

Bogotá D.C., 28 de febrero de 2023

Doctora
EDNA MARCELA RAMÍREZ OROZCO
Directora de Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio
Carrera 13 No. 27-00

Asunto: Respuesta al requerimiento de fondo, Oficio N° 19424 del 28 de noviembre de 2022.

Referencia: **Expediente:** NC2020/0013956.

Título: PÉPTIDOS SINTÉTICOS ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR NMDA CON EFECTO DE NEUROPROTECCIÓN EN MODELO DE ISQUEMIA IN-VITRO.

Solicitante: Universidad Nacional de Colombia.

Respetada directora:

MIGUEL HUMBERTO SARMIENTO QUIJANO, mayor de edad y domiciliado en la ciudad de Bogotá, identificado tal y como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**, conforme al poder que se adjunta junto el presente recurso, me permito presentar respuesta al requerimiento de fondo, dentro del plazo legal establecido por el Capítulo Quinto del Título I de la Circular única de la Superintendencia de Industria y Comercio, y acorde con el Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo, en los siguientes términos:

2. Reivindicaciones estudiadas

Considerando el contenido del oficio de referencia, se remiten las observaciones y respuestas a cada uno de los puntos allí mencionados,

buscando responder cada uno de ellos y pretendiendo continuar con el proceso de solicitud de la patente de invención.

3. De la solicitud de patente

3.1 Listado de secuencias

Se adjunta como anexo el listado de secuencias para dar cumplimiento a lo establecido por el artículo 28 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, donde se presentan debidamente referenciadas las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO: 1 a 5, de acuerdo con el estándar ST.25.

4. Determinación del Estado de la Técnica

La búsqueda de literatura científica y tecnológica relacionada con la invención aquí reivindicada, realizada por el examinador, le llevó a establecer que el documento más cercano, D1, es "Synthetic peptides that modulate the NMDA receptor" (WO2017109756), invención que corresponde al mismo grupo de inventores y que, efectivamente, hace referencia a dos péptidos sintéticos antagonistas del influjo iónico a través del receptor NMDA.

5. Examen de Patentabilidad

5.1. Nivel Inventivo

Al abordar el análisis del nivel inventivo, el examinador compara inicialmente las secuencias de aminoácidos en el documento D1 con las reivindicadas en esta solicitud para concluir:

- *"No se evidencia un efecto técnico inesperado asociado a dicha diferencia, que proporcione un péptido agonista con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba D1, puesto que el estado de la técnica ya sugería un péptido sintético caracterizado por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 ($IC_{50} = 113 \mu M$), el cual presenta baja afinidad de unión por el receptor NMDA en cultivos neuronales, para generar un efecto antagonista sobre corrientes evocadas de dicho receptor en neuronas hipocampales, comparado con los reportes de afinidad de los antagonistas clásicos que incluyen la Conantoquina - G ($IC_{50} = 0.1 \mu M$). Además, el péptido de SEQ ID*



NO: 2 es selectivo hacia la subunidad GluN2B del receptor NMDA (Página 5, Párr. [0023] - Figs. 1 a 4)"

A esta observación los inventores responden: El péptido reportado en D1, *SEQ ID NO: 2* genera un efecto antagonista del receptor NMDA y no agonista como lo cita el examinador. En el capítulo descriptivo de la solicitud en la pág. 3, líneas 39-44 se especifica lo siguiente, con referencia a D1 *"La patente CO15303915 / WO 2017/109756 A2, presenta una serie de péptidos moduladores de la actividad del receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA). Específicamente hace referencia a dos péptidos sintéticos antagonistas del influjo iónico a través del receptor NMDA con especificidad hacia las subunidades GluN2B y GluN2A del receptor MMDA "*.

También se aclara que el IC_{50} que "corresponde con la concentración de péptido requerida para inhibir la mitad de la respuesta máxima cuando se da la apertura del receptor NMDA" para el péptido reportado en D1, *SEQ ID NO: 2* tiene un valor de 242 μM diferente al valor de 113 μM que el examinador presenta en el examen del nivel inventivo.

De acuerdo con lo anterior, los inventores indican que los péptidos de la solicitud, *SEQ ID NO: 4* y *SEQ ID NO: 5*, presentan una relación dosis respuesta más efectiva que los péptidos presentados en D1 y mantienen su actividad antagonista sobre las corrientes evocadas por el receptor en neuronas hipocámpales y su selectividad hacia la subunidad GluN2B del receptor NMDA. Mientras el IC_{50} de la *SEQ ID NO: 2* reportada en D1 presenta un valor de 242 μM , el IC_{50} para el péptido *SEQ ID NO: 4* es de 49.37 μM y de 4.34 μM para el péptido de *SEQ ID NO: 5* (Tabla 1). Valores más bajos de IC_{50} indican que los péptidos tienen mayor afinidad por el receptor sin que se afecte la reversibilidad de la interacción, indicando una ventaja técnica sobre la CON-G, *SEQ ID NO: 1* y *SEQ ID NO: 2* reportada en D1, además de tener aplicación industrial si se piensa en el desarrollo de un agente farmacológico.

