

LLOREDA CAMACHO & CO.
ABOGADOS

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-062064- -00008-0000

Fecha: 2014-10-01 16:18:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 449 RESPUESOPOSICI Folios: 11

Trámite: 11
Evento: 378
Actuación: 449

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: PI.-RESPIVERT LIMITED.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "1-PIRAZOLIL-3-(4-((2-ANILINOPIRIMIDIN-4-IL)OXI)NAFTALEN-1-IL) UREAS COMO INHIBIDORES DE P38 MAP CINASA".-Clase C07D 403/12.-Expediente número 14-062.064.-

1. Me refiero al Oficio **7901** expedido por ese Despacho, el cual fue notificado por fijación en lista el 8 de Julio de 2014.

2. Con el fin de responder a la oposición de concesión de la patente de invención en cuestión, la cual fue presentada por la sociedad Laboratorio Franco Colombiano **Lafrancol S.A.S.** ante la Superintendencia de Industria y Comercio el 1 de Julio de 2014, atentamente me permito presentar ante ese Despacho una serie de argumentos técnicos mediante los cuales se desvirtúan completamente los alegatos presentados por dicha sociedad opositora.

3. **Oposición interpuesta frente a las reivindicaciones dirigidas a proteger usos y métodos de tratamiento**

De acuerdo con el señor Opositor: *"Se observa que el capítulo reivindicatorio posee muchas reivindicaciones referentes a materia no considerada patentable, como los métodos de tratamiento y los usos, adicionalmente, hay reivindicaciones que caracterizan el objeto de la solicitud mediante los usos, lo cual no define de forma clara la materia reclamada".*

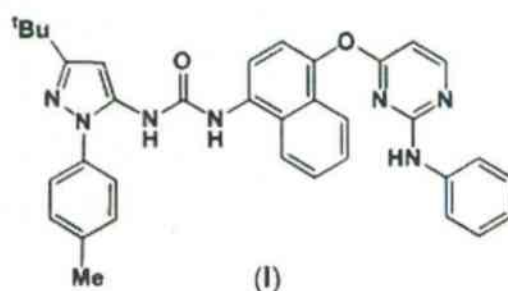
En respuesta a lo anterior me permito señalar que el pasado 23 de Septiembre de 2014 se presentó para la solicitud de patente en cuestión un nuevo capítulo reivindicatorio modificado voluntariamente, el cual está conformado por nueve (9) reivindicaciones que cumplen a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en la Decisión 486 de 2000 debido a que de ninguna manera se refieren a usos, segundos usos, métodos de tratamiento o a cualquier otra materia considerada como no invención o exceptuada de patentabilidad.

4. Oposición interpuesta frente a la novedad y el nivel inventivo de la presente invención

Ahora bien, de acuerdo con el señor Opositor: *"Se observa que el grupo de compuestos reivindicados en la presente solicitud se superpone con el grupo amplio definido en la publicación internacional WO 03/072569 (D1), aunque no es ejemplificado específicamente en ella, es de notar que más de un ejemplo de D1 tiene el mismo tipo de propiedades biológicas reclamadas. Así mismo, la estructura reclamada no es muy diferente del grupo farmacofórico ya revelado en D1..."*.

En respuesta a lo anterior me permito presentar ante ese Despacho las siguientes consideraciones técnicas:

- La reivindicación 1 de la solicitud de patente en cuestión se encuentra dirigida a proteger el siguiente compuesto químico específico:



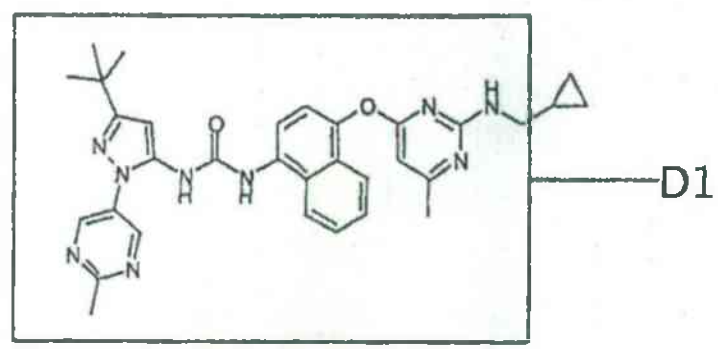
donde dicho compuesto corresponde a una selección específica realizada entre el grupo de compuestos divulgados en el documento D1 señalado por el señor Opositor, y donde dicho compuesto de ninguna manera se encuentra revelado de manera explícita en dicha anterioridad.

LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

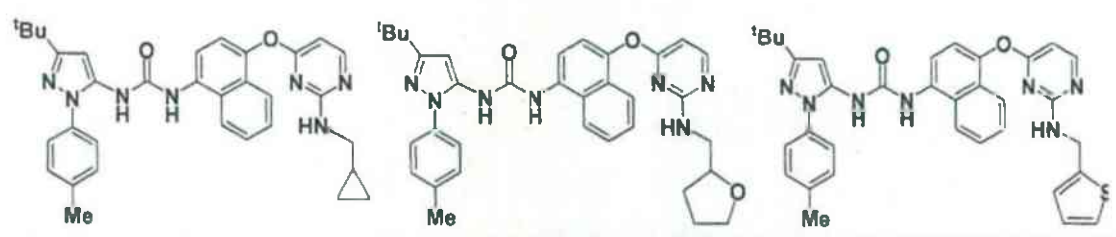
• Adicionalmente a lo anterior, el compuesto de la presente invención se caracteriza porque presenta propiedades biológicas marcadamente diferentes a aquellas mencionadas en D1.

Para demostrar lo anterior inicialmente me permito señalar que, contrario a lo aseverado por el señor Opositor, los compuestos divulgados en D1 que se caracterizan estructuralmente porque la posición 2 del anillo de pirimidina está sustituida con un grupo amino, como el siguiente:

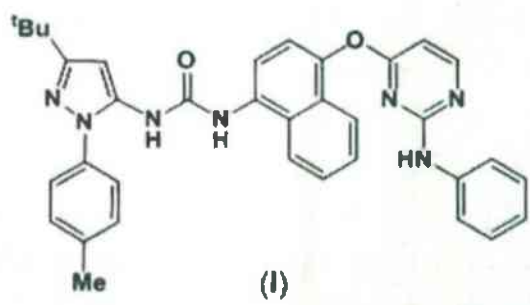


no corresponderían a los compuestos estructuralmente más cercanos al compuesto de la presente invención y que son explícitamente divulgados en dicha anterioridad.

En efecto, los siguientes tres compuestos químicos resultarían estructuralmente más cercanos a aquel revelado en la presente invención:



Compuestos químicos revelados explícitamente en el documento D1



Compuesto químico de la presente invención

LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

donde la diferencia estructural entre dichos compuestos y aquel revelado en la solicitud de patente en cuestión consiste en que el anillo de pirimidina de los tres compuestos explícitamente revelados en D1 está sustituido con un grupo alquilamino sustituido, mientras que el anillo de pirimidina del compuesto de la presente invención está sustituido con el grupo anilina (N-fenilo).

- Una vez aclarado lo anterior, atentamente me permito dirigir la atención de ese Despacho a la página 69 del documento D1, toda vez que de acuerdo con los datos experimentales allí divulgados el primer y segundo compuestos químicos arriba mencionados (los cuales son identificados en D1 como compuestos preferidos de acuerdo con lo señalado en la página 34 de dicha anterioridad) inhiben la producción de TNF- α en células THP1 con un valor IC50 menor a 10 μ M.

Sin embargo, anexo al presente memorial me permito presentar un reporte experimental desarrollado por el solicitante de la presente invención y que corresponde a un estudio comparativo entre las propiedades del compuesto reivindicado en la presente invención (mencionado como compuesto 1) y los compuestos relevantes del documento D1 (mencionados como compuestos 2, 3 y 4).

