

DOCTORA:
EDNA MARCELA RAMÍREZ OROZCO
DIRECTORA NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S. D.

REF. EXPEDIENTE No.: NC2021/0000026.
SOLICITUD PATENTE: COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA SINÉRGICA DE
ACECLOFENACO Y BETAMETASONA PARA EL
TRATAMIENTO DEL DOLOR EN LAS FORMAS
LOCALIZADAS DE AFECCIONES REUMÁTICAS.
SOLICITANTES:
- Carlos AMÉZCUA AMÉZCUA.
- Federico AMÉZCUA AMÉZCUA.

RESPUESTA A REQUERIMIENTO OFICIAL **OFICIO NO. 12924** NOTIFICADO EL 01
DE AGOSTO DE 2023.

CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, mayor de edad, domiciliada en Bogotá D.C.,
identificada con cedula No 40.017.374, en mi condición de apoderada de los
solicitantes **CARLOS AMÉZCUA AMÉZCUA** y **FEDERICO AMÉZCUA AMÉZCUA**,
por el presente escrito y estando dentro del término legal para hacerlo, doy
respuesta al oficio arriba referenciado, de acuerdo con lo siguiente:

En respuesta al oficio No. 12924, a continuación, encuentran:

- i. Respuesta a los puntos del requerimiento
 - Respuesta punto por punto a los requerimientos del examinador.
- ii. Adjunto a este memorial se presentan los siguientes documentos
 - Nuevo capítulo reivindicatorio.
 - análisis preclínico de efectos antinociceptivos generados por la combinación de aceclofenaco + betametasona gel por vía tópica en dolor artrítico.
 - Comprobante de pago por las modificaciones al capítulo reivindicatorio.

1. **De la solicitud de patente.**

Reivindicaciones

- Manifiesta el examinador que el término *“combinación sinérgica”* de la reivindicación 1 no distingue de manera clara la composición que se reclama, puesto que el sinergismo es particular de cada pareja de activos y la proporción entre ambos. Manifiesta el examinador que no se tendrá en cuenta la expresión objetada en el estudio del examen de patentabilidad.

Aunque el solicitante entiende que se ha definido una pareja de *activos y la proporción entre ambos* tal y como lo referencia el examinador. El solicitante, en aras de facilitar el trámite de la presente solicitud de patente, ha eliminado dicho término del capítulo reivindicatorio

- Manifiesta el examinador que el término *“y en donde la composición es una formulación transdérmica, tópica”* no es claro, ya que no permite identificar claramente a la materia que se desea proteger.

El solicitante ha eliminado la frase objetada por el examinador. Entiende el solicitante que la objeción ha sido subsanada.

- Manifiesta el examinador que el extracto *“en donde el aceclofenaco está en una concentración de 0.01 a 10,000 mg y la betametasona está en una concentración de 0.001 mg a 10,000 mg por cada 100 g de la composición”* de la reivindicación 1, es poco conciso y puede abarcar concentraciones de activos que no se encuentran dentro del alcance de la invención y no proporcionan ningún efecto técnico.

El solicitante quisiera manifestar su desacuerdo con la objeción del examinador. En primer lugar la composición está debidamente soportada de acuerdo con la solicitud presentada, se hace notar que la invención fue probada con base en el modelo PIFIR el cual es descrito en la solicitud tal y como fue originalmente presentada, en donde dicha información incluida

en la descripción forma parte del estudio preclínico denominado “ANÁLISIS PRECLÍNICO DE EFECTOS ANTINOCICEPTIVOS GENERADOS POR LA COMBINACIÓN DE ACECLOFENACO + BETAMETASONA GEL POR VÍA TÓPICA EN DOLOR ARTRÍTICO”, el cual se anexa para mejor referencia. Cabe mencionar que en dicho documento se describe la dosis utilizada de prueba (página 2 segundo párrafo), donde se menciona:

*Es así como entonces fueron empleados los siguientes compuestos en las concentraciones especificadas: 1) la combinación de gel de aceclofenaco/betametasona (DESI-17-004-G), **en concentración de aceclofenaco 0.75 g y betametasona 0.05 g por cada 50 g de gel**, 2) la Betametasona (DESI-17-004-G2), en concentración original de betametasona 0.1 g por cada 50 g de gel, y 3) Aceclofenaco (DESI-17-004-G1), en concentración de aceclofenaco 1.5 g por cada 50 g de gel. (página 2 segundo párrafo anexo análisis preclínico...),*

Y en la descripción tal y como se presentó el 6 de enero de 2021 en la página 21 líneas 18 a 23 se menciona la dosis de administración en el rango de:

La administración de dichos compuestos, por cada uno se da en una cantidad de aproximadamente 0.01 mg a aproximadamente 10,000 mg de tratamiento para el aceclofenaco por cada 100 g de fórmula, mientras que para la betametasona se da en una cantidad de aproximadamente 0.001 mg a aproximadamente 10,000 mg por cada 100 g de fórmula.

- El examinador manifiesta la materia reclamada no se encuentra debidamente definida, ya que “excipiente farmacéuticamente aceptable” no es claro ni conciso y no permite a la persona versada en la materia distinguir los excipientes que se encuentran haciendo parte de la invención.

Aunque el solicitante entiende que el termino objetado es claro para el área técnica de la presente invención; el solicitante, en aras de facilitar el trámite

de la presente solicitud de patente, ha eliminado dicho término del capítulo reivindicatorio.

- Manifiesta el examinador que, de la lectura de la descripción, se aprecia que no hay un desarrollo cierto de una crema, ungüento, gel o pomada de la reivindicación 2 (cantidades reales de ingredientes, método de preparación, etc.), es decir, la fabricación real de alguna de estas composiciones, por lo que dicha cláusula se considera que no está debidamente sustentada en la descripción.

El solicitante ha eliminado la antigua reivindicación 2.

- Manifiesta el examinador que una composición farmacéutica se debe caracterizar por sus componentes específicos (activos y excipientes), así como la proporción de los mismos que es lo que permite diferenciarse claramente de lo conocido en la técnica y distinguir aquel elemento que proporciona el efecto que se reclama. Además, en el caso de combinaciones es necesario incluir las proporciones que otorgan el efecto terapéutico.

Como se explico anteriormente el solicitante entiende que la composición ha sido descrita de forma adecuada y por tanto entiende que la objeción presentada ha sido subsanada.

2. Determinación de Estado de la técnica:

Como resultado del examen de patentabilidad el examinador encontró los siguientes documentos relevantes:

Ítem	Documento	Título	Fecha de publicación
D2	MX2013008992	Composición farmacéutica con agentes antiinflamatorios y proceso de producción	28 junio 2007
D3	US 9597527	Enhancement of Penetration and Action	21 marzo 2017

3. Examen de patentabilidad

Nivel inventivo

Inicia el examinador el examen de nivel inventivo comparando las características técnicas de la reivindicación 1 con la materia revelada en D1 y D2. Luego de esta comparación manifiesta el examinador que D2 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1.

Manifiesta el examinador que la diferencia entre la invención definida entre la reivindicación 1 y la composición divulgada en D2, consiste en que en la presente invención la composición es de aplicación tópica.

El examinador manifiesta que no hay evidencia de que el incluir específicamente una aplicación tópica proporcione un producto con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D2. Cita el examinador la pagina 10 de D2. Plantea el examinador que el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular de la siguiente manera ¿Cómo modificar la composición conocida en D2 para proporcionar otro producto alternativo?

Manifiesta el examinador que el incluir aceclofenaco y betametasona dentro de composiciones dérmicas con activos adecuados ya está divulgado en D3.

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir una aplicación tópica de los activos presente en D3 en las composiciones de D2, para así llegar al objeto de la reivindicación 1. Por lo cual se considera obvia. Continúa el examinador citando la reivindicación 7 de D1.

Finaliza el examinador mencionado que La reivindicación dependiente 2 no menciona alguna característica que, junto con las características de la

reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al producto de la reivindicación 2, por lo cual se considera que carece de nivel inventivo.

Respecto a la falta de novedad y actividad inventiva de la presente invención respecto a los documentos D2 y D3 citados por el examinador, el solicitante quisiera manifestar su desacuerdo en el análisis realizado y por tanto se presentan los siguientes argumentos en defensa de la novedad y el nivel inventivo de la presente invención frente a los documentos citados.

D2, está dirigida a **una composición farmacéutica en forma de tableta de administración oral** caracterizada porque comprende en **un sistema trifásico de liberación, con al menos tres capas con un núcleo con al menos un agente corticosteroide, una capa inferior con al menos un agente antiinflamatorio no esteroideo; y al menos un vehículo farmacéutico**, presentando el núcleo un sistema de liberación retardada o un sistema de liberación prolongada, mientras que la capa inferior presenta un sistema de liberación inmediata o un sistema de liberación modificada; y la capa superior presenta un sistema de liberación prolongada o un sistema de liberación retardada, útil para el tratamiento del dolor corporal e inflamaciones de zonas afectadas.

