

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

Señores

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL, CONSEJO NACIONAL DE
INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y TECNICAS (CONICET), UNIVERSIDAD
NACIONAL DE GENERAL SAN MARTÍN**

TÍTULO DE LA SOLICITUD: “ERITROPOYETINA HUMANA CON DISMINUCIÓN DE SU
ACTIVIDAD ERITROPOYETICA, CON MUTACIONES QUE GENERAN SITIOS DE
GLICOSILACIÓN Y PROCESO PARA SU OBTENCIÓN”

NÚMERO DE SOLICITUD INTERNACIONAL: PCT/IB2019/058179

FECHA DE PRESENTACIÓN INTERNACIONAL: 26 de septiembre de 2019.

PRIORIDAD: AR 20180102793 27 de septiembre de 2018.

Como resultado del examen de patentabilidad realizado a la solicitud indicada en la referencia, atendiendo a lo consagrado en el artículo 45 de la Decisión 486 de 2000, se le comunica que esta Dirección ha encontrado que la materia objeto de solicitud no cumple con algunos requisitos establecidos en la Decisión, con fundamento en los siguientes aspectos:

1. Modificaciones presentadas

Revisada la modificación a la solicitud objeto de estudio, la cual fue radicada el 15 de mayo de 2024 bajo el número NC2024/0006125, y teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 34 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, esta oficina acepta las modificaciones presentadas por ajustarse a los requisitos legales. Adicionalmente, junto a la respuesta radicada el 15 de mayo de 2024 bajo el número NC2024/0006125 presentó un listado de secuencias, el cual se acepta por ajustarse a los requerimientos legales.

2. Objeto de la invención

El problema planteado consiste en la necesidad de obtener análogos de EPO que modulen selectivamente su rol eritropoyético y su rol citoprotector.

Para resolver dicho problema técnico, la solicitud en estudio plantea una eritropoyetina humana modificada con ausencia o disminución de su actividad eritropoyética, preferentemente con hasta un 0,5% de actividad eritropoyética con relación a la eritropoyetina humana, mayor tiempo de vida media en plasma, que mantiene su capacidad neuroprotectora y neuroplástica. Esta eritropoyetina humana modificada tiene anulada parcial o totalmente su unión a al menos uno de los receptores homo o heterodiméricos. Dicha anulación comprende la mutación de uno de los sitios de unión a los receptores homo o heterodiméricos mediante la incorporación de sitios consenso de N-glicosilación.

3. Reivindicaciones estudiadas

El presente estudio se basa en el capítulo reivindicatorio del escrito radicado bajo número NC2024/0006125 el 15 de mayo de 2024.

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

4. Excepción de Patentabilidad

Conforme a lo establecido en el literal c) d) del artículo 20 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina:

“No serán patentables:

(...) c) las plantas, los animales y los procedimientos esencialmente biológicos para la producción de plantas o animales que no sean procedimientos no biológicos o microbiológicos; (...)

(...) d) los métodos terapéuticos o quirúrgicos para el tratamiento humano o animal, así como los métodos de diagnóstico aplicados a los seres humanos o a animales.”

Debido a lo anterior, esta oficina establece que el objeto de las reivindicaciones 7 y 8 no es patentable, toda vez que, reclama una célula vegetal modificada y, teniendo en cuenta su totipotencialidad puede dar lugar a una planta completa la cual no es patentable.

El objeto de la reivindicación 12 no es patentable de acuerdo con el literal d) del artículo citado, toda vez que reclama una composición para el tratamiento de patologías seleccionadas del conjunto comprendido por Alzheimer, Parkinson, esclerosis amiotrófica lateral (ELA), enfermedades de las neuronas motoras, enfermedad de Huntington, atrofias espinocerebelosas, enfermedad de Creutzfeld-Jakob, enfermedades incapacitantes como la depresión o la esquizofrenia, enfermedades del desarrollo como el síndrome de Down, daño del tejido nervioso por los accidentes cerebrovasculares (ACV) y las traumatismos cráneo-encefálicos.

5. De la solicitud de patente

5.1. Título

De conformidad con el literal d) del artículo 27 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, el nombre de la invención de que se trata deberá reflejar el objeto y el campo industrial con el cual se relaciona la misma y ser concordante con la materia descrita y las reivindicaciones de la solicitud. El nombre no podrá referirse a nombres personales, marcas de productos o nombres de fantasía.