Tabla 1. Comparación del IC_{50} de los péptidos de D1 y la presente invención.

péptido	IC_{50} (μM)
---------	--------------------------

SEQ ID NO: 4	49.37
SEQ ID NO: 5	4.34
SEQ ID NO: 2	242

Adicionalmente, los péptidos reclamados en la solicitud, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, generan un efecto neuroprotector en neuronas hipocampales de cultivo primario en modelo de isquemia *in vitro*; tal como se demostró con datos experimentales en el capítulo descriptivo págs. 13-15, Figuras 7-D,E,F, Figura 9. Lo anterior, indica una ventaja técnica sobre los péptidos presentados en D1, ya que, en el estado de la técnica de D1 no se indica ni se reivindica algún tipo de efecto neuroprotector como si lo hace SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, y por tanto, se supera lo reivindicado en el D1.

Los péptidos reclamados, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, al estar presentes en el proceso de OGD (Deprivación de Oxígeno-Glucosa) o en el proceso de recuperación de OGD no permiten el clivaje de la caspasa-3, lo que indica que se produce un efecto de neuroprotección al regular el flujo de iones calcio a través del NMDAR y de esta forma evitando la activación de las vías de muerte celular relacionadas con la excitotoxicidad por calcio. Al comparar la acción del péptido SEQ ID NO: 2, y los péptidos reclamados, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, se presentan mayores porcentajes de respuesta, ya que para las SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, los porcentajes de viabilidad celular durante el proceso de deprivación y recuperación en presencia de los péptidos son mayores, para SEQ ID NO: 4 79.35% y 83.33% con reoxigenación y para SEQ ID NO: 5, 75.56% y 58.89% con reoxigenación, mientras que para SEQ ID NO: 2, es del 46 y 51 % respectivamente.

A continuación, en la tabla 2, se presentan los porcentajes de viabilidad celular para una mejor comprensión de los datos descritos en el capítulo descriptivo.

Tabla 2. Porcentajes de viabilidad celular obtenidos con los péptidos durante hipoxia

Condición de OGD	Porcentaje del Incremento en la viabilidad con SEQ ID NO: 2	Porcentaje del Incremento en la viabilidad con SEQ ID NO: 4	Porcentaje del Incremento en la viabilidad con y SEQ ID NO: 5
Hipoxia	46	79.35	75.56
Hipoxia + reoxigenación	51	83.33	58.89

*El nivel de respuesta de las neuronas sin OGD en los estímulos determinados por imágenes de calcio es del 98%, cuando las neuronas se someten a OGD la respuesta es 46%.

En el estudio de la acción de los péptidos reclamados, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5 se evaluó la actividad postsináptica espontánea excitatoria (EPSC) mediada por el NMDAR. Este tipo de evaluación permite estudiar el estado fisiológico de las neuronas. La diferencia con respecto a los otros ensayos electrofisiológicos es que en los primeros se evalúa a las neuronas de forma independiente, estableciendo el efecto y las concentraciones inhibitorias. Los registros de EPSC son relevantes porque este tipo de ensayos demuestran la capacidad de unión al receptor de los péptidos SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, y más aún la capacidad de desacoplarse en tiempos que permiten procesos sinápticos continuos y duraderos en la comunicación entre las neuronas, descrito en la Figura 6; esta actividad no fue evaluada en el reporte D1, SEQ ID NO: 2.

Lo anterior, es posible debido a la secuencia o estructura primaria que es única y particular de cada uno de los péptidos, así en la *SEQ ID NO: 4*, donde hay una Alanina (A) en posición 7 que genera un efecto cinco veces mayor con respecto a la secuencia, *SEQ ID NO: 2*, proporcionada en D1, donde hay un ácido aspártico (Asp). A su vez, en la *SEQ ID NO: 5*, hay una metionina (Met) en posición 8 que genera una mejora del efecto 50 veces mayor con respecto a *SEQ ID NO: 2*, que proporciona D1 (Tabla 1)

De igual forma, el péptido reportado en D1, SEQ ID No 2 es estructuralmente diferente a los péptidos reclamados, SEQ ID No 4 y SEQ ID No 5, ya que, se presenta un porcentaje de similitud entre ellos del 88,24%; los péptidos SEQ ID No 4 y SEQ ID No 2 presentaron un



porcentaje de similitud del 94.12% y los péptidos SEQ ID No 5 y SEQ ID No 2 presentaron un porcentaje de similitud del 94,12%.