Por otro lado, el solicitante quisiera resaltar que D3, describe un sistema dérmico que comprende al menos **una fuente de luz y al menos un ingrediente farmacéutico y/o cosméticamente activo** utilizado para mejorar la penetración y/o acción de al menos uno de los ingredientes farmacéutica y/o cosméticamente activos.

Presenta **efectos sinérgicos entre la acción beneficiosa de la luz roja y/o la radiación infrarroja y el ingrediente farmacéutica y/o cosméticamente activo**, es decir, la bien conocida irradiación beneficiosa con luz roja y/o infrarroja y la acción beneficiosa de un ingrediente farmacéuticamente y/o cosméticamente

activo. o ingrediente cosméticamente activo puede producir un efecto sinérgico no lineal cuando se aplica simultáneamente.

Como se puede observar, ninguno de los documentos citados se refiere a una:

Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende una combinación de:

i. aceclofenaco y/o sus sales farmacéuticamente aceptables, siendo aceclofenaco;

ii. betametasona y/o sus sales farmacéuticamente aceptables; y

iii. un vehículo y/o excipientes,

en donde la composición esta formulada en una sola unidad de dosificación

en donde el aceclofenaco está en una concentración de 0.01 a 10,000 mg y la betametasona esta en una concentración de 0.001 mg a 10,000 mg por cada 100 g de la composición;

y en donde la composición es una formulación en gel.

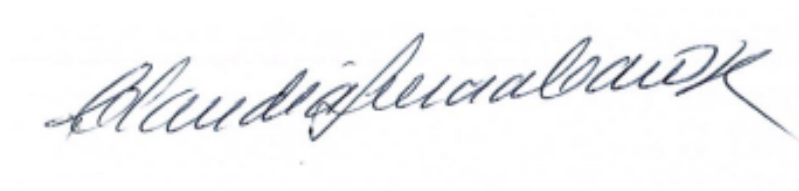
En conclusión, me permito establecer que, gracias a las modificaciones realizadas y los argumentos expuestos anteriormente, la presente solicitud cumple cabalmente con los requisitos de claridad, novedad y nivel inventivo.

Por todo lo dicho, solicitamos que la Superintendencia de Industria y Comercio admita los argumentos que se han facilitado y los tenga en cuenta a la hora de analizar la novedad y el nivel inventivo de la presente invención. Asimismo, solicitamos que continúe el trámite con normalidad y se proceda con la concesión del Derecho sobre la Patente de Invención de la referencia.

Para efectos de notificaciones recibiré estas vía internet (ccaro@pons.com.co), en la secretaría de esa dirección y/o en la de la Delegatura de Propiedad Intelectual o

en mi oficina de abogados de la Calle 94 A No 11A-32 Oficina 306 de la ciudad de Bogotá.

Agradezco su atención.



CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ

CC No 40.017.374 de Tunja

T.P. No 36.448 del C.S de la J.

Adjunto lo anunciado.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende una combinación de:

5 i. aceclofenaco y/o sus sales farmacéuticamente aceptables, siendo aceclofenaco;

ii. betametasona y/o sus sales farmacéuticamente aceptables; y

iii. un vehículo y/o excipientes,

10 en donde la composición esta formulada en una sola unidad de dosificación

en donde el aceclofenaco está en una concentración de 0.01 a 10,000 mg y la betametasona esta en una concentración de 0.001 mg a 10,000 mg por cada 100 g de la composición;

y en donde la composición es una formulación en gel.

15

ANÁLISIS PRECLÍNICO DE EFECTOS ANTINOCICEPTIVOS GENERADOS POR LA COMBINACIÓN DE ACECLOFENACO + BETAMETASONA GEL POR VÍA TÓPICA EN DOLOR ARTRÍTICO.

Este documento contiene:

Reporte Final: Resultados y análisis de los cursos temporales individuales de efectos antinociceptivos. Resultados y análisis de los cursos temporales de efectos antinociceptivos de la combinación. Determinación del tipo de interacción generado con la combinación aceclofenaco+betametasona vía tópica en dolor artrítico en rata. Efectos adversos gastrointestinales y afecciones en la coordinación motora generado por los compuestos individuales. Efectos adversos gastrointestinales y afecciones en la coordinación motora generado por la combinación.

INTRODUCCIÓN.

Las combinaciones de agentes analgésicos conteniendo 2 o más compuestos son ampliamente usadas en la terapéutica; muchas de estas combinaciones son formuladas con la intención de producir mayores efectos analgésicos. El modelo experimental PIFIR (*López-Muñoz y col., 1993*) es un modelo preclínico en el que es posible establecer una artritis de tipo gota en la rata y comparar en los animales con esta alteración, la eficacia analgésica de diversos fármacos. Este modelo experimental tiene algunas ventajas importantes con respecto a otras metodologías preclínicas, ya que puede establecer en la rata una alteración que afecta clínicamente a los humanos como lo es la artritis de tipo gota, también, el curso temporal del efecto analgésico puede ser determinado a lo largo 4 h continuas, en el mismo sujeto experimental, sin producir condicionamiento o aprendizaje en la rata, lo que es una desventaja importante en otros modelos experimentales; y también se puede consumir menos compuesto de prueba, que en otros modelos experimentales que emplean especies animales mayores; además de que la evaluación de los efectos analgésicos es realizada por medio de una computadora y no depende de observaciones algunas veces subjetivas.

Existen diferentes formas farmacéuticas para dosificar los fármacos, entre estas, existen los geles para administración tópica. Por ello es importante realizar determinaciones experimentales para establecer si al aplicar un producto farmacéutico, en este caso gel tópico, es capaz de ser absorbido y generar los efectos deseados, en este caso analgesia o antinocicepción. Por ello se planteó el desarrollo de este estudio, en el cual, a partir de administrar los compuestos en administración individual o combinada a animales de laboratorio por vía tópica, se podría visualizar efectos antinociceptivos, y con ello deducir que son absorbidos adecuadamente.

Es así que entonces fueron empleados los siguientes compuestos en las concentraciones especificadas: 1) la combinación de gel de aceclofenaco/betametasona (DESI-17-004-G), en concentración de aceclofenaco 0.75 g y betametasona 0.05 g por cada 50 g de gel, 2) la Betametasona (DESI-17-004-G2), en concentración original de betametasona 0.1 g por cada 50 g de gel, y 3) Aceclofenaco (DESI-17-004-G1), en concentración de aceclofenaco 1.5 g por cada 50 g de gel.

Objetivos:

- 1) Determinar los efectos antinociceptivos individuales de aceclofenaco gel y de betametasona gel vía tópica en dolor de tipo artrítico (Modelo experimental PIFIR en rata).
- 2) Determinar los efectos antinociceptivos de la combinación de aceclofenaco + betametasona gel vía tópica en dolor de tipo artrítico (Modelo experimental PIFIR en rata).
- 3) Analizar los cursos temporales y de los efectos antinociceptivos totales: latencias, Emáx, efectos globales, cobertura antinociceptiva, efectos puntuales.
- 4) Analizar y determinar de tipo de interacción puntual.
- 5) Reporte de efectos adversos en caso de presentarse.
- 6) Análisis de posibles efectos adversos gastrointestinales y coordinación motora.

En este estudio no se podrían determinar combinaciones óptimas, efectos de letalidad, índices terapéuticos y márgenes de seguridad, debido a que la presentación en gel limita las cantidades que pueden ser administradas a las ratas de laboratorio.

MÉTODO.

Animales de Experimentación.

Los experimentos fueron realizados empleando ratas macho Wistar [CrI:(WI)BR] con un peso de entre 180 y 200 g. Todos los procedimientos experimentales siguieron las recomendaciones de *The Committee for Research and Ethical Issues of the International Association for the Study of Pain* (Covino y col., 1980) y las *Guidelines on Ethical Standards for Investigations of Experimental Pain in Animals* (Zimmermann 1983). El número de animales de experimentación fue llevado al mínimo (6 ratas por punto experimental). Los animales fueron mantenidos en un cuarto con ciclos alternos de luz/obscuridad.

Doce h antes de los experimentos, a las ratas les fue cortado muy cuidadosamente el pelo que cubre la parte dorsal de la rata. Este procedimiento fue hecho con una rasuradora eléctrica dejando perfectamente cortado el pelo, y teniendo cuidado de no lesionar piel de la rata. Todos los experimentos fueron llevados a cabo durante la fase de luz, siendo usados los animales solo una vez.

Compuestos.

En este estudio fueron empleados los siguientes compuestos: ácido úrico (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA), aceclofenaco gel, betametazona gel, y gel de aceclofenaco+betametazona ya en combinación. Los fármacos en forma de gel fueron proporcionados por Lab. RAAM de Sahuayo. Con el fin de poder hacer las comparaciones de efectos analgésicos generados por los diferentes compuestos y dado que el componente activo como analgésico es el aceclofenaco, todas las dosis mencionadas en texto se refieren al compuesto activo aceclofenaco. Dado que el gel de los compuestos en combinación ya viene así fabricado, fueron calculadas las dosis deseadas a administrar de aceclofenaco, y entonces fue deducida la dosis de

betametasona que acompaña a cada dosis diferente de aceclofenaco administrada en combinación, para después administrar las dosis de betametasona gel sola.

