

Señor Director

NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia: Expediente No. 16017515

Asunto: Solicitud de patente para: ***“FRACCIÓN BIOACTIVA DE ACHYROCLINE BOGOTENSIS (KUNTH) DC. (COMPOSITAE) CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL, PROCESO PARA SU OBTENCIÓN Y SU COMPOSICIÓN”***

Solicitante: PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

Fecha de solicitud: 26 de enero de 2016

RESPUESTA A PRIMER EXAMEN DE PATENTABILIDAD

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI, identificado como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, doy respuesta al Oficio **15477**, notificado por fijación en lista el 20 de diciembre de 2016.

I. EN CUANTO A LA FALTA DE CLARIDAD EN EL TÍTULO

Con respecto a la objeción frente al título por ser muy general, se ha modificado el título de la presente solicitud, por consiguiente ahora menciona ***“FRACCIÓN BIOACTIVA DE ACHYROCLINE BOGOTENSIS (KUNTH) DC. (COMPOSITAE) CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL, PROCESO PARA SU OBTENCIÓN Y SU COMPOSICIÓN”*** de manera que la objeción al respecto se debe tener por superada.

II. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE CLARIDAD

1. Con respecto a la objeción frente a la reivindicación 2 por contener las expresiones “solvente orgánico”, “solvente orgánico de tipo hidrocarburo alifático”, “solvente de alta polaridad”, “solvente polar aprótico”, se desea poner de presente que una persona

“EXCELENCIA LEGAL EN UN MUNDO SIN FRONTERAS”

BOGOTÁ - Edificio Siski - Carrera 4 No. 72 - 35 - Código Postal 110221 - Tel. (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650 - Fax in U.S.A: (1-305) 675 7743 - COLOMBIA
MEDELLÍN - San Fernando Plaza - Carrera 42 A No. 1 - 25 - Torre 4 - Oficina 303 - Código Postal 050021 - Tel: (57-4) 520 4760 - COLOMBIA
BARRANQUILLA - Calle 64 No. 50-22 - Código Postal 080002 - Barrio El Prado - Tel. (57-5) 3 51 64 40 - COLOMBIA

normalmente versada en la materia entendería a qué tipos de solvente se hace referencia en dicha reivindicación. Adicionalmente, estos términos se encuentran completamente soportados en las páginas 21 a 23 de la descripción de la presente solicitud. Considerando lo anteriormente expuesto, esta objeción se debe tener por superada.

2. Con respecto a la objeción frente a las reivindicaciones 12 y 13 dado que a pesar de que el preámbulo menciona la palabra “composición”, en la reivindicación no se las caracteriza en términos de ingredientes y proporciones, en este sentido y para dejar por superada la objeción se desea ajustar las dos reivindicaciones de la siguiente manera:

12. Composición farmacéutica de *Achyrocline bogotensis* caracterizada porque es obtenida mediante el siguiente método:

- a. Extracción exhaustiva de *Achyrocline bogotensis* en una mezcla agua alcohol llevado hasta sequedad total.
- b. Filtración del producto obtenido a partir del punto a.
- c. Destilación al vacío a partir del producto obtenido en el punto b.
- d. Al producto obtenido en el punto c se adiciona solución concentrada de glicerina al 50% preservada con sorbato de potasio al 0,8%.

13. Composición farmacéutica de *Achyrocline bogotensis* obtenida de acuerdo con la reivindicación 12 y caracterizada porque:

- a. Contiene los compuestos de la fracción bioactiva descritos en la reivindicación 1.
- b. Carece de excipientes de base alcohólica.

III. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE CLARIDAD EN LA DESCRIPCIÓN