Tal y como podrá apreciar el señor Examinador, dicho reporte concluye lo siguiente (*copia simple al castellano*):

"Los resultados presentados en este documento demuestran que, de los cuatro compuestos estudiados, sólo la aminopirimidina sustituida por N-fenilo de la presente invención, el compuesto 1, inhibió la actividad de la quinasa Syk en un grado medible. El derivado tetrahidrofuranilo descrito anteriormente, el compuesto 3 demostró ser aproximadamente 5-10 veces más débil en su capacidad para inhibir la liberación inducida por LPS de IL-8 a partir de células U937 de tipo macrófagos diferenciadas con PMA, en comparación con los compuestos 1, 2 y 4. Sin embargo, el compuesto de la presente invención, el compuesto 1, fue el único en mostrar actividades inhibitoras potentes y dependientes de dosis contra los CPE inducidos por rinovirus en células MRC5, y en contra de la liberación de especies reactivas de oxígeno inducida por zimosan a partir de células U937 tratadas previamente con IFN γ . Estas características diferenciadoras del perfil celular de compuesto 1 son altamente

LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

significativas en el contexto de la intervención de la enfermedad en condiciones inflamatorias."

• A partir de los resultados experimentales divulgados por el solicitante es absolutamente claro que las diferencias estructurales existentes entre el compuesto de la presente invención y aquellos compuestos estructuralmente cercanos divulgados explícitamente en el documento D1 tienen serias implicaciones biológicas.

En efecto, el grupo anilina presente en el compuesto químico de la presente invención da lugar a una inhibición más potente de la enzima quinasa Syk, a una propiedades anti-inflamatorias mejoradas, y a una característica adicional de inhibición de los efectos citopáticos del rinovirus humano, todo lo anterior en pleno contraste con los efectos biológicos logrados con los compuestos divulgados explícitamente en D1.

Visto lo anterior me permito señalar que la materia revelada en la solicitud de patente en cuestión resulta ser novedosa e inventiva con respecto a las enseñanzas del arte previo, en particular del documento D1 señalado por el señor Opositor.

5. **Conclusión**

De conformidad con lo expuesto en el presente memorial, es absolutamente claro que se han desvirtuado de manera contundente los argumentos expuestos por la sociedad Lafrancol S.A.S. en el documento de oposición presentado ante la Superintendencia de Industria y Comercio para solicitar la negación del beneficio de patente para la solicitud en cuestión.

6. Anexo al presente memorial me permito presentar la traducción simple al castellano del Reporte experimental desarrollado por el solicitante de la presente invención en relación con el análisis comparativo realizado frente a las enseñanzas del documento D1.

LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

7. En vista de todo lo anterior, ruego a usted declarar infundada la oposición presentada por la sociedad **LAFRANCOL S.A.S**, estudiar la presente solicitud a la luz de las argumentaciones presentadas y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,



ALICIA LLOREDA RICAURTE

T. P. 53.215

Dirección para Notificaciones: notificacionespatentes@lloredacamacho.com

Solicitud de Patente Colombiana No. 14-062.064 a nombre de Respivert Limited

Respuesta a la Oposición presentada por Lafrancol SA - Informe comparativo

El perfil farmacológico del inhibidor de molécula pequeña de la presente invención¹, el compuesto 1 ha sido comparado en una serie de en ensayos in vitro relevantes a la enfermedad, con tres compuestos, se habían descrito anteriormente los compuestos 2-4 (Tabla 1)². La característica estructural de diferenciación del compuesto 1 a partir de estas moléculas más cercanas del arte previo es la incorporación de una anilina (N-fenil) en lugar de un grupo alquilamino sustituido, unido al C-2 del núcleo de pirimidina. Los resultados obtenidos demuestran claramente que los compuestos 2-4 poseen un perfil biológico común que es claramente diferente de aquel del compuesto 1.