Evaluación de la Actividad Analgésica.

La evaluación de efectos analgésicos fue realizada empleando el modelo PIFIR , el cual ya ha sido descrito previamente en detalle (*López-Muñoz y col., 1993*). Brevemente, los animales fueron anestesiados en una cámara de anestesia saturada con vapores del anestésico isoflurano. La artritis de tipo gota fue inducida, al aplicar una inyección intra-articular (*i.a.*) de 0.05 ml de ácido úrico suspendido en aceite mineral en la extremidad posterior derecha, exactamente en la articulación fémur-tibio-rotular. Para la inyección intraarticular se utilizó una jeringa de vidrio de 1 ml con una aguja del No. 22 de 4 mm de longitud. Inmediatamente después, fue fijado un electrodo en cada extremidad trasera en medio de las callosidades plantares. Se dejó que las ratas se recuperaran de la anestesia y fueron colocaron en un cilindro rotatorio de acero inoxidable de 30 cm de diámetro. El cilindro fue girado a 4 r.p.m., haciendo que las ratas caminaran durante 2 min cada media hora, durante 6 horas en total. La variable que se midió fue el tiempo de contacto de cada una de las extremidades traseras de las ratas en el cilindro. Cuando hace contacto el electrodo y el cilindro se cierra un circuito y la relación entre el tiempo de contacto de la pata lesionada con respecto a la no lesionada se registró en una computadora.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL.

Los efectos analgésicos producidos por aceclofenaco gel, betametasona gel, y la combinación de aceclofenaco+betametazona gel fueron estudiados individualmente haciendo la aplicación tópica a 2.5 h después de la administración del ácido úrico al 30% y evaluaciones de la funcionalidad cada 0.5 h durante las 4 h siguientes. Las dosis evaluadas de cada uno de los compuestos fueron las siguientes: aceclofenaco gel (3.2, 10, 31.6 y 100 mg/Kg vía tópica), betametasona gel (0.2, 0.67, 2.1 y 6.7 mg/Kg vía tópica), y aceclofenaco+betametasona gel (3.2+0.2, 10+0.67, 31.6+2.1, y 100+6.7 mg/Kg respectivamente vía tópica). Simultáneamente fue determinado también como control, los efectos que tuvo sobre la funcionalidad el cortar el pelo en las ratas, al seguir todo el protocolo experimental, pero sin poner gel alguno en forma tópica.

Fueron determinados los cursos temporales de cada tratamiento durante 4 h continuas, empleando una "n" de 6 ratas por tratamiento. Para el propósito de este estudio, inducir nocicepción en los animales experimentales fue inevitable. Sin embargo, se puso cuidado en evitar sufrimiento innecesario a los animales. Al final de las determinaciones experimentales las ratas fueron sacrificadas inmediatamente.

PRESENTACIÓN DE DATOS.

Los datos son expresados como Índice de Funcionalidad porcentual (IF%). Este IF% es la relación obtenida al dividir el tiempo de contacto de la extremidad con ácido úrico entre el tiempo de contacto de la extremidad contralateral de la misma rata, y esto multiplicado por 100. Las curvas de curso temporal (CT) son construidas al graficar IF% o Disfunción contra tiempo (h); el efecto analgésico o antinociceptivo fue estimado como la recuperación del IF%. El efecto antinociceptivo acumulado durante el período de observación total (4h), fue determinado como el área bajo la curva (ABC) del CT, por regla trapezoidal (*Rowland y Tozer, 1989*). Todos los valores graficados en las figuras corresponden a la media $\pm$ error standard de 6 animales.

RESULTADOS.

El ácido úrico al 30% induce una completa disfunción de la extremidad posterior derecha en aproximadamente 2.5 h después de la administración, esto correspondió a un valor de cero del IF%. Las ratas que reciben solo el ácido úrico al 30% no mostraron alguna recuperación significativa del IF% durante el período de 4 h de observación. Las dosis usadas de aceclofenaco, betametasona, o su combinación, no afectaron la capacidad de las ratas para caminar durante el período de observación, ni generaron algún efecto adverso visible.

Las dosis a administrar de los compuestos en forma de gel está limitado a las cantidades máximas que pueden ser aplicadas de cada gel a las ratas en forma tópica y que garantiza que no se pierda compuesto ya sea por interacción con otras ratas, o por lamido de la misma rata. Para evitar esto, a cada una de las ratas les fue colocado un collarín de plástico y fueron confinadas a sitios individuales e independientes.

Adicionalmente la concentración que ya tiene cada gel preparado farmacéuticamente de los compuestos individuales o combinados, determina las posibles dosis que pueden ser administradas. De tal manera que conociendo la concentración de fármacos que contiene el gel de la combinación se planeó, tener como referencia al aceclofenaco y dar las dosis de la combinación en función del cálculo para aceclofenaco. Por ello quedaron definidas las dosis aceclofenaco de 3.2, 10, 31.6 y 100 mg/Kg vía tópica. Después fue calculada cual era la cantidad o dosis de betametasona que estaba siendo administrada cuando del gel de la combinación se aplicaba la dosis de aceclofenaco. De esta manera se encontró que en función de las concentraciones de fármaco en el gel de combinación, cuando se aplicó aceclofenaco en dosis de 3.2 mg/Kg, también se estaba aplicando en la combinación una dosis de betametasona de 0.2 mg/Kg; cuando se estaba aplicando una dosis de aceclofenaco de 10 mg/Kg del gel de combinación, se estaba aplicando una dosis simultánea de betametasona de 0.67 mg/Kg; cuando se estaba aplicando una dosis de aceclofenaco de 31.6 mg/Kg del gel de combinación, se estaba aplicando una dosis simultánea de betametasona de 2.1 mg/Kg; y cuando se estaba aplicando una dosis de aceclofenaco de 100 mg/Kg del gel de combinación, se estaba aplicando una dosis simultánea de betametasona de 6.7 mg/Kg. Esto llevó a que, para poder hacer comparaciones adecuadas con los efectos de los fármacos individuales, se emplearan para aceclofenaco individual, las mismas dosis: 3.2, 10, 31.6 y 100 mg/Kg; mientras que para betametasona gel individual, se emplearan las dosis de 0.2, 0.67, 2.1 y 6.7 mg/Kg por vía tópica.

La Figura 1 presenta los CT desarrollados por betametasona en administración única o aguda, la evaluación se realizó durante 4 h, y las dosis usadas fueron las determinadas en función de las dosis que acompañaron la administración de gel de combinación (0.2 a 6.7 mg/Kg). El eje X es el tiempo de evaluación en horas, mientras que el eje Y es el efecto antinociceptivo evaluado como índice de funcionalidad porcentual (IF%). En el tiempo "0" (momento en el que las ratas presentaban ya una disfunción total o desuso de la extremidad al caminar) fue administrado la betametasona en administración individual en las diferentes dosis. En estas condiciones experimentales se evidenciaron efectos antinociceptivos dosis-

dependientes durante las 4 horas de observación, que iban creciendo gradualmente a través del tiempo.

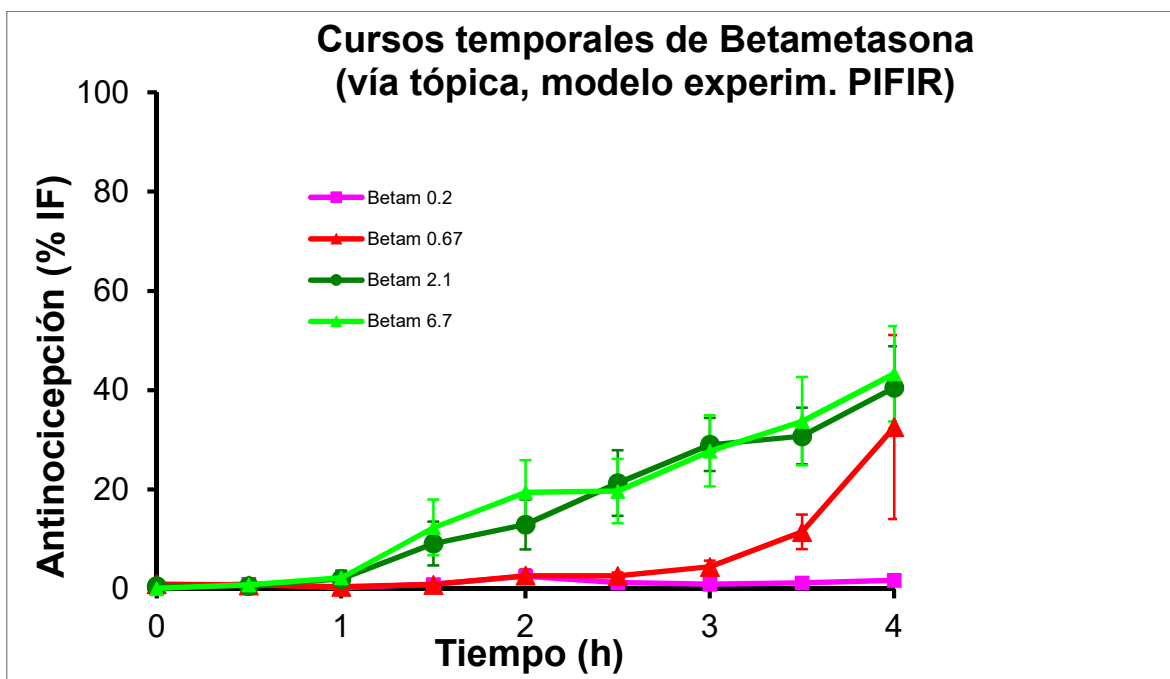


Figura 1. Cursos temporales de efectos antinociceptivos que generó betametasona gel en 4 diferentes dosis por vía tópica en el modelo experimental de “Disfunción inducida por dolor en rata”.