Con respecto a la objeción frente a la descripción dado que no divulga el desarrollo de composiciones para que la persona del oficio normalmente versada en la materia pueda reproducirlas, se desea poner de presente nuestro desacuerdo toda vez que a lo largo de la descripción se indica que un objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que pueda ser útil como co-adyuvante en el tratamiento en la EDA y, específicamente, en el control de la infección y multiplicación de los rotavirus y astrovirus, una vez se ha realizado la exposición a los virus. Asimismo, en la sección de

descripción detallada de la invención se indica la administración, así como los posibles compuestos que pueden utilizarse como excipientes (páginas 27 y 28). De igual manera, en la página 40 se describe “*Ejemplo 9. Valoración preliminar de la actividad virucida ejercida por un fitoterapéutico piloto desarrollado a escala de laboratorio, hecho con el extracto total de las partes aéreas de A. bogotensis, contra la infección in vitro por rotavirus.*” referente a esta actividad se manifiesta que: “*Los resultados por inmunocitoquímica mostraron una reducción de entre el 5 al 30% donde la máxima fue obtenida usando 0,24mg/ml del FTP y la mínima con 0,06mg/ml (Ver figura 16 de la descripción de la presente solicitud).*” Considerando lo anteriormente señalado y los ajustes sugeridos anteriormente para las reivindicaciones 12 y 13, consideramos que esta objeción se debe tener por superada.

IV. ESTADO DE LA TÉCNICA

Su despacho determinó cuatro documentos como relevantes para realizar el análisis de patentabilidad de la presente patente de invención:

1. D1, referido al documento académico Art. 1 titulado “*Anti-Neoplastic Activity of Two Flavone Isomers Derived from Gnaphalium elegans and Achyrocline bogotensis*” que divulga un extracto de *Achyrocline bogotensis*, con actividad antineoplásica y un proceso de obtención del extracto.
2. D2, referido al documento académico Art. 2 titulado “*Evaluación de la actividad antiviral ejercida por sustancias obtenidas a partir de una especie vegetal perteneciente al género Achyrocline sobre la infección in vitro por rotavirus y astrovirus*” que divulga un extracto de *Achyrocline bogotensis*, con actividad antiviral y un proceso de obtención del extracto.
3. D3, referido al documento académico Art. 3 titulado “*Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*” que revela métodos para extraer metabolitos de plantas.
4. D4, referido al documento académico Art. 4 titulado “*Handbook of pharmaceutical excipients*” que revela excipientes farmacéuticos para elaborar composiciones.

EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

1. En primer lugar, es importante resaltar que el compuesto citotóxico proveniente de *A. bogotensis* que se refiere en D1 el artículo corresponde a 3, 5-dihydroxy-6, 7, 8-trimethoxy flavone (flavone B). Los compuestos de la fracción bioactiva antiviral de la presente solicitud del tipo flavonoide son estructuralmente diferentes en el número y posición de los radicales hidroxilos y en el número y posición de los radicales metoxilo y corresponden específicamente a los siguientes: 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona 5,7-dihidroxi-3,8-dimetoxiflavona. Asimismo en la página 2 donde se describen los materiales y métodos en el aparte sobre el procedimiento para obtener los flavone B, se describe lo siguiente:

"Procedure to obtain 3, 5-dihydroxy-6, 7, 8-trimethoxy flavone (flavone B) 200 g of A. bogotensis fresh leaves were submerged in CHCl₃ for 20 minutes. The extract was filtered, concentrated and dissolved in hot methanol. The cold extract was filtered to eliminate fats and was concentrated once again; the obtained solid was dissolved in hot hexane. 100 mg of the purified flavonol was obtained by successive recrystallizations in hexane. The compound was identified by its physical and spectroscopic properties as 3,5- dihydroxy-6,7,8-trimethoxy flavone, mp149–150uC [1], 1H NMR (300 MHz) 3.86 (3H,s), 3.97 (3H,s), 3.99 (3H,s), 4.12 (3H, s), 7.30–7.45 (3H,m), 8.70–8.82 (3H,m), 11.46 (1H,s) [1]."

Este método difiere significativamente del método utilizado para la obtención de la fracción bioactiva con actividad antiviral, puesto que describe la extracción y purificación () de compuestos puros y no comprende un ensayo biodirigido como está descrito en las páginas 21 a 23 de la presente solicitud. Además en el procedimiento biodirigido para la obtención dela fracción bioactiva antiviral se evaluó el extracto que contiene los compuestos citotóxicos presentados en el artículo y no mostraron actividad antiviral.