Tabla 1:

Compuesto	Estructura	Nombre
1		1-(3-(tert-butil)-1-(p-tolil)-1H-pirazol-5-il)-3-(4-(2-(fenilamino)pirimidin-4-iloxi)-1-naftalen-il)urea
2		1-(3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(4-(2-(ciclopropilmetilamino)pirimidin-4-iloxi)-1-naftalen-il)urea ³ .
3		1-(3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(4-(2-(((tetra hidrofurano-2-il) metil)amino)pirimidin-4-iloxi)-1-naftalen-il)urea ^{4,5} .
4		1-(3-tert-butil-1-p-tolil-1H-pirazol-5-il)-3-(4-(2-(tiofen-2-ilmetilamino)pirimidin-4-iloxi)-1-naftalen-il)urea ⁶

Métodos biológicos de detección utilizados en el estudio actual

1: Ensayos de inhibición de la Quinasa

Los efectos inhibidores de los compuestos **1-4** en las actividades enzimáticas p38 MAPK α , cSrc y Syk se determinó utilizando los protocolos establecidos en la presente revelación¹. El porcentaje de inhibición para cada concentración se midió en relación con el control no inhibido y el 50% de las concentraciones inhibitorias (valores IC₅₀) se calculó a partir de las curvas de concentración-respuesta.

2: Liberación de IL-8 inducida por LPS a partir de células U937 de tipo macrófago diferenciadas con PMA

La influencia de los compuestos **1-4** en la liberación inducida de IL-8 por LPS a partir de células U937 diferenciadas con PMA se determinó utilizando los protocolos establecidos en la presente revelación¹. El porcentaje de inhibición de la liberación de IL-8 para cada concentración se determinó en relación al control no inhibido y el 50% de las concentraciones inhibitorias (valores IC₅₀) se calculó a partir de las curvas de concentración-respuesta.

3: CPE inducidos por rinovirus en células MRC5.

Se realizó una evaluación de la influencia de cada uno de los compuestos de prueba sobre los efectos citopáticos (CPE, por sus siglas en inglés) de la cepa 16 de rinovirus humano en células de fibroblastos de pulmón fetal humano MRC5, utilizando los protocolos establecidos en la presente descripción¹. El porcentaje de inhibición de CPE para cada concentración de compuesto de prueba se determinó en relación con el control no inhibido y el 50% de las concentraciones inhibitorias (valores IC₅₀) se calculó a partir de las curvas de concentración-respuesta cuando aplique. Todos los valores se muestran como la media de dos experimentos independientes.

4: Liberación inducida por Zimosan A de especies reactivas de oxígeno (ROS) en células U937 pre tratadas con IFN γ .

Se investigó la influencia de los compuestos **1-4** en la liberación inducida por Zimosan A de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) en células U937 pre tratadas con interferón gamma humano (IFN γ). Las células U937, una línea celular de linfoma de monocitos leucémicas humanas (ATCC, Manassas, VA), se

trataron con IFN γ a una concentración final de 50 ng/mL a 37°C, bajo 5% de CO $_2$ durante 4 días. Las células U937 cebadas con IFN γ se sembraron a $0,2 \times 10^6$ células/200 μ l/pozo en una placa blanca de 96 pozos, y se trataron con compuestos de ensayo durante 2 horas en RPMI 1640 (libre de rojo fenol, Life Technologies, Paisley, Reino Unido) con suero bovino fetal al 0,5%. Se suspendió nuevamente el Zimosan A (10 mg, Sigma-Aldrich Ltd, Poole, Reino Unido) de *Saccharomyces cerevisiae* en 150 mM de NaCl (1 ml) y se hirvió a 100°C durante 15 minutos. Después de la ebullición, las partículas de Zimosan A se lavaron dos veces con tampón fosfato salino de Dulbecco (DPBS) tibio (1 ml) seguido de centrifugación, y se incubaron con reactivo opsonizado BioParticlesTM (0,5 ml, Life Technologies, Paisley, Reino Unido) durante 60 min a 37°C, mientras se rotaba en un mezclador de muestras HulaMixerTM.