Para construir la curva dosis-respuesta (CDR) respectiva de efectos antinociceptivos de betametasona, fueron determinadas las áreas bajo la curva (como medida del efecto antinociceptivo global que incluye tanto efectos máximos como duración de efecto) de cada animal (6 animales en total para cada dosis) de cada CT, y fue obtenida la media con error estándar como medida de dispersión. De esta manera en la figura 2 es presentada la CDR de betametasona por vía tópica en administración única en ratas. En el eje X se señalan las dosis (mg/Kg) de betametasona empleadas, mientras que en el eje Y se presentan los efectos antinociceptivos como área bajo la curva (ABC) que generó cada una de las diferentes dosis evaluadas durante 4 h. Debido a la concentración del gel y cantidades a administrar del gel, no fue posible administrar dosis mayores de betametasona.

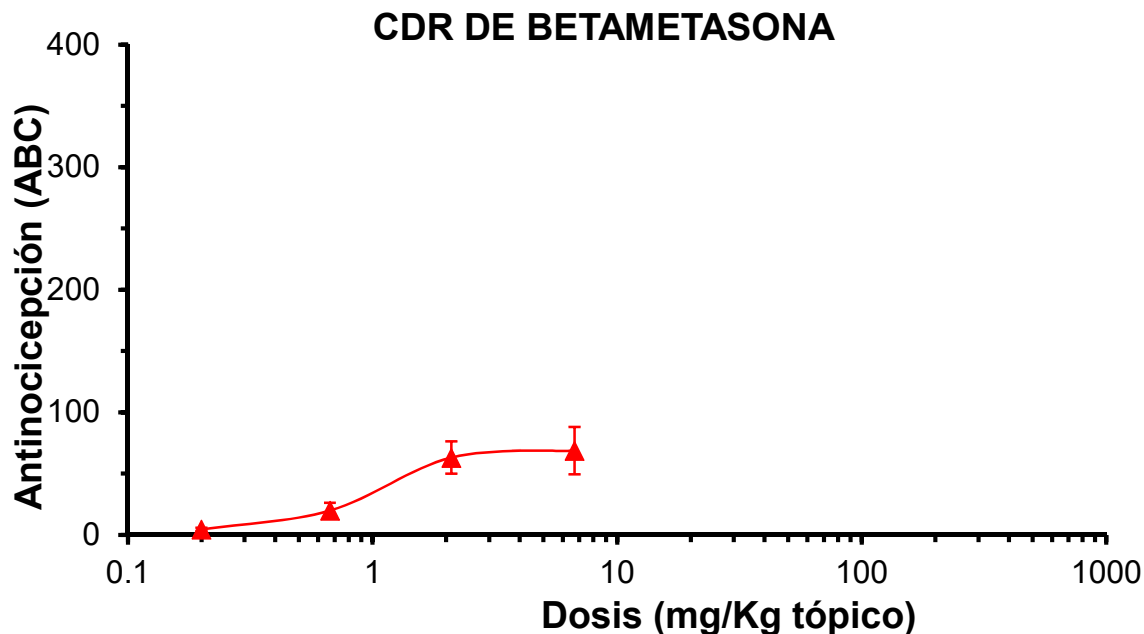


Figura 2. CDR de betametasona gel por vía tópica, al graficar los efectos antinociceptivos globales como ABC de los cursos temporales correspondientes contra las dosis administradas de betametasona. Se grafica la media $\pm$ error estándar.

La Figura 3 presenta los CT desarrollados por aceclofenaco gel en administración única o aguda y evaluada durante 4 h en dosis con incrementos logarítmicos de media unidad de logaritmo (de 3.2, 10, 31,6 y 100 mg/Kg). El eje X es el tiempo de evaluación en horas, mientras que el eje Y es el efecto antinociceptivo evaluado como índice de funcionalidad porcentual (IF%). En el tiempo "0" (momento en el que las ratas presentaban ya una disfunción total o desuso de la extremidad al caminar) fue administrada el aceclofenaco en administración individual (incluyendo la dosis solicitada de 100 mg/Kg). En estas condiciones experimentales se evidenció con estas dosis una aparición adecuada de efectos antinociceptivos.

Para construir la CDR de efectos antinociceptivos de aceclofenaco, fueron determinadas nuevamente las áreas bajo la curva (como medida del efecto antinociceptivo global que incluye tanto efectos máximos como duración de efecto) de cada animal (6 animales en total para cada dosis) de cada CT, y obtenida la media con error estándar como medida de dispersión. De esta manera en la figura

4 es presentada la CDR de aceclofenaco por vía tópica en administración única en ratas. Los ejes son los mismos descritos en figura 2.

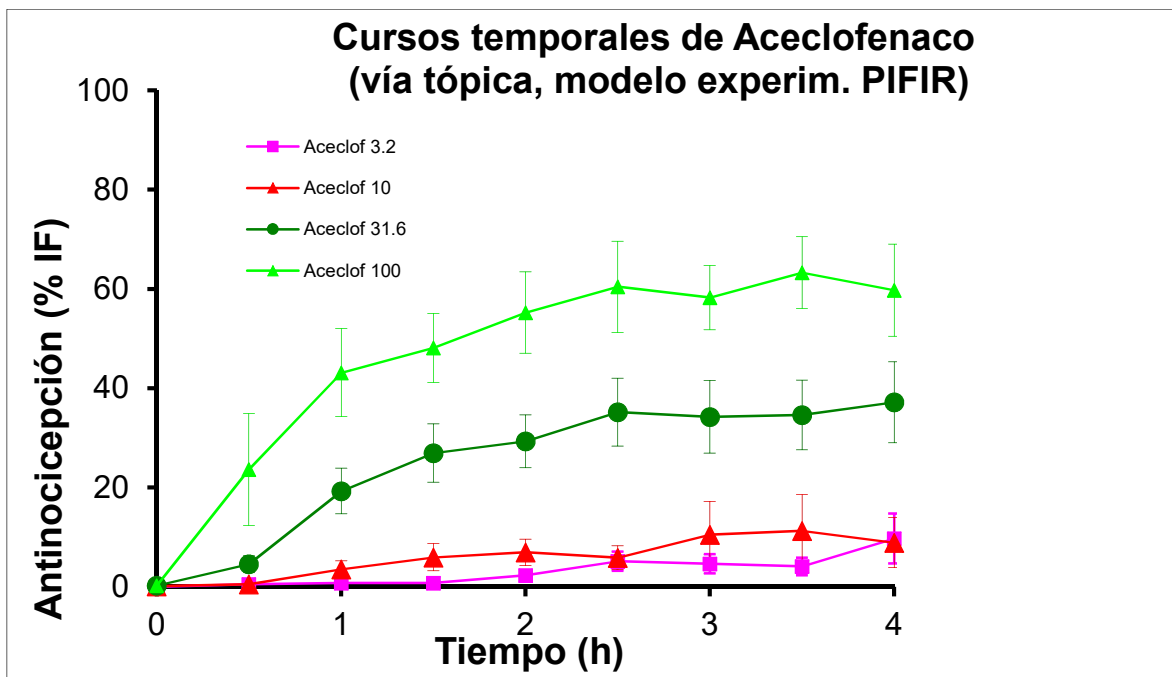


Figura 3. Cursos temporales (CT) de efectos antinociceptivos que generó Aceclofenaco gel por vía tópica en el modelo experimental de “*Disfunción inducida por dolor en rata*” en donde se ha establecido un dolor de tipo artritis “gotosa”. Se grafica la media de 6 animales por dosis, con error estándar como medida de dispersión. Hay un incremento de respuesta a medida que aumenta la dosis.