2. Respecto al documento D2, éste representa un resumen presentado en un congreso nacional de virología donde se describe de manera general que *"...se obtuvieron tres extractos y tres fracciones a los cuales se les determinó su citotoxicidad sobre líneas celulares MA104 y Caco2, susceptibles de infección por RV y AstV, respectivamente."* y posteriormente tres valoraciones virológicas para conocer posibles mecanismos antivirales de los compuestos separados (Extractos y fracciones). Teniendo en cuenta que

el documento no revela aspectos metodológicos precisos de la obtención de los extractos y fracciones, ni su composición, consideramos que este documento no afecta la altura inventiva de la invención.

Adicionalmente, si bien el documento D2 enseña un extracto de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral, no se indica que dicha actividad antiviral se encuentra directamente relacionada con la presencia de 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona, Palmitato de etilo, Ácido palmítico, 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona, 22,23-dihidroestigmasterol, Fitol, Linoleato de etilo, Estigmasterol, Estigmast-4-en-3-ona, 5,7-dihidroxi-3,8-dimetoxiflavona y Acido 3,4-dicafeoilquinico en mezcla con algunos de sus isómeros. De hecho, los anteriores compuestos ni siquiera son nombrados en el trabajo anteriormente citado. De manera que los extractos y fracciones analizadas en D2 evalúan la actividad antiviral producida por sustancias obtenidas a partir de *Achyrocline bogotensis*, sobre la infección in vitro por rotavirus y astrovirus.

De ninguna manera una persona normalmente versada en la materia, con la intención de disminuir la producción de partículas virales infecciosas en una fracción bioactiva se hubiese visto motivada a incluir alguno de los siguientes compuestos: 5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona, Palmitato de etilo, Ácido palmítico, 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona, 22,23-dihidroestigmasterol, Fitol, Linoleato de etilo, Estigmasterol, Estigmast-4-en-3-ona, 5,7-dihidroxi-3,8-dimetoxiflavona y Acido 3,4-dicafeoilquinico en mezcla con algunos de sus isómeros.

3. Respecto al documento D3, éste documento es un artículo científico original publicado en el año 2011 donde se evalúa la actividad tripanocida y citotóxica de 23 plantas colombianas. El método de extracción utilizado en este documento fue el siguiente:

*“Las hojas, tallos o plantas enteras se secaron a temperatura ambiente por varios días y se sometieron a percolación en frío. Para el arrastre de sustancias apolares, se utilizó éter de petróleo o hexano, para sustancias de polaridad intermedia, diclorometano o acetato de etilo, y para un perfil de sustancias más polares, etanol o etanol. Para las plantas *S. nematorhachis* y *S. psychotrioides*, el material vegetal seco se trituró con etanol al 90 % y los restos del solvente se eliminaron por rotaevaporación.*

El extracto se disolvió de nuevo en la mezcla triple de hexano, diclorometano y metanol en proporción 2:1:1, y la parte insoluble en la mezcla triple se disolvió en metanol. Los extractos se llevaron a sequedad para la eliminación de los solventes."

La anterior metodología difiere significativamente de la metodología biodirigida por extracción líquido-líquido continuo consignada en la presente solicitud está descrita en las páginas 21 a 23 del capítulo descriptivo.

Asimismo el objetivo de la investigación consignado en el artículo citado fue "*Evaluar in vitro el potencial tripanocida y la citotoxicidad de extractos obtenidos de 23 plantas colombianas.*" difiere del objetivo de la investigación que llevó a la presente solicitud, determinada por "Buscar sustancias inhibidoras de la infección in vitro por rotavirus y/o astrovirus a partir de extractos y fracciones vegetales obtenidos de una especie nativa colombiana, perteneciente a las familia *Asteraceae* (*Compositae*). Así, la actividad tripanocida se refiere a la actividad biocida contra organismos pertenecientes al género *Trypanosoma*, que biológicamente son protozoos parásitos, mientras que la actividad descrita en la solicitud que nos ocupa se refiere a la actividad antiviral y por tanto difieren igualmente en su propósito de uso.

4. Con respecto a la falta de nivel inventivo en el método divulgado en la reivindicación 2, se desea poner de presente que Si bien son ampliamente conocidos los métodos para realizar la extracción de metabolitos primarios y secundarios de materiales vegetales, las condiciones específicas para llevar a cabo dicha extracción y la cantidad de pasos necesarios para obtener un extracto de mayor pureza y concentración, se determinan mediante la experimentación y el análisis de los resultados.

