna sugerencia sobre un efecto broncoprotector mejorado generado por la combinación de aclidinio con roflumilast. Además, como ha señalado el Examinador, D2 sólo describe combinaciones de inhibidores de la PDE4 con el antagonista M3 específico tiotropio. Aunque hay referencias especulativas sobre sinergia en D2, no hay datos experimentales que confirmen dicho efecto sinérgico. Esto también se discute en la Declaración adjunta.

En contraste, los resultados reportados en las pruebas experimentales 1 y 2 establecen claramente que la combinación reivindicada de aclidinio y roflumilast logra una broncoprotección mejorada, en comparación con la combinación de tiotropio enseñada en D2. Por consiguiente, independientemente de cualquier referencia especulativa respecto a la sinergia en D2, la combinación reivindicada en la presente solicitud logra un efecto técnico sorprendente sobre D2, es decir, una broncoprotección mejorada. No hay ninguna sugerencia en D2 o D1 que indique que tal mejora pudiera surgir con las composiciones farmacéuticas específicas reivindicadas.

En conclusión, los resultados estadísticamente significativos reportados en las pruebas experimentales 1 y 2 establecen claramente que hay un efecto sorprendente técnico asociado con el objeto reivindicado, que no es obvio a partir de D1 o D2. La composición que se especifica en las reivindicaciones por lo tanto implica una actividad inventiva.

Por todo lo anterior, se solicita considerar atentamente los argumentos, las pruebas experimentales y la declaración que de adjuntan a este escrito, los cuales son pruebas fehacientes de la actividad inventiva de la combinación reivindicada.

5.2 Conclusión

El documento D1, el documento D2 o su combinación, no resultan anterioridades válidas capaces de afectar el nivel inventivo de la combinación de la presente solicitud.

Por lo tanto, consideramos que el Examinador está pasando por alto el hecho de que el inventor en el momento de solucionar el problema técnico de la solicitud tuvo que emplear habilidad inventiva, pues la presente invención no resulta de la mera extrapolación de las enseñanzas del arte previo, como se afirma. Se está desconociendo el mérito investigativo empleado y que está aportando una ventaja al arte previo.

Dicho mérito investigativo ha sido reconocido por distintas oficinas internacionales de patentes, quienes han otorgado el privilegio de patente para una invención equivalente. Tal es el caso de las oficinas de patentes indicadas a continuación:

País	Número de solicitud	Situación	Número de patente
Europa	07019644.9	Concedida el 21-07-2010	EP 1 891 973 B1

Japón	2007-513835	Aceptada el 16-10-2012	
Australia	2005247103	Concedida el 10-02-2011	AU 2005247103
Canadá	2568566	Aceptada el 10-08-2012	
Hong Kong	08102601.9	Concedida el 08-10-2010	HK 1108388
Indonesia	W-00 2006 03369	Concedida el 23-09-2011	ID P0029178
Israel	179689	Concedida el 30-05-2012	IL 179689
México	PA/A/2006/013847	Concedida el 10-09-2010	MX 278949
Nueva Zelanda	551668	Concedida el 07-10.2010	NZ 551668
Federación Rusa	2006142331	Concedida el 27.11.2009	RU 2373935
Singapur	200903616-1	Notificación de aceptación el 30-07-2012	
Sud África	2006/09990	Concedida el 27.12.2007	ZA 2006/09990
Ucrania	A200612580/M	Concedida el 11.01.2010	UA 89183

Por todo lo anterior, consideramos que la presente solicitud cumple a cabalidad con los requerimientos de patentabilidad exigidos por la legislación actual, por lo que atentamente solicitamos en consideración lo siguiente:

VI. PETICIÓN

Por todo lo anterior, solicito a ese Despacho lo siguiente:

- 6.1 Que al considerar las razones precedentes se revoque la decisión contenida en la Resolución No. **49975** del 24 de agosto de 2012, en cuanto resuelve negar el privilegio de patente de invención.
- 6.2 Que se otorgue el privilegio de patente de invención para: que sea revocada y en consecuencia se conceda el privilegio de patente de invención para **“COMBINACIÓN QUE**

COMPRENDE UN INHIBIDOR DE PDE4 Y UN ANTAGONISTA DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS M3 EL CUAL ES 3(R)-(2-HIDROXI-2,2-DITIEN-2-ILACETOXI)-1-(3-FENOXIPROPIL)-1-AZONIABICICLO [2.2.2]OCTANO” a favor de LABORATORIOS ALMIRALL, S.A.