Después de la incubación, el Zimosan A opsonizado se lavó dos veces con DPBS tibio (1 ml), y se suspendieron nuevamente en 150 mM de NaCl (1 ml). Después, se estimularon las células con una mezcla de suspensión de partículas de Zimosan A (10 μ l), tampón de ensayo (85 l), luminol (2,5 μ l) y solución de potenciador (2,5 μ l), que eran proporcionados (aparte de la suspensión de partículas Zimosan A) en el Kit de ensayo de Anión Superóxido (Sigma-Aldrich Ltd, Poole, Reino Unido). Las placas fueron dejadas a temperatura ambiente y se midieron los niveles de quimioluminiscencia (indicando los aniones de superóxido liberado) a los 60 minutos después de la estimulación por la medición luminométrica (Varioskan® Flash, Thermo-Fisher Scientific). El porcentaje de inhibición de la liberación de ERO para cada concentración de ensayo se determinó en relación con el control no inhibido. Todos los valores se mostraron como la media $\pm$ error estándar de la media (SEM, por sus siglas en inglés) de tres experimentos independientes.

Resumen de los Resultados de la Evaluación

1: Inhibición de Quinasas

Los perfiles de las enzimas aisladas presentadas a continuación (**Tabla 2**) demuestran que las cuatro sustancias de prueba inhiben la actividad de ambas quinasas p38, MAPK α y CSRC en concentraciones nanomolares. Sin embargo, el compuesto **1** de la presente invención fue único al mostrar una actividad inhibitoria significativa frente a la quinasa Syk. Las consecuencias de esta farmacología adicional son evidentes en el perfil celular del compuesto **1** que figura a continuación, y en última instancia lo diferencia de los inhibidores conocidos de la quinasa 2-4.

Tabla 2: Comparación de las actividades inhibitoras de los compuestos 1-4 en enzimas p38 MAPK α , Src y Syk.

Compuesto de Prueba	Valores de IC ₅₀ para la Inhibición de la Enzima (nM)		
	p38 MAPK α	cSrc	Syk
1	60	22	334
2	55	180	>1780
3	16	110	>1690
4	18	136	>1660

2: Liberación de IL-8 inducida por LPS de células U937 diferenciadas de tipo macrófago

Los datos celulares resumidos a continuación (**Tabla 3**), revelan que los cuatro compuestos (examinados el mismo día) fueron capaces de inhibir la liberación de IL-8 inducido por LPS de células U937 diferenciadas (d). Sin embargo, el efecto inhibitor del derivado tetrahidrofuranilo **3** fue marcadamente inferior a los observados para el compuesto de la presente invención o los análogos de ciclopropil o tiofenil, respectivamente **2** y **4**, reportados anteriormente.

Tabla 3: Comparación de los efectos inhibitorios de los Compuestos 1-4 sobre la liberación de IL-8 estimulada por LPS de células d-U937.

	Compuesto de Prueba			
	1	2	3	4
Valor IC ₅₀ (nM)	2.2	0.53	14.2	0.93

3: CPE inducidos por Rinovirus en células MRC5.

Los resultados de un estudio de los efectos citopáticos (CPE) inducidos por infección con rinovirus humano 16 (HRV 16) se presentan más adelante (**Tabla 4**). Se hizo

comparación de los efectos del tratamiento con los cuatro compuestos de prueba en células MR5, una línea celular de fibroblasto de pulmón fetal, sobre CPE mediados viralmente, en dos experimentos independientes. Estos revelaron que solo la anilino pirimidina de la presente invención, compuesto 1, fue un inhibidor efectivo de esta respuesta mediada viralmente. En contraste con los agentes del arte previo, los compuestos 2-4 mostraron un bajo efecto sobre los CPE inducidos por infección con HRV16.

Tabla 4: Comparación de los efectos inhibitorios de los Compuestos 1-4 sobre los efectos citopáticos inducidos por infección con HRV16 en células MRC5.