Analizado el título modificado en el escrito radicado bajo el N° capítulo reivindicatorio del escrito radicado bajo número NC2024/0006125 el 15 de mayo de 2024 y teniendo en cuenta el objeto de la solicitud, esta oficina acepta el siguiente título: “ERITROPOYETINA HUMANA CON DISMINUCIÓN DE SU ACTIVIDAD ERITROPOYETICA, CON MUTACIONES QUE GENERAN SITIOS DE GLICOSILACIÓN Y PROCESO PARA SU OBTENCIÓN”.

5.2. Reivindicaciones

Teniendo en cuenta lo establecido en el artículo 30 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina:

“Las reivindicaciones definirán la materia que se desea proteger mediante la patente. Deben ser claras y concisas y estar enteramente sustentadas por la descripción. (...)”

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

Esta oficina informa que,

La reivindicación 1 no es clara porque menciona *“con actividad eritropoyética menor al 0,5 % en relación con una eritropoyetina humana, que mantiene su capacidad neuroprotectora y neuroplástica”* lo cual únicamente se refiere a resultados a alcanzar que no permiten caracterizar la eritropoyetina modificada. Se sugiere eliminar los resultados a alcanzar y reemplazar por las características técnicas esenciales de la materia reclamada. Adicionalmente, la reivindicación 1 no es clara porque menciona *“caracterizada porque comprende la mutación de un sitio de unión al receptor homodimérico mediante la incorporación de sitios consenso de glicosilación, y caracterizada porque dicha mutación es seleccionada del conjunto comprendido por”* pero esta frase tiene problemas de redacción porque dice que comprende la mutación de un sitio de unión, pero podría haber más de una mutación como es el caso de dos sustituciones. Además, no es claro *“seleccionada del conjunto comprendido por”* porque es como si el grupo estuviera comprendido por las posibles mutaciones o secuencias. Se sugiere cambiar la frase por *“caracterizada porque el sitio de unión al receptor homodimérico está mutado y donde las mutaciones están seleccionadas del grupo que consiste en”*.

Las reivindicaciones 2 y 3 no son concisas dado que reclaman la misma materia, que corresponde al ácido nucleico que codifica la eritropoyetina. Se sugiere dejar una sola de las dos reivindicaciones. Además, la reivindicación 3 no es clara porque menciona *“porque comprende al menos la secuencia”* pero esto daría lugar a que un ácido nucleico comprenda más de una secuencia de las mencionadas. Se sugiere eliminar la expresión *“al menos una secuencia”*.

La reivindicación 11 carece de sustento porque menciona *“comprende una concentración desde 50 hasta 400 ng/ml”* pero no se evidencia el desarrollo de composiciones que comprendan cualquiera de las concentraciones del rango, ya que solo se divulga en la descripción composiciones que comprenden 50 o 300 ng/ml. Se sugiere reclamar únicamente la materia que encuentra sustento en la descripción. Además, la reivindicación 11 no es clara porque tiene un error de redacción al reclamar una composición farmacéutica *“caracterizado porque”*, ya que no coincide el género. Se sugiere hacer los ajustes pertinentes.

La reivindicación 13 no es clara y carece de sustento porque menciona *“que comprende al menos una secuencia de nucleótidos seleccionada del conjunto comprendido por: SEQ ID N°3, SEQ ID N°17, y SEQ ID N°23”* pero no se evidencia en la descripción que el ácido nucleico comprenda más de una secuencia de las mencionadas, y el ácido nucleico consiste en la SEQ ID NO: 3, 17 o 23. Además, no es clara y carece de sustento porque se menciona que se construye al menos un vector de cotransfección con los cuales se cotransfecta las células empaquetadoras, pero no habría sustento para cotransfectar con más de un vector. Se sugiere reclamar únicamente la materia que encuentra sustento en la descripción. Además, la reivindicación 13 no es clara porque no menciona cuáles son las células empleadas que permiten el plegamiento y la expresión de la proteína, así como tampoco se incluyen las técnicas, amortiguadores, tiempos y temperaturas empleadas para el aislamiento y purificación. Lo anterior porque la solicitud no ha explorado cualquier proceso para la producción de cualquier eritropoyetina modificada. Se sugiere al solicitante restringir la reivindicación a una razonable generalización de los procesos explorados, esto se logra incluyendo las condiciones esenciales que permitan la reproducción de este.