VII. NOMBRE Y DIRECCIÓN

El nombre y la dirección de la solicitante recurrente son los siguientes:

LABORATORIOS ALMIRALL, S.A.

Ronda del General Mitre 151,

08022

Barcelona

España

VIII. NOTIFICACIONES

Atentamente manifiesto a usted que recibiré notificaciones en la Secretaria de su Despacho o en mi oficina de abogada situada en la Carrera 4ª. No. 72-35, piso 4°, de esta ciudad de Bogotá, D.C.

IX. ANEXOS

9.1 Anexo: Resultados Experimentales

9.2 Declaración sobre la patentabilidad de la solicitud preparada y firmada por el Dr. Amadeu Gavalda

Señor Superintendente,


LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ

C.C. 35.456.344 de Usaquén

T.P.A. No. 23.555

✓ COLO-06734-0845-008-0

COLO-11194-841-017-5

JMS\JMS\ID-228280\WPCL6734

No. M-2012-228280\JMS

ANEXO: RESULTADOS EXPERIMENTALES

- PRUEBA EXPERIMENTAL 1-

EFFECTOS SOBRE LA BRONCOCONSTRICCIÓN INDUCIDA CON ACETILCOLINA DE BROMURO DE ACLIDINIO, ROFLUMILAST Y SU COMBINACIÓN ADMINISTRADOS POR INHALACIÓN A CERDOS DE GUINEA

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Cerdos de nueva guinea Dunkin-Hartley machos (400-600g) fueron obtenidos de Harlan (Interfauna Ibérica, Sant Feliu de Codines, España). Los animales fueron divididos en grupos de cuatro a cinco a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad 40-70% con ciclos de aire (10 por hora) y durante 12 horas de ciclo claro/oscuro. Los animales fueron alimentados con una dieta de mantenimiento para cerdos de guinea, suplementada con vitamina C (SAFE 114, SAFE, Francia) y se les permitió beber *ad libitum*. Se dejó un periodo de aclimatización de 5 días antes de analizar los animales. Todos los experimentos se llevaron a cabo con la aprobación del Comité de Ética Animal.

Químicos

Los productos empleados en este estudio fueron obtenidos como se indica a continuación:

Acetilcolina clorhidrato (A-6625) obtenida de SIGMA; Ketamina (Imalgène500) de Merial; Xilacina (Rompun 2%) de BAYER; Acepromazina (Calmo Neosan) de Pfizer; Bromuro de aclidinio y roflumilast fueron sintetizados en el Departamento de Química Medicinal de Almirall S.A. Debido a la alta higroscopicidad de los compuestos, estos fueron mantenidos en condiciones secas. El bromuro de aclidinio fue preparado en $1 \geq \%$ de HCl 1N (de Pancreac) en agua destilada y el roflumilast fue disuelto en 30% PEG 300 (polietilenglicol 300 de Merck-Schudart) 2% NaOH 1N (de Pancreac) en agua destilada (pH 10) y mantenido en agua caliente.

Grupos de Animales

Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en dos grupos:

1. Grupo de control: A los animales se les administró un vehículo (1% HCl 1N en agua destilada o 30% PEG 300, 2% NaOH 1N en agua destilada) por inhalación y se indujo la broncoconstricción con acetilcolina intravenosa (Arc, $30 \mu\text{g/kg}$, i.v.)

2. Grupo tratado: A los animales se les administró los compuestos por inhalación y se indujo la broncoconstricción con ACh intravenosa, 1 hora después de la exposición.