Por otra parte, el proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* discutido en la reivindicación 2 de la presente solicitud indica claramente la variación en la elección de solventes en diferentes etapas del proceso, lo cual no es señalado ni sugerido por el documento D2. El documento D2 no revela ninguna etapa de la metodología de obtención de la fracción activa, incluyendo solventes.

Igualmente, en ninguno de los documentos citados como arte previo se realiza ningún análisis cromatográfico para identificar los compuestos presentes en el extracto, de

manera que una persona versada en la materia, así hubiese empleado alguno de los solventes divulgados en D3 (por separado), no habría obtenido una fracción activa que contuviera las mismas concentraciones de cada uno de los compuestos divulgados en la reivindicación 2, que además tienen una actividad antiviral específica demostrada.

Adicionalmente, cabe notar que entre los resultados del documento D3 se destaca que las plantas *Achyroclines sp.*, *G. meridanum*, *E. cotinifolia* y *E. heterophylla*, exhibieron poca o ninguna actividad contra el parásito con los diferentes solventes usados, contrario a lo divulgado en la presente solicitud. La actividad biológica valorada en la presente solicitud es antiviral (anti-rotavirus y anti-astrovirus).

5. Por su parte, el contenido del documento D4 dista significativamente de los propósitos de la presente solicitud puesto que trata de un manual de referencia de excipientes que no se relaciona con el método de obtención y composición de la fracción antiviral de la presente solicitud. De hecho, el documento D4 divulga una extensa lista de posibles excipientes farmacéuticamente aceptables que abarca composiciones de diferentes tipos.

Una persona normalmente versada en la materia estaría en capacidad de entender que la elección de excipientes farmacéuticamente aceptables está condicionada al tipo de composición que se desee obtener, el tipo de administración y por supuesto el tratamiento de cada afección en particular, entre otros factores. Está claro que, a partir de una larga lista de posibles excipientes farmacéuticamente aceptables divulgados en un Handbook, una persona normalmente versada en la materia no incluiría aquellos que puedan ser aptos para una composición farmacéutica para el tratamiento de la enfermedad diarreica aguda causada por virus del tipo Rotavirus y Astrovirus. El documento es un manual que no contiene información directa relacionada con la invención, en específico una formulación obtenida de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral y excipientes específicos.

6. Finalmente, se desea incluir los resultados de valoraciones *in vitro* que han confirmado la actividad virucida de la composición farmacéutica descrita en las reivindicaciones 12 y 13 con respecto a la reducción de partículas virales (ver figuras 1, 2, 3).

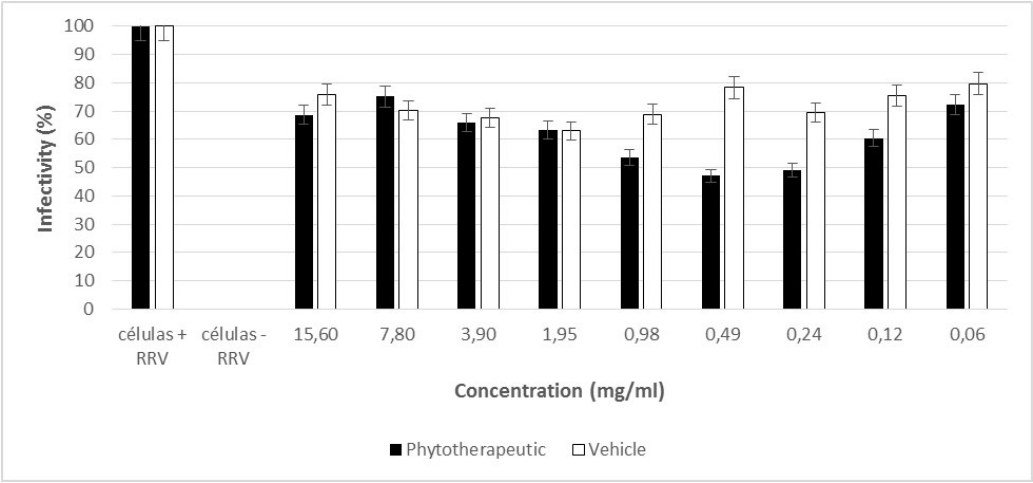


Figura 1. Actividad virucida contra rotavirus (RRV) ejercida durante 2 horas de exposición a 37°C.