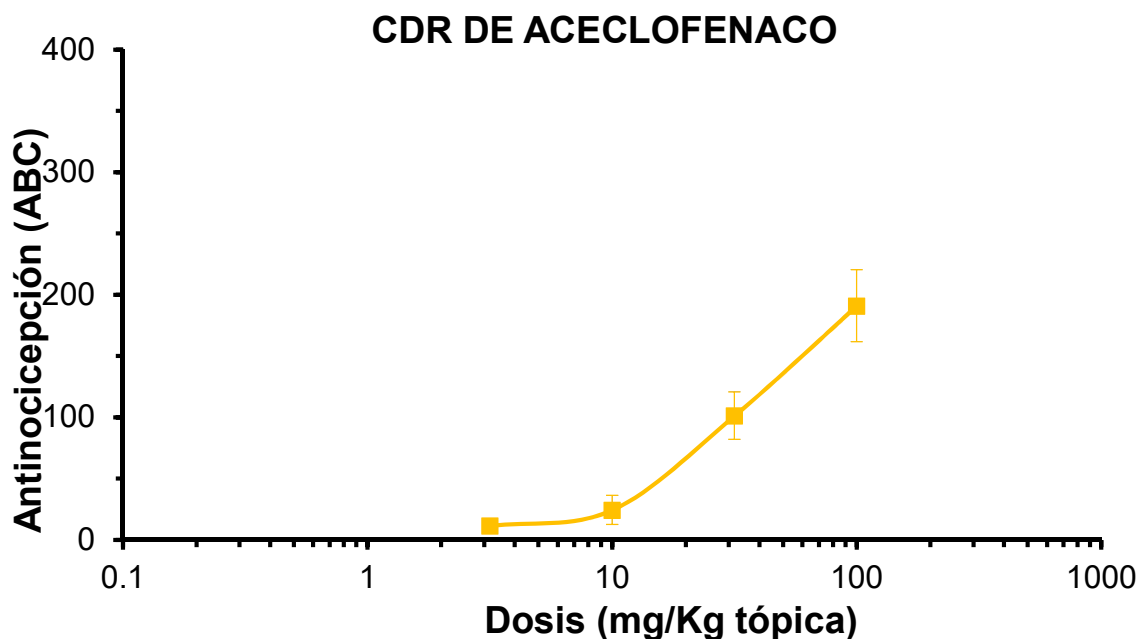


Figura 4. Curva dosis-respuesta (CDR) de Aceclofenaco gel tópico al graficar los efectos antinociceptivos globales como área bajo la curva (ABC) de los cursos temporales correspondientes contra las dosis administradas con incremento logarítmico del fármaco. Se grafica la media $\pm$ error estándar. Se observa una relación dosis-dependiente.

Dado que aceclofenaco es el compuesto analgésico de referencia, se decidió tomar como base para la expresión de los resultados de las combinaciones, las dosis de la CDR de aceclofenaco (3.2, 10.0, 31.6 y 100 mg/Kg) y deducir cuanto betametasona estaba acompañando la dosis de aceclofenaco. La Figura 5 presenta los cursos temporales (CT) del gel de combinación de cada una de las dosis de aceclofenaco administrado en combinación con betametasona. Fue graficada la media y error estándar correspondiente. Se puede observar que los efectos antinociceptivos generados con las combinaciones del gel son más grandes que cuando se administró solo el aceclofenaco (Figura 3).

Fue calculada el área bajo la curva (ABC) como efecto global de cada CT para posteriormente construir la correspondiente CDR (Figura 6) con estas 4 combinaciones. Se observa en esta figura 6 que con las combinaciones se generó la sigmoidea representando la CDR de esta combinación.

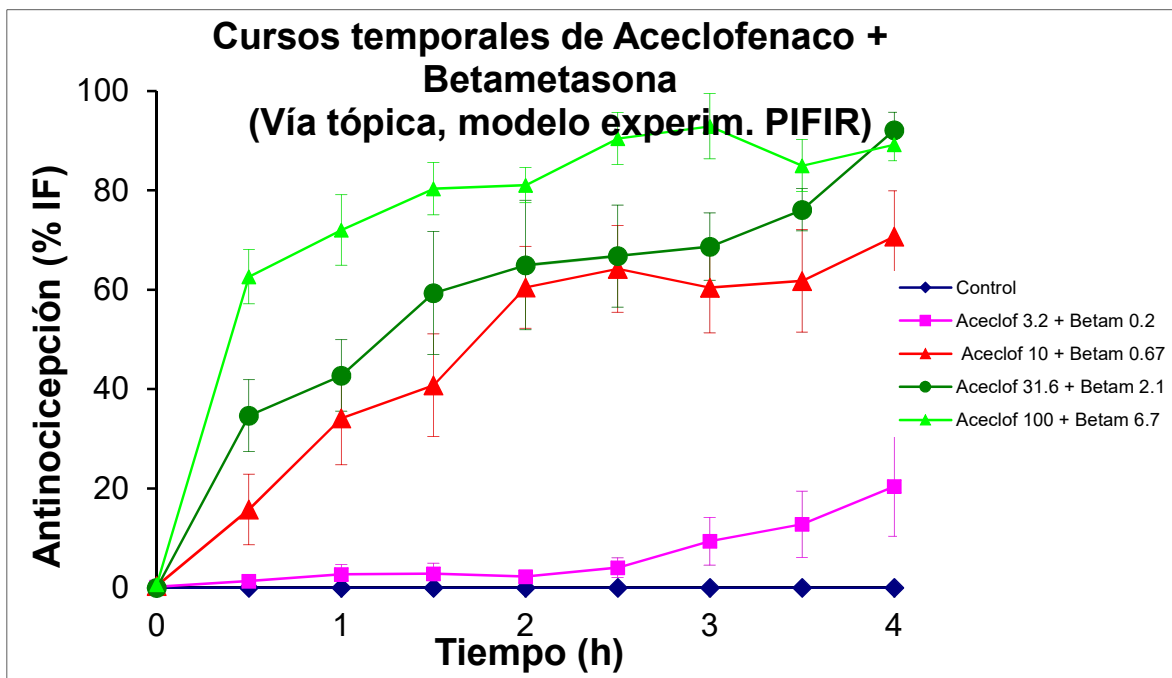


Figura 5. Cursos temporales (CT) de efectos antinociceptivos que generó aceclofenaco gel en 4 diferentes dosis al ser administrado en combinación con betametasona gel en diferentes dosis calculadas en función de las cantidades que acompañan el gel de aceclofenaco administrado por vía tópica. Resultados determinados empleando el modelo experimental de “Disfunción inducida por dolor en rata”.

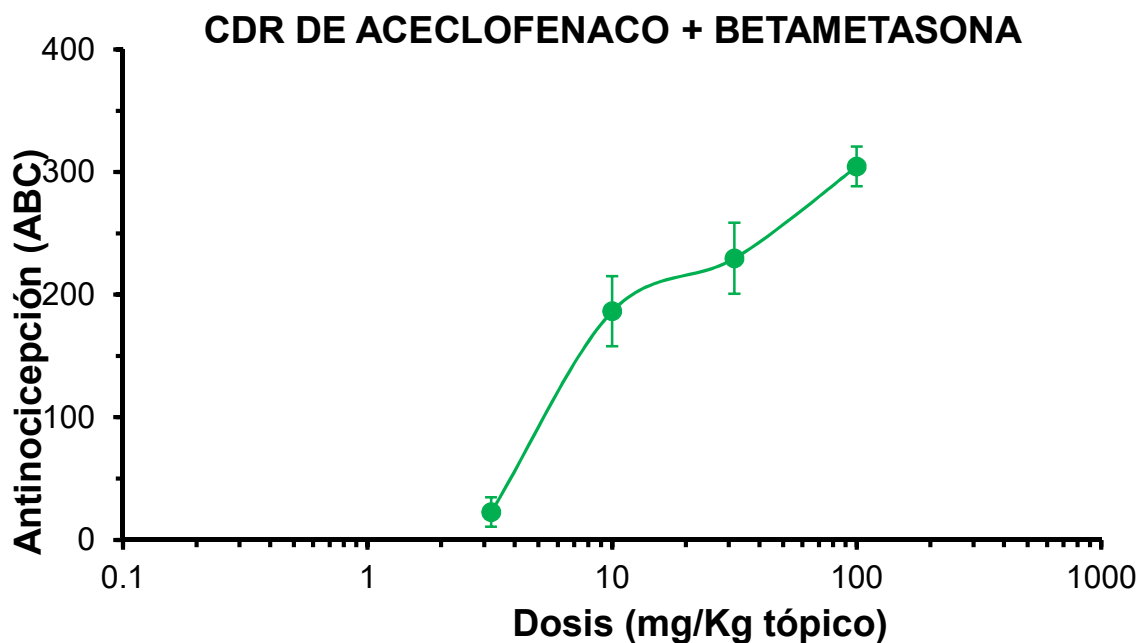


Figura 6. CDR de Aceclofenaco gel combinado con betametasona en diferentes dosis vía tópica. Fueron graficados los efectos antinociceptivos globales como ABC de los cursos temporales correspondientes contra las dosis administradas del gel de Aceclofenaco + betametasona. Se grafica la media $\pm$ error estándar.

Para poder hacer una comparación visual de los efectos antinociceptivos que genera el gel combinación y los compuestos individuales en forma de gel, fueron agrupadas las CDR de los geles tópicos de los compuestos solos y combinados, y son presentadas en la Figura 7. En la figura de CDR se puede observar que betametasona presenta una pequeña CDR, el aceclofenaco presenta una CDR mayor, pero el gel de combinación generó mayores efectos antinociceptivos que los fármacos individuales.