Método

Los cerdos de guinea fueron ubicados en una caja de metacrilato (17x17x25 cm) durante un periodo de 10 minutos. Al inicio de este periodo y 5 minutos después se realizó una nebulización con compuesto o vehículo durante un minuto por medio de un nebulizador ultrasónico (Devlbiss Ultraneb 2000, Somerset, PA, USA). Esta nebulización fue llevada a cabo con una mezcla de 5% de CO₂, 21%O₂, 74%N₂ y un flujo de 3 L/minuto. Se generaron aerosoles a partir de soluciones acuosas, empleando la concentración seleccionada para cada compuesto (3µg/ml para el bromuro de aclidinio y 30 µg/ml para el roflumilast).

Para la administración inhalada de la terapia de combinación, se nebulizó el roflumilast durante el primer periodo de 10 minutos como se mencionó anteriormente. Luego, manteniendo el animal en la misma caja de metacrilato, se administró el bromuro de aclidinio durante el periodo de 10 minutos siguiente.

La evaluación de la actividad anti-broncoconstrictoria de los compuestos fue evaluada una hora después del tratamiento.

Los animales fueron anestesiados con una inyección intramuscular de ketamina (43,8 mg/Kg), xilazina (3,5 mg/Kg) y acepromazina (1,1 mg/Kg). Cuando se requirió, se extendió la anestesia con inyecciones intramusculares adicionales de la mezcla anestésica mencionada. Se canuló la traquea con un tubo de polietileno de 0,50/1,00 mm y se preparó para registrar la resistencia de la vía respiratoria (Raw) empleando un neumotacógrafo (Fleisch, Zabona, Suiza) para monitorear el flujo de aire. Un tubo PE-60 fue insertado en el esófago al nivel del tórax para medir la presión transpulmonar. Se canuló la arteria carótida y la vena yugular para monitorear la presión arterial (Stetham P23XL, Spectramed, Oxnard, California, USA) y administración, respectivamente. Se conectaron transductores a un amplificador de puente (Physiological Recorder PR800 MUMED System, Ltd, London, UK). Se midió la presión intrapulmonar con una conexión lateral a la traquea canulada. La resistencia de las vías respiratorias (Raw) fue calculada con el cociente de los cambios en el flujo y la presión entre puntos isovolumétricos en inspiración y expiración. Estas variaciones en el flujo y presión intrapulmonar y presión arterial se registraron con Lfr Record Vers. 7.1 USB software (Mumed Systems Ltd, London, UK). Durante los experimentos los animales fueron ventilados artificialmente con un ventilador roedor pequeño (Ugo Basile, Biological Research Apparatus, Comerio-Varese, Italia) a una tasa de 60 golpes por minuto y un volumen tidal de 10 ml/Kg. La temperatura se mantuvo a 37°C con una manta homeotérmica.