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

La reivindicación 15 no es clara porque menciona células, pero hace alusión a líneas celulares. Se sugiere reemplazar “células” por “líneas celulares”.

El capítulo reivindicatorio no es claro porque menciona “es seleccionado del conjunto comprendido por” pero es como si el conjunto estuviera comprendido en los elementos que menciona. Se sugiere reemplazar por “es seleccionado del grupo que consiste en”.

En consecuencia, es necesario que allegue las aclaraciones o modificaciones correspondientes para dar cumplimiento a lo establecido en el citado artículo.

5.3. Descripción

Revisado el capítulo descriptivo de la solicitud, este no divulga la invención de manera suficientemente clara y completa, para que una persona capacitada en la materia pueda ejecutarla, incumpliendo de esta forma lo establecido en el artículo 28 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

La descripción no es clara ni suficiente porque no se evidencia el desarrollo de composiciones que comprendan una eritropoyetina recombinante en un rango de concentración entre 50 a 400 ng/ml. Por tanto, la persona capacitada no tendría las herramientas para su desarrollo.

La descripción no es clara ni suficiente porque no se evidencia un ácido nucleico que comprenda más de una secuencia de nucleótidos.

Se debe tener en cuenta que, de acuerdo con el artículo 34 de la citada Decisión, dicha modificación no podrá ampliar la divulgación inicial; por lo que, en caso de agregar nuevos elementos en la solicitud, la descripción modificada no será aceptada.

6. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha para determinar el estado de la técnica es el 27 de septiembre de 2018, que corresponde a la fecha de presentación de la solicitud de prioridad.

Consultadas las fuentes de información con que se cuenta, se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	US20070072795	“Treatment of neurodegenerative disorders”	29 de marzo de 2007
D3	Elliott, S., et al. The Journal of biological chemistry	“Structural Requirements for Additional N-Linked Carbohydrate on Recombinant Human Erythropoietin”	02 de febrero de 2004
D4	Wen, D., et al. The Journal of biological chemistry.	“Erythropoietin structure-function relationships. Identification of functionally important domains”	9 de septiembre de 1994

D1¹ divulga agentes eritropoyéticos para el tratamiento de desórdenes neurodegenerativos (Pág. 1, Resumen).

¹<https://patents.google.com/patent/US20070072795A1/en?q=US2007072795>

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

D3² divulga un proceso para la obtención de una eritropoyetina humana modificada que comprende la introducción de secuencias consenso de N-glicosilación mediante mutagénesis dirigida al sitio (Págs. 16854-55, sección - Experimental Procedures, Resumen).

D4³ divulga el desarrollo de 50 eritropoyetinas humanas mutantes, de las cuales algunas pierden por completo la actividad eritropoyética y permiten la identificación de residuos importantes en la actividad de la proteína (Abstract).

7. Examen de Patentabilidad

De acuerdo con lo establecido en el artículo 14 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, en el cual se establecen los requisitos de patentabilidad objeto de la solicitud en estudio, esta Oficina presenta a continuación el análisis de los requisitos de patentabilidad.

7.1. Nivel Inventivo

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 1 (Radicado NC2024/0006125 del 15 de mayo de 2024) se refiere a: *“Una eritropoyetina humana modificada caracterizada porque comprende la mutación de un sitio de unión al receptor homodimérico mediante la incorporación de sitios consenso de glicosilación, (...)”*. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

CARACTERÍSTICAS ESENCIALES	D1	D4
Una eritropoyetina humana modificada caracterizada porque comprende	Una eritropoyetina humana modificada (Pág. 6, Párr. [0051]).	Una eritropoyetina humana mutante que comprende (todo el documento)
la mutación de un sitio de unión al receptor homodimérico mediante la incorporación de sitios consenso de glicosilación, y	que incluye una mutación que inserta un sitio adicional de glicosilación (Pág. 6, Párrs. [0051-0071]).	Una mutación en el sitio de unión al receptor EPO (Págs. 22840 – 22842, sección - Results).