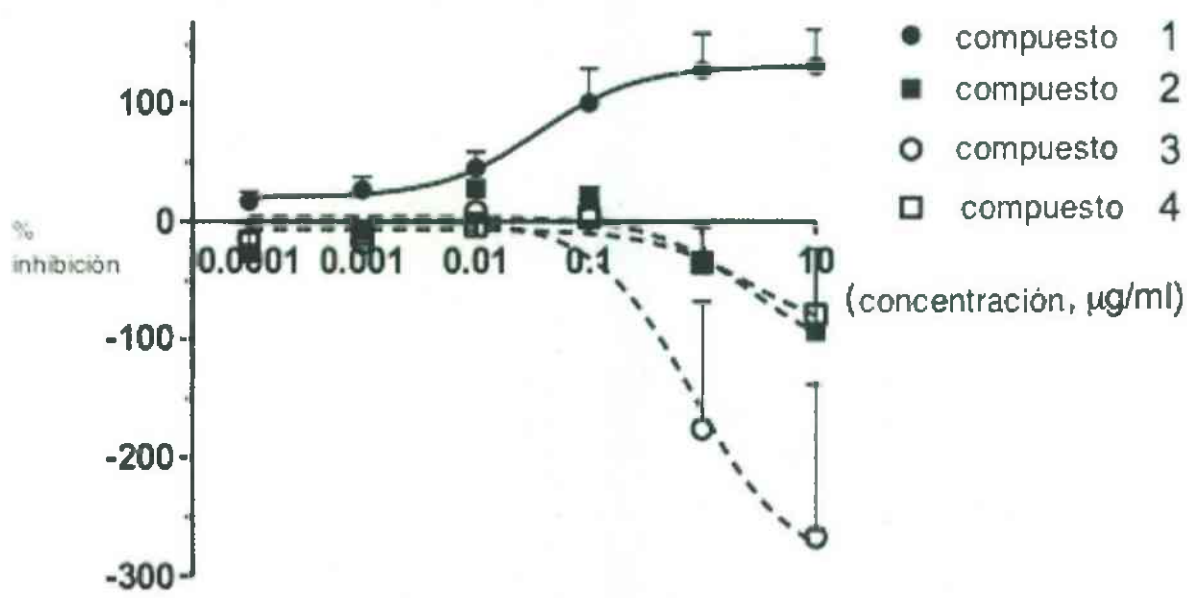
	Compuesto de Prueba				Dosis (ng/mL)
	1	2	3	4	
CPE por HRV (% Inhibición)	7.2	17.7	-40.8	9.7	0.32
	5.7	30.1	14.3	0.5	1.6
	60.0	26.4	19.3	41.0	8.0
	68.1	ND*	46.5	20.9	40
Valor IC ₅₀ (nM)	16.0	n/a	n/a	n/a	

*ND: No determinado debido a toxicidad celular, n/a: no aplicable

4: Liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) inducidas por Zimosan A de células U937 tratadas con IFN γ .

El estrés oxidativo es un componente fisiopatológico importante de enfermedades de las vías respiratorias tales como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), que causan morbilidad y mortalidad⁷ significativos. La liberación de especies reactivas de oxígeno es un mecanismo dependiente de quinasa Syk⁸. Los resultados de un estudio para comparar el efecto de las cuatro sustancias de prueba sobre la liberación inducida de ROS por zimosan a partir de células U937 tratadas previamente con IFN γ , en tres experimentos independientes, se presentan a continuación (**Figura 1**). Es claramente evidente que sólo la anilino pirimidina de la presente invención, el compuesto 1, era un eficaz inhibidor de esta respuesta bioquímica. En contraste, los agentes del arte previo, los compuestos 2-4, mostraron un bajo efecto o no mostraron efecto o exacerbaron la respuesta inflamatoria inducida.

Figura 1: Liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) inducida por Zimosan en células U937 tratadas con IFN γ .



Discusión y Conclusiones

Los resultados presentados en este documento demuestran que, de los cuatro compuestos estudiados, sólo la aminopirimidina sustituida por N-fenilo de la presente invención, el compuesto 1, inhibió la actividad de la quinasa Syk en un grado medible. El derivado tetrahidrofuranilo descrito anteriormente, el compuesto 3 demostró ser aproximadamente 5-10 veces más débil en su capacidad para inhibir la liberación inducida por LPS de IL-8 a partir de células U937 de tipo macrófagos diferenciadas con PMA, en comparación con los compuestos 1, 2 y 4. Sin embargo, el compuesto de la presente invención, el compuesto 1, fue el único mostrar actividades inhibitoras potentes y dependientes de dosis contra los CPE inducidos por rinovirus en células MRC5, y en contra de la liberación de especies reactivas de oxígeno inducida por zimosan a partir de células U937 tratadas previamente con IFN γ . Estas características diferenciadoras del perfil celular de compuesto 1 son altamente significativas en el contexto de la intervención de la enfermedad en condiciones inflamatorias.