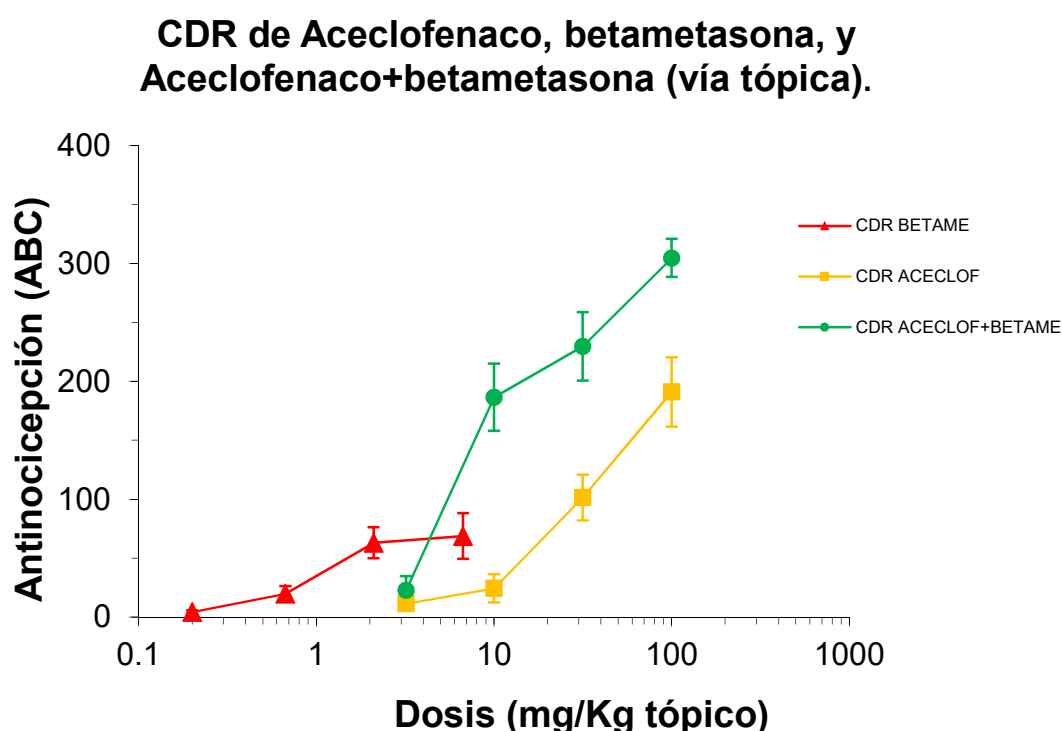


Figura 7. Curvas dosis-respuesta (CDR) de efectos antinociceptivos de Aceclofenaco gel solo, de betametasona gel sola, y de gel de Aceclofenaco+betametasona administrados por vía tópica en rata, empleando el modelo experimental de “disfunción inducida por dolor en rata”.

Una variable farmacológica importante es la eficacia, en este caso antinociceptiva. La Figura 8 muestra los cursos temporales (CT) de las dosis vía tópica de los fármacos solos o en combinación que muestran el más alto efecto antinociceptivo y que en las CDR respectivas mostraron ser las dosis que generan el efecto más

eficaz en cuanto a efectos antinociceptivos. Se grafica la media y error estándar. En el CT de la combinación más eficaz (aceclofenaco 100 mg/Kg + betametasona 6.7 mg/Kg) se puede observar que se alcanza (latencia de 2.5 h después de la administración) el Emáx ($90.48 \pm 5.23\%$) y se mantiene a lo largo del periodo de determinación experimental terminal (1.5 h más). Mientras que cuando se administró solo aceclofenaco 100 mg/Kg, uno de los componentes de la combinación eficaz, se alcanza un menor Emáx ($60.44 \pm 9.18\%$), también con una latencia de 2.5 h, y este Emáx también se mantiene a partir de ese punto (1.5 h). Mientras que betametasona gel en dosis de 6.7 mg/Kg genera muy pobres efectos antinociceptivos al principio, pero va aumentando gradualmente a través del tiempo, alcanzando un Emáx de $43.31 \pm 9.59\%$ de efectos antinociceptivos, con una latencia de 4 h.

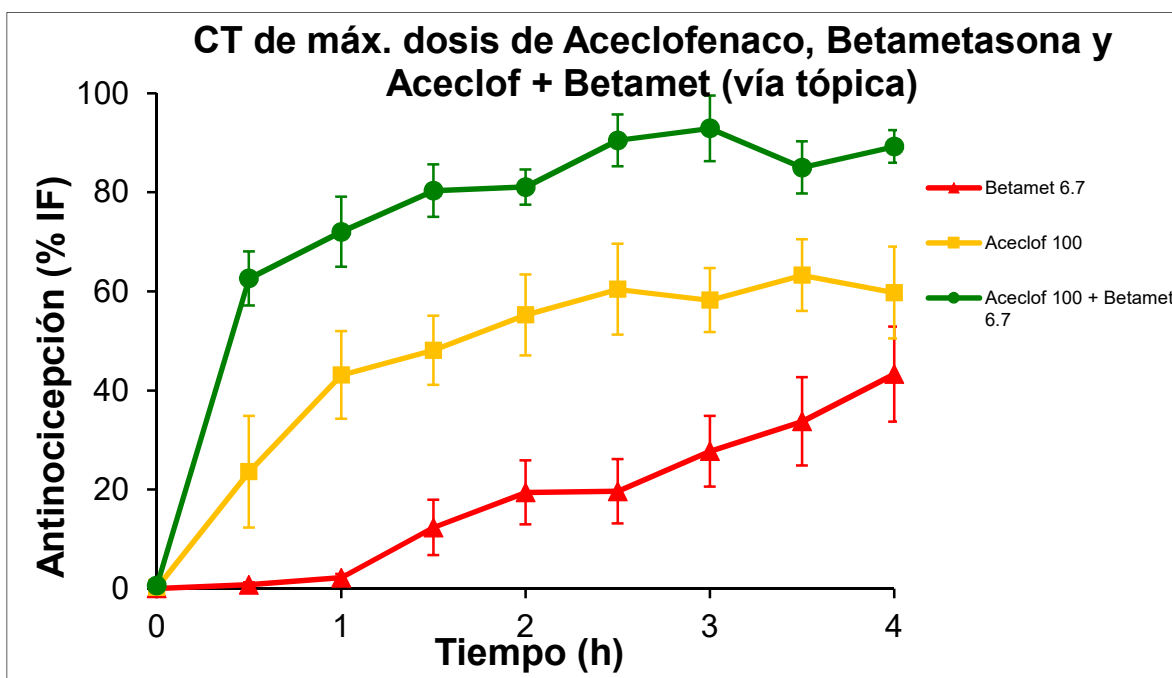


Figura 8. Cursos temporales comparando los efectos antinociceptivos de las dosis más grandes empleadas tanto de aceclofenaco, betametasona, como de la combinación de aceclofenaco+betametasona.

La Figura 9 muestra en gráficas de barras los efectos globales antinociceptivos generados como ABC del CT correspondiente. De tal manera que betametasona gel sola, mostró un efecto global de 68.80 ± 19.37 unidades de área (ua), siendo el

compuesto que mostró menos eficacia de entre los compuestos en gel administrados tópicamente. El aceclofenaco gel individualmente mostró una eficacia de 191.04 ± 29.48 ua, mayor que la mostrada por betametasona. Pero la combinación de aceclofenaco + betametasona en las mismas dosis mostró mucho mayor eficacia: 304.68 ± 16.18 ua.

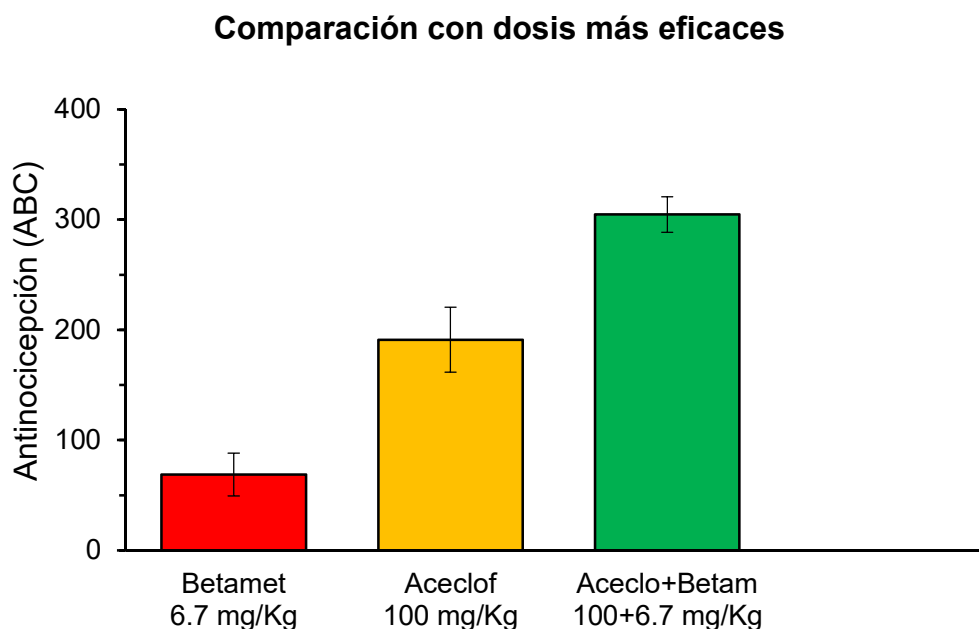


Figura 9. Las barras representan el efecto global como ABC (considerando 4 h de evaluación y efectos máximos antinociceptivos) de cada uno de los compuestos (aceclofenaco gel y betametasona gel) y del gel de la combinación de aceclofenaco+betametasona, que generaron la máxima eficacia de cada uno. Fue graficado la media y error estándar de cada dato.