- *Sin embargo, el mismo D1 ya sugería las metodologías para producir péptidos sintéticos con actividad agonista del receptor NMDA, los cuales son análogos de la Conantoquina -G (Con-G), en donde el blanco molecular de esta es la subunidad GluN2B de dicho receptor. En realizaciones particulares, se indica que se deben reemplazar los cinco residuos del aminoácido modificado gama-carboxiglutamato presentes en la Con-G (posiciones 3, 4, 7, 10 y 14) por ejemplo, por el aminoácido Asp (D) de forma que toda la secuencia SEQ ID NO: 2 contenga aminoácidos estándar. Esto con el objetivo de disminuir la afinidad de dichos péptidos al receptor NMDA, con respecto a la Con-G, manteniendo así el efecto antagónico. Por otro lado, se menciona que para el péptido modulador que se presenta como SEQ ID NO: 3, se realizaron las mismas modificaciones descritas en la secuencia SEQ ID NO: 2, y adicionalmente se incluyeron las sustituciones de Leu (L) 5 por Tyr (Y), y Asn (N) 8 por Ala (A) (Página 4, Párr. [0017]).*

El examinador argumenta que en el péptido reportado en D1, SEQ ID NO: 2, estaban sugeridos los cambios de aminoácidos en la secuencias de los péptidos SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, nótese que estos cambios son diferentes, ya que no se puede sugerir de manera obvia que un cambio de un ácido aspártico (Asp) sea igual que un cambio por una Alanina (A), o una asparagina (Asn) por una metionina (Met); los aminoácidos que se encuentran en las proteínas, se caracterizan por ser diferentes en sus propiedades fisicoquímicas, lo anterior se genera porque la cadena lateral (R) es diferente, y por lo tanto, la combinación de aminoácidos genera secuencias que adquieren diferentes conformaciones para obtener una gran diversidad funcional que se da mediante diferentes tipos de interacciones débiles (por ejemplo, interacciones electrostáticas, hidrofóbicas), lo que indica que en el caso de los péptidos un solo cambio en uno de los aminoácidos de la secuencia puede cambiar su función, y en consecuencia, el efecto. Teniendo en cuenta esas propiedades características de los péptidos es muy difícil predecir los efectos puntuales producidos a partir de los cambios estructurales en los aminoácidos de los péptidos reclamados



a partir de las enseñanzas reportadas en D1. Los inventores explican que durante la ejecución del método, para hacer cualquier cambio de aminoácidos en la secuencia de un péptido, se requiere un estudio computacional riguroso, el cual a través de múltiples acoplamientos moleculares fueron seleccionados los mejores resultados en términos de interacción péptido-receptor.

Por lo tanto, para obtener la estructura de los péptidos reclamados en la solicitud se requiere de un conocimiento especializado al que una persona versada en la materia no podría obtener a partir de las enseñanzas reportadas en D1 y al acceso de conocimientos generales comunes en Bioquímica. Acorde a lo establecido en la guía de examen de patentes de la SIC:

"Se supone que la persona del oficio normalmente versada en la materia tiene los conocimientos medios en el campo de la técnica específico de la invención, pero no es especializado, ejerce normalmente el oficio, tiene las competencias normales y está al corriente de los conocimientos generales comunes en la técnica (información contenida en monografías, diccionarios, libros de texto, etc.)..."

Se resalta que a través de un conocimiento especializado se generaron los péptidos reclamados, *SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO:5, con IC50 más bajo, mejores afinidades, y un mejor efecto que mantiene la reversibilidad del canal y este hecho se evidencia a través de la experimentación y comparación de los efectos obtenidos para los péptidos SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO: 2.*

Con la información expuesta queda demostrado que los péptidos, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, tienen nivel inventivo ya que tal como se presenta en la guía de examen de solicitud de patentes sobre anticuerpos emitida por la SIC en su apartado acerca de nivel inventivo manifiesta lo siguiente;" *La existencia de un efecto o actividad sorprendente permite establecer el nivel inventivo de los anticuerpos nuevos, en particular, cuando en el estado de la técnica se reportan estructuras muy próximas. En este sentido, los tipos de efectos técnicos pueden ser: i) completamente diferente al efecto conocido; y ii) una mejora sustancial al efecto de la misma índole".* Claramente, para la solicitud de patente en estudio en la cual se reclaman los



péptidos de secuencia SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5 se presenta una mejora sustancial al efecto presentado por el péptido de SEQ ID NO: 2 contenido en la anterioridad D1.

El examinador concluye las observaciones sobre el nivel inventivo de la solicitud de patente en el requerimiento comunicado mediante Oficio N° **19424** de **28 de noviembre de 2022** de la SIC, señalando: *La reivindicación 2 tampoco cumple con el requisito de nivel inventivo, pero no se presenta un análisis sustentado acerca de la carencia de nivel inventivo. En la reivindicación 2 se reclama el péptido SEQ ID NO: 5, cuyo nivel inventivo fue suficientemente demostrado con las explicaciones presentadas en los párrafos anteriores al refutar las objeciones que conforman este oficio y que se dirigen a descalificar el nivel inventivo de la SEQ ID NO: 4 y por extensión la SEQ ID NO: 5.*

5. Conclusión

En conclusión, se considera que los péptidos reclamados SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5 tienen el nivel inventivo suficiente para superar lo reclamado en D1.

Cordialmente,

MIGUEL HUMBERTO SARMIENTO QUIJANO

C.C 80.038.637 de Bogotá

T.P. 141.570 del CSJ

Apoderado Universidad Nacional de Colombia

Anexos:

1. Poder
2. Listado de secuencias