²Elliott, S., *et al* (2004). Structural requirements for additional N-linked carbohydrate on recombinant human erythropoietin. *The Journal of biological chemistry*, 279(16), 16854–16862. Recuperado de : <https://doi.org/10.1074/jbc.M311095200>

³Wen, D., *et al*. (1994). Erythropoietin structure-function relationships. Identification of functionally important domains. *The Journal of biological chemistry*, 269(36), 22839–22846. Recuperado desde: https://www.researchgate.net/publication/15122484_Erythropoietin_structure-function_relationships_Identification_of_functionally_important_domains



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

caracterizada porque dicha mutación es seleccionada del conjunto comprendido por: a. Lys45Asn y Asn47Thr; b. Ser104Asn; c. Gly151Asn y Leu153Thr;	Donde la mutación es seleccionada de: Asn30, Thr32; Asn51, Thr53, Asn57, Thr59; Asn69; Asn69, Thr71; Ser68, Asn69,Thr71; Val87, Asn88, Thr90; Ser87, Asn88, Thr90; Ser87, Asn88, Gly89, Thr90; Ser87, Asn88, Thr90, Thr92; Ser87, Asn88, Thr90, Ala162; Asn69, Thr72, Ser87, Asn88, Thr90; Asn30, Thr32, Val87, Asn88, Thr90; Asn89, Ile90, Thr91; Ser87, Asn89, Ile90, Thr91; Asn36, Thr138; Asn138, Thr140; Thr125, y Pro124, Thr125 (Pág. 6, Párrs. [0051-0071])	Donde la mutación consiste en una sustitución de un único aminoácido en los motivos de las regiones de unión al receptor EPO en donde la mutación es seleccionada del grupo que consisten en S9A, R10A, E13A, R14A, R14L, R14E, L17A, E18A, K20A, E21A, C29Y, C33Y, K45A, F48S, Y49S, A50S, W51S, K52S, Q59A, W64A, Q65A, G66A, L69A, S71A, E72A, A73G, R76A, Q92A, L93A, H94A, D96A, K97A, S100A, G101A, R103A, S104A, T106A, L108A, T132A, D136A, R139A, R143A, K140A, S146A, N147A, R150A, G151A, K152A L153A, K154A, L155A, Y156A, T157A o E159A (Tabla 1).
y donde dicha eritropoyetina humana comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del conjunto comprendido por SEQ ID N°4, SEQ ID N°18, y SEQ ID N°24.	La eritropoyetina modificada tiene la SEQ ID NO: 1 o 2 (Pág. 6, Párrs. [0051-0071]). Donde la SEQ ID NO: 1 de D1 tiene 98.79% de identidad con las SEQ ID NOS: 4 y 24 de la solicitud, y el 99.39% de identidad con la SEQ ID NO: 18 de la solicitud (alineamiento 1). En tanto, la SEQ ID NO: 2 de D1 tiene un 98.80% de identidad con las SEQ ID NOS: 4 y 24 de la solicitud, y el 99.40% de identidad con la SEQ ID NO: 18 de la solicitud (alineamiento 1).	

D1 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1, ya que divulga una eritropoyetina humana modificada que comprende una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 o 2 que incluye un sitio adicional de glicosilación con una modificación seleccionada de: Asn30, Thr32; Asn51,Thr53, Asn57,Thr59; Asn69; Asn69,Thr71; Ser68,Asn69,Thr71; Val87, Asn88, Thr90; Ser87Asn88Thr90; Ser87, Asn88, Gly89, Thr90; Ser87, Asn88, Thr90, Thr92; Ser87, Asn88, Thr90, Ala162; Asn69, Thr72, Ser87, Asn88, Thr90; Asn30, Thr32, Val87, Asn88, Thr90; Asn89, Ile90, Thr91; Ser87, Asn89, Ile90, Thr91; Asn36, Thr138; Asn138, Thr140; Thr125, y Pro124, Thr125 (Pág. 6, Párrs. [0051-0071]). Donde la SEQ ID NO: 1 de D1 tiene 98.79% de identidad con las SEQ ID NOS: 4 y 24 de la solicitud, y el 99.39% de identidad con la SEQ ID NO: 18 de la solicitud (alineamiento 1). En tanto, la SEQ ID NO: 2 de D1 tiene un 98.80% de identidad con las SEQ ID NOS: 4 y 24 de la solicitud, y el 99.40% de identidad con la SEQ ID NO: 18 de la solicitud (alineamiento 1).