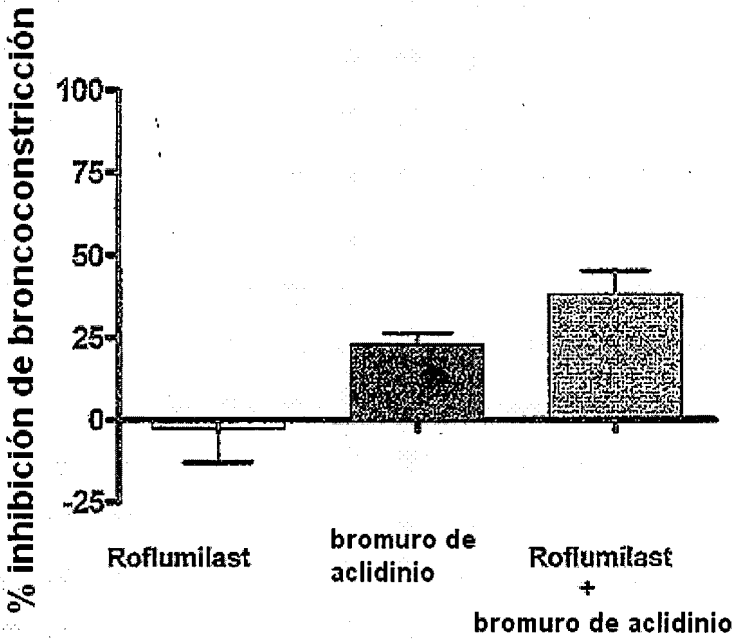
Análisis de Datos

El efecto inhibitorio se determinó para un tratamiento específico, una hora después del tiempo de exposición. Cada animal de los grupos tratados fue referido como la respuesta promedio de su grupo de vehículo correspondiente. Los porcentajes de inhibición broncoconstrictoria se calcularon como un promedio de 4 a 6 animales para cada grupo.

RESULTADOS

La administración simultánea de bromuro de aclidinio con roflumilast por nebulización resulta en una inhibición sinérgica de la broncoconstricción generada por Ach en cerdos de guinea.

Compuesto	n	Dosis (µg/ml)	Efecto inhibitorio (promedio ± SEM)
Bromuro de Aclidinio	6	3	23 ± 3
Roflumilast	6	30	-3 ± 10
Bromuro de aclidinio + Roflumilast	6	3 + 30	38 ± 7



-PRUEBA EXPERIMENTAL 2-

EFFECTOS SOBRE LA BRONCOCONSTRICCIÓN INDUCIDA CON ACETILCOLINA DEL TIOTROPIO Y SU COMBINACIÓN CON ROFLUMILAST EN CERDOS DE GUINEA

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Cerdos de nueva guinea Dunkin-Hartley machos (400-600g) fueron obtenidos de Harlan (Interfauna Ibérica, Sant Feliu de Codines, España). Los animales fueron divididos en grupos de cuatro a cinco a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad 40-70% con ciclos de aire (10 por hora) y durante 12 horas de ciclo claro/oscuro. Los animales fueron alimentados con una dieta de mantenimiento para cerdos de guinea, suplementada con vitamina C (SAFE 114, SAFE, Francia) y se les permitió beber *ad libitum*. Se dejó un periodo de aclimatización de 5 días antes de analizar los animales. Todos los experimentos se llevaron a cabo con la aprobación del Comité de Ética Animal.

Químicos

Los productos empleados en este estudio fueron obtenidos como se indica a continuación:

Acetilcolina clorhidrato (A-6625) obtenida de SIGMA; Ketamina (Imalgène500) de Merial; Xilacina (Rompun 2%) de BAYER; Acepromazina (Calmo Neosan) de PFIZER; Tiotropio (LAS33693) y roflumilast (LAS36841) sintetizados en el Departamento de Química Medicinal de Almirall S.A. Debido a la alta higroscopicidad de los compuestos, estos fueron mantenidos en condiciones secas. El Tiotropio fue disuelto en agua destilada, mientras que el Roflumilast fue disuelto al 1% de NaOH 1N (de Pancreac) con agua destilada. Ambos compuestos fueron preparados diariamente.

Grupos de Animales

Los animales fueron distribuidos de manera aleatoria en dos grupos:

3. Grupo de control: A los animales se les administró un vehículo (1% NaOH 1N en agua destilada) por inhalación y se indujo la broncoconstricción con acetilcolina intravenosa (Arc, $30\mu\text{g/kg}$, i.v.)
4. Grupo tratado: A los animales se les administró los compuestos por inhalación y se indujo la broncoconstricción con ACh intravenosa, 1 hora después de la exposición.

Método

Los cerdos de guinea fueron ubicados en una caja de metacrilato (17x17x25 cm) durante un periodo de 10 minutos. Al inicio de este periodo y 5 minutos después se realizó una nebulización con compuesto o vehículo durante un minuto por medio de un nebulizador ultrasónico (DeVilbiss Ultraneb 2000, Somerset, PA, USA). Esta nebulización fue llevada a cabo con una mezcla de 5% de CO₂, 21%O₂, 74%N₂ y un flujo de 3 L/minuto. Se generaron aerosoles a partir de soluciones acuosas, empleando la concentración seleccionada para cada compuesto (1µg/ml para el tiotropio y 30 µg/ml para el roflumilast).