Cada vez que se dosificó el gel de combinación en dosis precisas de aceclofenaco, también van diferentes cantidades de betametasona, y esas diferentes dosis de ambos compuestos pueden estar absorbiéndose diferentemente y generando diferentes grados de efectos analgésicos o antinociceptivos. Por ello para determinar que tipo de interacción se estaba generando cuando se administraban diferentes dosis de gel de combinación, se realizó un análisis puntual del tipo de interacción que se estaba produciendo con las diferentes dosis administradas de gel de combinación.

La Figura 10 muestra en gráfica de barras, el análisis comparativo puntual para determinar el tipo de interacción que se produjo cuando fue administrado aceclofenaco 3.2 mg/Kg en combinación con betametasona 0.2 mg/Kg, y se compara con los efectos individuales de los mismos compuestos en las mismas dosis, y con la suma teórica esperada. El resultado fue que la combinación no produjo mejores efectos que los ya generados por los compuestos individuales, y tampoco es diferente del efecto teórico de suma.

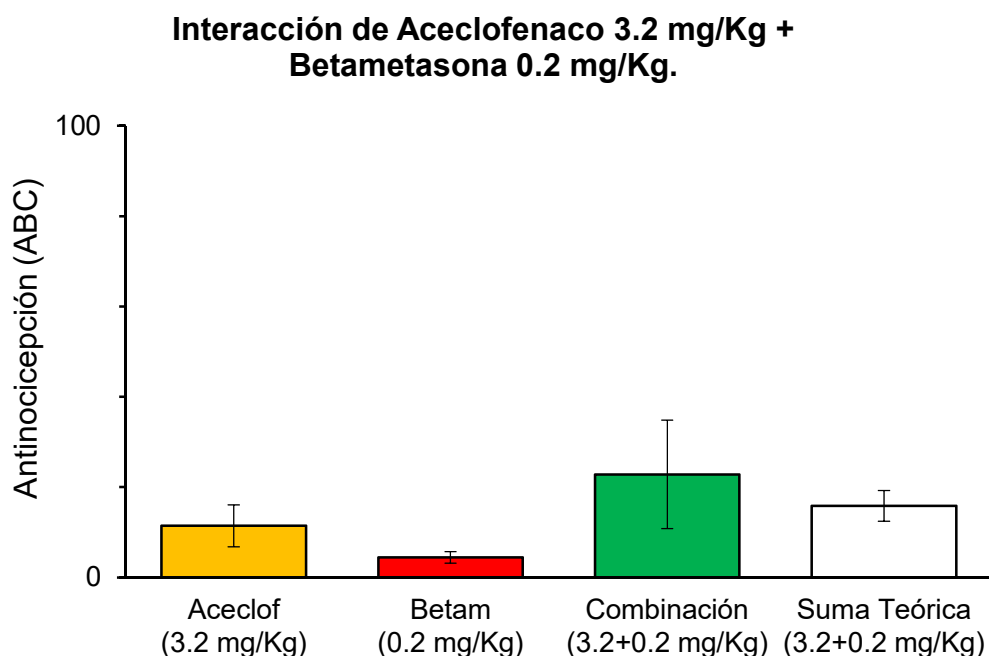


Figura 10. Presenta en barras los efectos antinociceptivos globales generados por la combinación en gel en las dosis señaladas (Aceclofenaco 3.2 + betametasona 0.2 mg/Kg), y los efectos antinociceptivos globales producidos por los componentes individuales administrados en la misma dosis y vía. También es presentada la suma teórica y la comparación con el efecto del gel de la combinación, lo que estableció que con estas dosis de gel se están obteniendo efectos de suma de efectos individuales, la prueba estadística T de Student estableció una $P=0.2988$. Fue graficado la media y error estándar de cada dato.

Sin embargo, el mismo tipo de análisis comparativo para determinar tipo de interacción puntual, muestra que la combinación de aceclofenaco 10 + betametasona 0.67 mg/Kg (Figura 11), produjo mayores efectos antinociceptivos que los compuestos en forma individual, pero más importante es que al comparar

con la suma teórica esperada, se encontró que el tipo de interacción fue potenciación, de tal manera que la combinación en esas dosis potenció el efecto antinociceptivo en un 320%, mayor efecto antinociceptivo sobre la suma teórica de efectos individuales; o si se compara con el efecto de la misma dosis de aceclofenaco (10 mg/Kg) pero individual, el grado de potenciación fue de 663%.

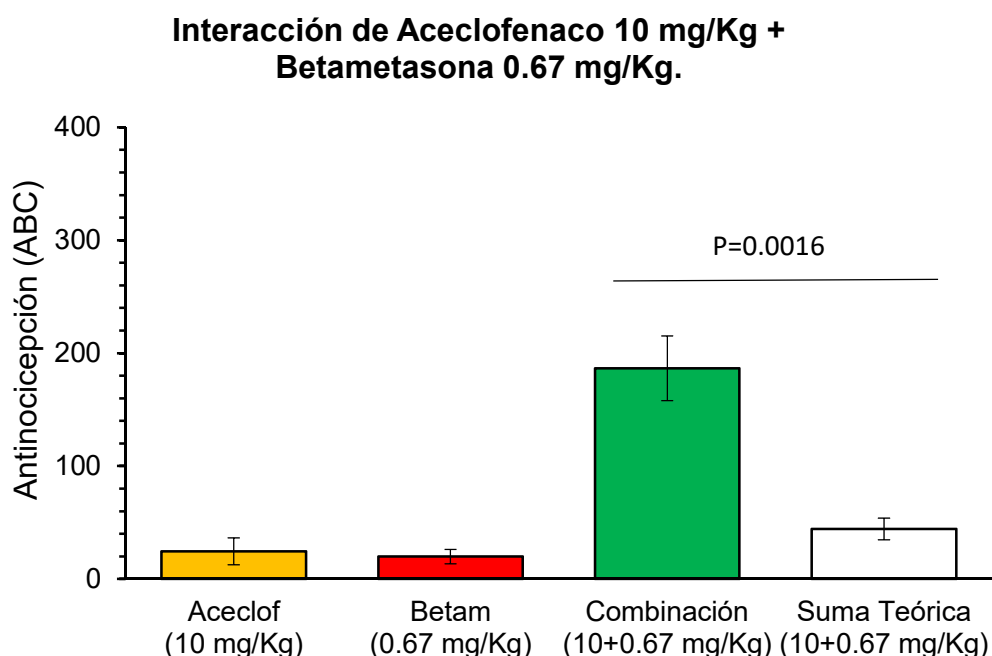


Figura 11. Presenta en barras los efectos antinociceptivos globales generados por la combinación en gel en las dosis señaladas (Aceclofenaco 10 + betametasona 0.67 mg/Kg), y los efectos antinociceptivos globales producidos por los componentes individuales administrados en la misma dosis y vía. También es presentada la suma teórica y la comparación con el efecto del gel de la combinación, lo que estableció que con estas dosis de gel se están obteniendo efectos de potenciación. La prueba estadística T de Student estableció una $P=0.00162$. Fue graficado la media y error estándar de cada dato.

Lo mismo ocurrió cuando fue analizado el grado de interacción de la combinación de aceclofenaco 31.6 + betametasona 2.1 mg/Kg (figura 12). La comparación de los efectos antinociceptivos globales generados con la combinación son mayores a los efectos producidos por los componentes individuales. Pero al comparar con la suma teórica esperada, se encontró que el tipo de interacción fue potenciación, de tal manera que la combinación en esas dosis potenció el efecto antinociceptivo en un

40%, mayor efecto antinociceptivo sobre la suma teórica de efectos individuales; o si se compara con el efecto de la misma dosis de aceclofenaco (31.6 mg/Kg), el grado de potenciación fue de 127%.