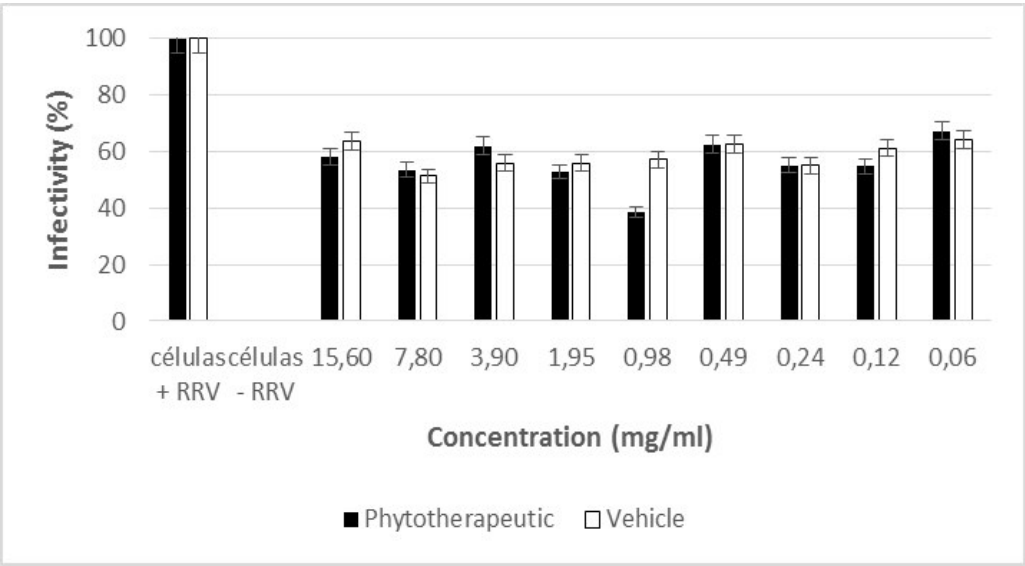


Figura 2. Actividad virucida contra rotavirus (RRV) ejercida durante 4 horas de exposición a 37°C.

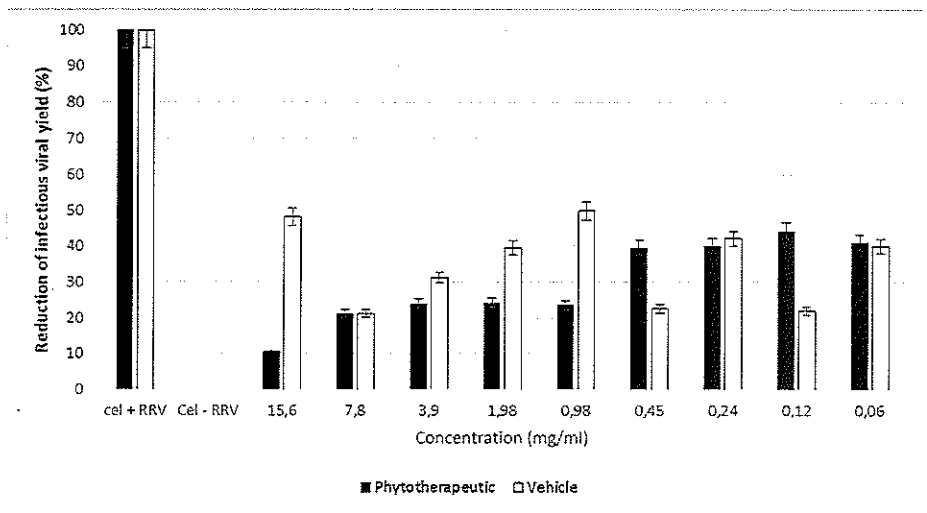


Figura 3. Actividad anti-rotavirus (RRV) post-infección.

Como se observa en las gráficas, todos los experimentos mostraron que tanto la composición farmacéutica como el vehículo utilizado para prepararlo (Glicerina al 50% preservada con sorbato de potasio al 0,8%) ejercen una actividad antiviral, por lo que podría considerarse a este último como un potenciador de la actividad.