Para la administración inhalada de la terapia de combinación, se nebulizó el roflumilast durante el primer periodo de 10 minutos como se mencionó anteriormente. Luego, manteniendo el animal en la misma caja de metacrilato, se administró el tiotropio durante el periodo de 10 minutos siguiente.

La evaluación de la actividad anti-broncoconstrictoria de los compuestos fue evaluada una hora después del tratamiento.

Los animales fueron anestesiados con una inyección intramuscular de ketamina (43,8 mg/Kg), xilazina (3,5 mg/Kg) y acepromazina (1,1 mg/Kg). Cuando se requirió, se extendió la anestesia con inyecciones intramusculares adicionales de la mezcla anestésica mencionada. Se canuló la traquea con un tubo de polietileno de 0,50/1,00 mm y se preparó para registrar la resistencia de la vía respiratoria (Raw) empleando un neumotacógrafo (Fleisch, Zabona, Suiza) para monitorear el flujo de aire. Un tubo PE-60 fue insertado en el esófago al nivel del tórax para medir la presión transpulmonar. Se canuló la arteria carótida y la vena yugular para monitorear la presión arterial (Stetham P23XL, Spectramed, Oxnard, California, USA) y administración, respectivamente. Se conectaron transductores a un amplificador de puente (Physiological Recorder PR800 MUMED System, Ltd, London, UK). Se midió la presión intrapulmonar con una conexión lateral a la traquea canulada. La resistencia de las vías respiratorias (Raw) fue calculada con el cociente de los cambios en el flujo y la presión entre puntos isovolumétricos en inspiración y expiración. Estas variaciones en el flujo y presión intrapulmonar y presión arterial se registraron con Lfr Record Vers. 7.1 USB software (Mumed Systems Ltd, London, UK). Durante los experimentos los animales fueron ventilados artificialmente con un ventilador roedor pequeño (Ugo Basile, Biological Research Apparatus, Comerio-Varese, Italia) a una tasa de 60 golpes por minuto y un volumen tidal de 10 ml/Kg. La temperatura se mantuvo a 37°C con una manta homeotérmica.

Análisis de Datos

El efecto inhibitorio se determinó para un tratamiento específico, una hora después del tiempo de exposición. Cada animal de los grupos tratados fue referido como la respuesta promedio de su grupo de vehículo correspondiente. Los porcentajes de inhibición broncoconstrictoria se calcularon como un promedio de 4 a 8 animales para cada grupo.

RESULTADOS

La administración por nebulización de una combinación de tiotropio y roflumilast produce una inhibición de la broncoconstricción inducida por ACh en los cerdos de guinea, la cual no es mayor que la inhibición producida por el tiotropio solo.

Compuesto	n	Dosis (µg/ml)	Efecto inhibitorio (promedio ± SEM)
Tiotropio	6	1	24 ± 5
Tiotropio + Roflumilast	8	1 + 30	16 ± 7

10

Solicitante: ALMIRALL, S.A.
Solicitud No.: 06.121.211
Título: COMBINACIÓN QUE COMPRENDE UN INHIBIDOR DE PDE4 Y UN ANTAGONISTA DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS M3 EL CUAL ES 3(R)-(2-HIDROXI-2,2,-DITIEN-2-ILACETOXI)-1-(3-FENOXIPROPIL)-1-AZONIABICICLO[2.2.2]OCTANO.
País: COLOMBIA

DECLARACIÓN DEL Dr. Amadeu Gavalda Monedero

Yo, **Amadeu Gavalda Monedero**, de nacionalidad ESPAÑOLA, con documento nacional de identidad No. 35061925-N, domiciliado en Calle Malesa, No. 22, 08290 Cerdanyola del Vallés, Barcelona, España, declaro QUE:

1. Soy doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad Autónoma de Barcelona, miembro de la Sociedad Española de Farmacología y de la American Society of Experimental Pharmacology and Therapeutics, así como miembro fundador de la Fundación Española de Farmacología.
2. Desde hace más de 20 años trabajo en la investigación y desarrollo de nuevas entidades químicas en Almirall. Durante los últimos 12 años he sido responsable de los estudios preclínicos de bromuro de aclidinio. Actualmente soy jefe de la sección de Investigación de Farmacología Integrativa, de la que formamos parte 11 investigadores.
3. He sido informado de la resolución No. 49975 de la Superintendencia de Industria y Comercio por la que se deniega la solicitud de patente PCT/06-121211 y se me ha

pedido estudiar el documento MXPA03008045, citado como D2 en la resolución, y revisar los estudios experimentales aportados por Almirall durante el examen de la solicitud. Estos estudios experimentales habían sido realizados bajo mi supervisión.

4. Con respecto a MXPA03008045 he observado que en la primera página se afirma que las composiciones allí descritas tienen un efecto sinérgico. Sin embargo, yo no he encontrado ninguna evidencia en ese documento que muestre la existencia de sinergia entre anticolinérgicos e inhibidores de PDE-IV. MXPA03008045 tan solo aporta como datos experimentales (páginas 42 a 48) un procedimiento de preparación de monohidrato de bromuro de tiotropio cristalino y 12 ejemplos de posibles formulaciones farmacéuticas que contienen bromuro de tiotropio y AWD-12-281 o "un compuesto de fórmula 2a". No hay en MXPA03008045 ningún experimento farmacológico que muestre el efecto de los componentes activos de las formulaciones, ni por separado, ni en combinación. Por tanto, como persona del oficio debo concluir que la afirmación en la página 1 de que las combinaciones son sinérgicas es gratuita, carece de valor científico y no puede ser aceptada por alguien versado en la materia.
5. Más aún, los experimentos aportados por Almirall durante el examen de la solicitud PCT/06-121211 demuestran que, efectivamente, no existe sinergia entre tiotropio y un inhibidor de PDE-IV. Así, los resultados en la tabla del "Experimental Report 2", que reproduzco a continuación, muestran cómo la adición de roflumilast a tiotropio no sólo no aumenta el efecto del tiotropio administrado individualmente (que produce por sí solo un 24 % de inhibición de la broncoconstricción) sino que, en todo caso, lo antagoniza y disminuye (hasta tan solo un 16 % de inhibición de la

broncoconstricción cuando tiotropio es administrado en combinación con roflumilast).

Compound	n	Dose ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition effect (mean $\pm$ SEM)
Tiotropium	6	1	24 $\pm$ 5
Tiotropium + Roflumilast	8	1 + 30	16 $\pm$ 7

El tamaño de la muestra y la variabilidad observada en estos experimentos (representada por el error standard de la media, SEM) es suficiente para realizar un análisis estadístico que permita comprobar si existen o no diferencias significativas entre los tratamientos administrados, como comento en el apartado 7.

- En contraste a lo observado con el tiotropio, la administración simultánea de aclidinio con roflumilast sí que da lugar a un efecto sinérgico, con respecto al efecto de cada uno de los tratamientos por separado. Este efecto sinérgico está descrito en el "Experimental Report 1", cuya tabla reproduzco a continuación.