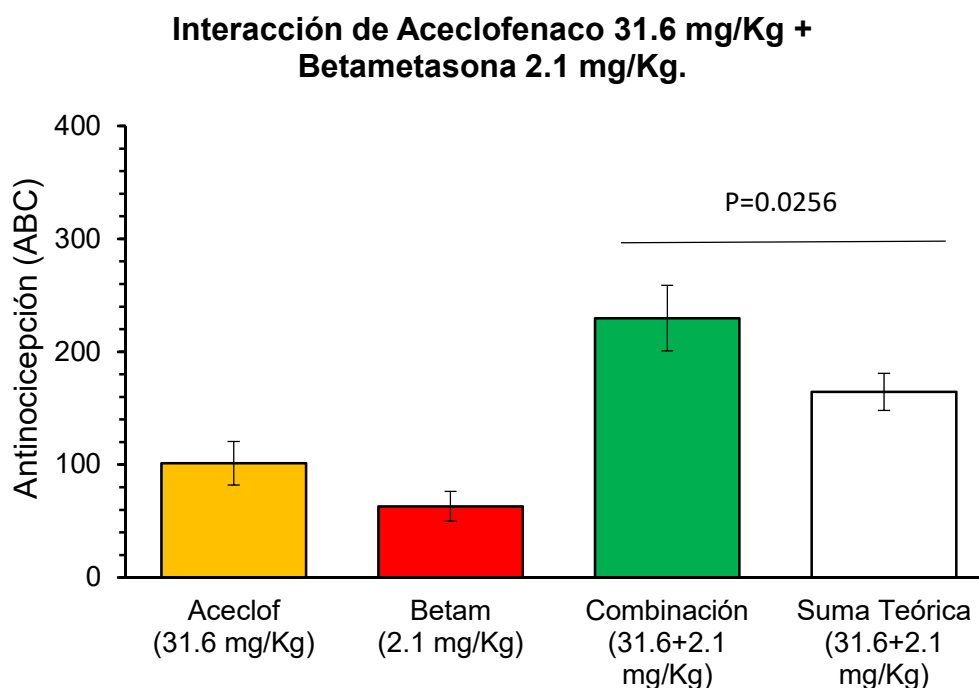


Figura 12. Presenta en barras los efectos antinociceptivos globales generados por la combinación en gel en las dosis señaladas (Aceclofenaco 31.6 + betametasona 2.1 mg/Kg), y los efectos antinociceptivos globales producidos por los componentes individuales administrados en las mismas dosis y vía. También es presentada la suma teórica y la comparación con el efecto del gel de la combinación, lo que estableció que con estas dosis de gel se están obteniendo efectos de potenciación. La prueba estadística T de Student estableció una $P=0.02560$. Fue graficado la media y error estándar de cada dato.

La Figura 13 muestra también en gráfica de barras, el análisis comparativo puntual para determinar el tipo de interacción que se produjo cuando fue administrado aceclofenaco gel en dosis de 100 mg/Kg en combinación con betametasona 6.7 mg/Kg, y se compara con los efectos individuales de los mismos compuestos en las mismas dosis, y con la suma teórica esperada. El resultado aquí también fue que la combinación produjo mejores efectos que los ya generados por los compuestos individuales, pero tampoco es diferente del efecto teórico de suma.

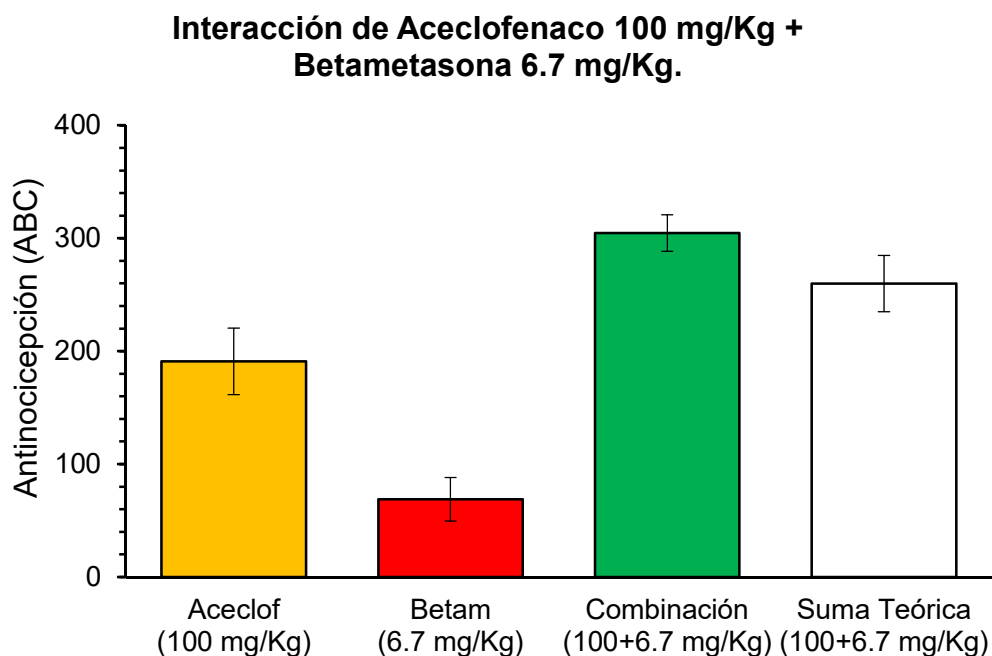


Figura 13. Presenta en barras los efectos antinociceptivos globales generados por la combinación en gel en las dosis señaladas (Aceclofenaco 100 + betametasona 6.7 mg/Kg), y los efectos antinociceptivos globales producidos por los componentes individuales administrados en las mismas dosis y vía. También es presentada la suma teórica y la comparación con el efecto del gel de la combinación, lo que estableció que con estas dosis de gel se están obteniendo efectos aditivos. La prueba estadística T de Student estableció una $P=0.07489$. Fue graficado la media y error estándar de cada dato.

Para analizar la coordinación motora, y los efectos que sobre esta pudieran generar tanto aceclofenaco como betametasona en forma individual, y la combinación de máxima eficacia, se aplicó la prueba de Rota-Rod en rata. Los animales fueron administrados 2 veces con los fármacos individuales o con la combinación por vía tópica. Posteriormente para realizar esta prueba se colocaron los animales sobre un cilindro (7 cm de diámetro) girando a una velocidad de 10 rpm. Fueron entrenados para caminar sobre el cilindro durante 10 min durante 3 días antes de la prueba. El día de la prueba, fueron administrados los fármacos y los animales fueron colocados en el Rota-Rod registrando el número de caídas por un periodo de 5 min.

El análisis de alteraciones en la actividad locomotora empleando la prueba del Rotarod y las dosis más altas de cada fármaco (aceclofenaco 100 mg/Kg, betametasona 6.7 mg/Kg, y su combinación) en forma individual o combinada, no evidenciaron alteraciones en actividad locomotora en las ratas que recibieron en forma tópica los geles. Para el análisis de daño gastrointestinal (GI) se empleó indometacina (20 mg/kg) como control positivo y que genera el 100% de daño GI. Después de la doble administración de los compuestos por vía tópica, siguiendo el protocolo experimental, los estómagos de los animales de experimentación fueron removidos y conservados en formol (al 2%), para después ser analizados. La severidad de daño GI inducida por cada tratamiento fue calculado en base al número y diámetro de las úlceras gástricas y en forma comparativa con lo que produce el control positivo, sumando las áreas de las úlceras GI. Fue calculado un Índice de daño gastrointestinal (úlceras) en forma porcentual (%). El análisis del daño GI% (úlceras gástricas) generado en estos grupos es presentado en la siguiente Tabla 1:

Tabla1

TRATAMIENTO	Úlceras (mm²)	% de Daño GI (úlceras)
Indometacina 20 mg/Kg	80.8 ± 13.8	100
Aceclofenaco 100 mg/Kg	3.4 ± 2.3	4.2
Betametasona 6.7 mg/Kg	1.8 ± 1.7	2.2
Aceclof 100 + Betame 6.7	4.4 ± 1.8	5.4

Por lo tanto, después de analizar todos estos resultados, se puede establecer que:

- 1) los compuestos en forma de gel, sí se absorben adecuadamente generando importantes efectos antinociceptivos.
- 2) el gel de la combinación aceclofenaco+betametasona por vía tópica genera mayores efectos antinociceptivos que los compuestos en forma individual.

- 3) el análisis de interacción puntual muestra que esta combinación puede mostrar efectos que van de suma a potenciación.
- 4) Las dosis más altas de los fármacos (individuales o combinados) que fue posible administrar en forma de gel, no generan alteraciones en la actividad locomotora.
- 5) Las dosis más altas de los fármacos (individuales o combinados) no producen daño gastrointestinal significativo.

Bibliografía:

- Covino BG, Dubner R, Gybels J, Kosterlits HW, Liebeskind JC, Sternbach RA, Vyklicky L, Yamamura H, Zimmermann M (1980): Ethical standards for investigation of experimental pain in animals. *Pain* 9:141-143.
- López-Muñoz FJ, Salazar LA, Castañeda-Hernández G, Villarreal JE (1993): A new model to assess analgesic activity: pain-induced functional impairment in the rat (PIFIR). *Drug Dev Res* 28:169-175.
- Rowland M, Tozer TN (1989): *Clinical Pharmacokinetics. Concepts and applications*, second Edition. Philadelphia, London: Lea and Febiger, pp 459-463.
- Zimmermann M (1983): Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16:109-110.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2023/0014513

Recibo: 23-222689

Fecha: 26/10/2023

CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ

CC: 40.017.374

Pago PSE No: 886716

CUS: 240056515

NC Modificación a las reivindicaciones
Request on Patente PCT NC2021/0000026

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 196,000	\$ 196,000
TOTAL					\$ 196,000