IV. PETICIÓN

Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por la Dirección de Nuevas Creaciones, se solicita proceder al otorgamiento de la solicitud de patente.

V. ANEXOS

Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 13 reivindicaciones

Señor Director,

ANDRES RINCON USCATEGUI
C.C. 79.780.910 de Bogota
T.P.A. No. 114.908

COLO-19032-0801-0007-8
DPG\DPG\ID-294726\WPC19032
No. M-2017-294726\DPG

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Una fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral obtenida por metodologías biodirigidas, estandarizada y marcada analíticamente **caracterizada porque** comprende:

Compuestos identificados por CG-MS	% m/m del compuesto en la fracción bioactiva F1
5-hidroxi-7,8-dimetoxiflavona	5-18
Palmitato de etilo	4-16
Ácido palmítico	4-16
6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	2-10
22,23-dihidroestigmasterol	1-6
fitol	1-6
linoleato de etilo	1-5
Estigmasterol	1-5
Estigmast-4-en-3-ona	1-5
Compuestos identificados por UHPLC-UV-MS	
5,7-dihidroxi-3,8-dimetoxiflavona	ND
Acido 3,4-dicafeoilquinico en mezcla con algunos de sus isómeros	ND

*ND= No Determinado.

2. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral, **caracterizada porque** comprende las siguientes etapas:
- a) Separar la fracción con componentes químicos de la superficie foliar del material vegetal fresco de *Achyrocline bogotensis* con un solvente orgánico de constante dieléctrica 4.5 a 5.0.
 - b) Desengrasar partes vegetativas secas de *Achyrocline bogotensis* en frío con solvente orgánico de tipo hidrocarburo alifático con una constante dieléctrica entre 1.8 y 2.5;
 - c) Macerar partes vegetativas secas desengrasadas obtenidas en la etapa b) con un solvente de alta polaridad con constante dieléctrica entre 10 y 40;
 - d) El extracto obtenido en la etapa c) se fracciona con un solvente tipo hidrocarburo alifático con una constante dieléctrica entre 1.8 y 2.5;

- e) Concentrar la fracción obtenida en la etapa d).
 - f) Disolver la fracción obtenida en la etapa e) en solvente orgánico polar aprótico de constante dieléctrica entre 4 y 5.
3. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** se separan los componentes químicos de la superficie foliar del material vegetal en la etapa a) por percolación con cloroformo.
 4. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** el solvente en la etapa b) y d) es hexano.
 5. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 4, **caracterizada porque** el solvente de la etapa b) extrae del material vegetal los componentes de baja polaridad por maceración en frío.
 6. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** el solvente de la etapa c) corresponde al solvente orgánico etanol.
 7. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 6, **caracterizada porque** el solvente de la etapa c) extrae del material vegetal los componentes de alta polaridad por maceración en frío.
 8. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** el solvente de la etapa d) extrae los componentes de la fracción bioactiva a partir del extracto obtenido en la reivindicación 7, por fraccionamiento líquido – líquido continuo.
 9. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 2, **caracterizada porque** la concentración

del extracto en la etapa e) se realiza por eliminación del solvente a presión reducida.

10. Proceso para obtener la fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral de la reivindicación 9, **caracterizada porque** la disolución de la fracción de la etapa e) se realiza con el solvente aprótico dimetilsulfóxido.

11. Fracción bioactiva de *Achyrocline bogotensis* con actividad antiviral **caracterizada porque** es obtenida por el proceso de las reivindicaciones 2 a 10

12. Composición farmacéutica de *Achyrocline bogotensis* **caracterizada porque** es obtenida mediante el siguiente método:

- a. Extracción exhaustiva de *Achyrocline bogotensis* en una mezcla agua alcohol llevado hasta sequedad total.
- b. Filtración del producto obtenido a partir del punto a.
- c. Destilación al vacío a partir del producto obtenido en el punto b.
- d. Al producto obtenido en el punto c se adiciona solución concentrada de glicerina al 50% preservada con sorbato de potasio al 0,8%.

13. Composición farmacéutica de *Achyrocline bogotensis* obtenida de acuerdo con la reivindicación 12 y **caracterizada porque**:

- a. Contiene los compuestos de la fracción bioactiva descritos en la reivindicación 1.
- b. Carece de excipientes de base alcohólica.