Compound	n	Dose ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition effect (mean $\pm$ SEM)
Acridinium bromide	6	3	23 $\pm$ 3
Roflumilast	6	30	-3 $\pm$ 10
Acridinium bromide + Roflumilast	6	3 + 30	38 $\pm$ 7

21

En ella se observa que, mientras que el roflumilast por sí solo no tiene ningún efecto sobre la broncoconstricción inducida (la inhibe en un - 3 %, es decir, la aumenta en un 3 %), el aclidinio por sí solo inhibe la broncoconstricción en un 23 %, porcentaje muy similar al 24 % observado con tiotropio, que he descrito en el apartado anterior. Cuando aclidinio y roflumilast son administrados simultáneamente la inhibición de la broncoconstricción alcanza un 38 %, porcentaje notablemente superior al 20 % resultante de sumar las inhibiciones producidas por los tratamientos individuales con roflumilast (-3 %) y con aclidinio (23 %). Se observa pues un inesperado efecto supra-aditivo, es decir, sinérgico, entre aclidinio y roflumilast. Al igual que en el caso del "Experimental Report 2" el tamaño de la muestra y la variabilidad observada en los resultados de este "Experimental Report 1" permiten realizar un análisis estadístico para comprobar si las diferencias observadas son significativas o no, como describo a continuación.

7. Para efectuar el análisis estadístico de los resultados de los "Experimental Reports 1 y 2" he utilizado un test standard en Farmacología para la comparación de efectos de fármacos, disponible en la herramienta Graph Pad Prism, 5.0. Se trata del análisis de varianza one-way, seguido del test de comparación múltiple de Newman-Keuls. Tras introducir en Graph Pad Prism 5.0 los datos de inhibición medidos en todos los tratamientos de los "Experimental Reports 1 y 2" he observado que el porcentaje de inhibición de la broncoconstricción producida por tiotropio por si solo en el "Experimental Report 2" (24 ± 5) no se diferencia de forma estadísticamente significativa (la p resultante es $> 0,05$) del porcentaje de inhibición

22

producida por la combinación de roflumilast con tiotropio (16 ± 7). Por tanto, está claro que el roflumilast no es sinérgico con el tiotropio y que, en todo caso, la adición de roflumilast disminuye el efecto inhibidor del tiotropio.

Por el contrario, el porcentaje de inhibición de la broncoconstricción producida por aclidinio por si solo en el "Experimental Report 1" (23 ± 3) se diferencia de forma estadísticamente muy significativa (es decir, con una $p < 0,01$) del porcentaje de inhibición producida por la combinación de roflumilast con aclidinio (38 ± 7). Por tanto, el efecto supra-aditivo, sinérgico, de la combinación roflumilast + aclidinio es estadísticamente significativo y no fruto del azar.

8. Como conclusión, los resultados del "Experimental Report 1" demuestran que la combinación aclidinio + roflumilast produce un efecto broncodilatador sinérgico, probado estadísticamente, que puede ser muy útil para el tratamiento de pacientes respiratorios. Este efecto sinérgico no era de esperar en vista de lo divulgado en MXPA03008045, ya que en este documento no se describe ningún experimento que muestre sinergia entre un anticolinérgico y un inhibidor de PDE-IV. Además, la ausencia de sinergia de las combinaciones descritas en MXPA03008045 queda demostrada por los resultados del "Experimental Report 2", en los que no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa entre el efecto de tiotropio y el efecto de combinación de tiotropio con roflumilast.

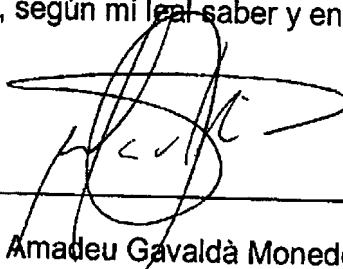
27

Finalmente, en mi opinión el efecto sinérgico broncodilatador existente entre aclidinio y roflumilast es particularmente sorprendente en vista del hecho de que el roflumilast no es broncodilatador cuando es administrado por sí solo. En nuestros experimentos incluso aumenta la broncoconstricción en un 3 %. No era de esperar que la adición de roflumilast al aclidinio aumentara de manera notable y estadísticamente significativa el efecto broncodilatador del aclidinio.

Todo lo expuesto en esta declaración es, según mi ~~leal~~ saber y entender, correcto.

19.10.2012

Fecha


Dr. Amadeu Gavalda Monedero