Es de gran relevancia para el presente estudio que la literatura implica un papel para la señalización a través de quinasa Syk después de la exposición de las células a rinovirus⁹. Este también parece ser el caso para la liberación de especies reactivas del oxígeno desde los macrófagos⁸. El papel de la infección por rinovirus y de la producción de especies reactivas de oxígeno en las manifestaciones clínicas de las enfermedades respiratorias crónicas junto con las diferencias observadas para los

perfiles farmacológicos de los compuestos de prueba comparados en el presente documento, proporcionan una fuerte evidencia de que el compuesto de la presente invención, el compuesto **1**, tiene un perfil farmacológico distinto y superior como un fármaco anti-inflamatorio potencial frente a los compuestos de la técnica anterior, **2-4**.

Referencias y Notas:

1. Ito, K.; Charron, C.E.; King-Underwood, J.; Onions, S.T.; Longshaw, A.I.; Broeckx, R.; Filliers, W.; Copmans, A. 1-Pirazoly-3-(4-((2-anilinopirimidin-4-il)oxi)naftalen-1-il) ureas as p38 MAP Kinase Inhibitors. PCT/GB2012/052445, WO 2013/050757, 2013.
2. Cirillo, P.F.; Regan, J.R.; Hammach, A. 1,4-Disubstituted Benzofused Cycloalkyl Urea Compounds Useful in Treating Cytokine Mediated Diseases. PCT/US03/07268, WO 03/072569, 2003. [D1]
3. Este compuesto se llama 1-(5-*tert*-butil-2-*p*-tolil-2*H*-pirazol-3-il)-3-(4-{2-(ciclopropilmetil-amino)-pirimidin-4-iloxi}naftalen-1-il)-urea en **D1** y es el Ejemplo 6 del documento y también el segundo compuesto listado de la página 24.
4. Este compuesto se llama: 1-(5-*tert*-butil-2-*p*-tolil-2*H*-pirazol-3-il)-3-(4-{2-[(tetrahydrofuran-2-ilmetil)-amino]-pirimidin-4-iloxi}-naftalen-1-il)-urea en **D1**. La preparación de los dos enantiómeros solos se describe en el Ejemplo 9 del documento.
5. El compuesto utilizado en el presente estudio se preparó como el racemato. Este es el tercer compuesto cotizada en la página 24 de la D1.
6. Este compuesto se llama: 1-(5-*tert*-butil-2-*p*-tolil-2*H*-pirazol-3-il)-3-(4-{2-[(tiofen-2-ilmetil)-amino]-pirimidin-4-iloxi}-naftalen-1-il)-urea en **D1**. Este es el cuarto compuesto listado en la página 24 de **D1**.
7. Chung, K.F.; Marwick, J.A. Molecular mechanisms of oxidative stress in airways and lungs with reference to asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Ann. N. Y. Acad. Sci. **2010**, *1203*, 85-91.
8. Underhill, D.M.; Rossnagle, E.; Lowell, C.A.; Simmons, R.M. Dectin-1 activates Syk tyrosine kinase in a dynamic subset of macrophages for reactive oxygen production. *Blood* **2005**, *106*, 2543-50.

9. Wang, X.; Lau, C.; Wiehler, S.; Pow, A.; Mazzulli, T.; Gutierrez, C.; Proud, D.; Chow, C.W.; Syk is downstream of intercellular adhesion molecule-1 and mediates human rhinovirus activation of p38 MAPK in airway epithelial cells. *J. Immunol.* **2006**; *177*, 6859-70.