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

Percent Identity Matrix - created by Clustal2.1					
1: WO_2020065576_A1_24	100.00	97.93	98.45	98.79	98.80
2: WO_2020065576_A1_4	97.93	100.00	98.45	98.79	98.80
3: WO_2020065576_A1_18	98.45	98.45	100.00	99.39	99.40
4: US_20070072795_A1_1	98.79	98.79	99.39	100.00	100.00
5: US_20070072795_A1_2	98.80	98.80	99.40	100.00	100.00

CLUSTAL O(1.2.4) MULTIPLE SEQUENCE ALIGNMENT

WO_2020065576_A1_24	MGVHECPAWLWLLSLLSLPLGLPVLGAPPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHC	60
WO_2020065576_A1_4	MGVHECPAWLWLLSLLSLPLGLPVLGAPPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHC	60
WO_2020065576_A1_18	MGVHECPAWLWLLSLLSLPLGLPVLGAPPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHC	60
US_20070072795_A1_1	-----APPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHC	33
US_20070072795_A1_2	-----APPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHC	33

WO_2020065576_A1_24	SLNENITVPDTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQL	120
WO_2020065576_A1_4	SLNENITVPDTNVTIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQL	120
WO_2020065576_A1_18	SLNENITVPDTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQL	120
US_20070072795_A1_1	SLNENITVPDTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQL	93
US_20070072795_A1_2	SLNENITVPDTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQL	93
*****:*,*****		
WO_2020065576_A1_24	HVDKAVSGLRSLTTLRALGAQKEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKL	180
WO_2020065576_A1_4	HVDKAVSGLRSLTTLRALGAQKEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKL	180
WO_2020065576_A1_18	HVDKAVSGLRNLTLTLRALGAQKEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKL	180
US_20070072795_A1_1	HVDKAVSGLRSLTTLRALGAQKEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKL	153
US_20070072795_A1_2	HVDKAVSGLRSLTTLRALGAQKEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKL	153
*****:*****		
WO_2020065576_A1_24	KLYTGEACRTGDR	193
WO_2020065576_A1_4	KLYTGEACRTGDR	193
WO_2020065576_A1_18	KLYTGEACRTGDR	193
US_20070072795_A1_1	KLYTGEACRTGD-	165
US_20070072795_A1_2	KLYTGEACRTGDR	166

Alineamiento 1. Entre las SEQ ID NOs: 1 y 2 de D1 y las SEQ ID NOs: 4, 18 y 24 de la solicitud.

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y la eritropoyetina modificada divulgada en el documento D1, consiste en que la mutación de la eritropoyetina es seleccionada del conjunto comprendido por: Lys45Asn y Asn47Thr; Ser104Asn; y Gly151Asn/Leu153Thr.

No hay evidencia de que el incluir específicamente las mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en Lys45Asn y Asn47Thr; Ser104Asn; y Gly151Asn/Leu153Thr proporcione una eritropoyetina con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1, puesto que una eritropoyetina humana modificada que es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y tiene efecto neuroprotector ya había sido prevista en dicho documento (ejemplo 2, Párrs. [0013], [0018], [0019]).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar la eritropoyetina conocida en D1 con el fin de proporcionar una eritropoyetina alternativa?

Sin embargo, una eritropoyetina humana modificada que comprende alguna de las sustituciones en las posiciones K45, S104, G151 o L153 ya había sido divulgada en D4 que se refiere a una eritropoyetina humana modificada en la que se ha realizado una sustitución en alguna de las hélices (A, B, C, D) o en alguno de los loops interhelicales (A-B, C-D) (Tabla 1). De esta forma, la mutación es presentada en el sitio de unión al receptor EPO y la misma consiste en una sustitución seleccionada del grupo que consisten en S9A, R10A, E13A, R14A, R14L, R14E, L17A, E18A, K20A, E21A, C29Y, C33Y, K45A, F48S, Y49S, A50S, W51S, K52S, Q59A, W64A, Q65A, G66A, L69A, S71A,

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

E72A, A73G, R76A, Q92A, L93A, H94A, D96A, K97A, S100A, G101A, R103A, S104A, T106A, L108A, T132A, D136A, R139A, R143A, K140A, S146A, N147A, R150A, G151A, K152A L153A, K154A, L155A, Y156A, T157A o E159A (Págs. 22840 – 22842, sección – Results, Tabla 1). De esta forma, se evaluaron un total de 50 muteínas de eritropoyetina frente a la eritropoyetina silvestre en células de bazo eritroides murinas primarias, la línea celular de eritroleucemia murina HCD57 y la línea celular de leucemia humana UT7-EPO, encontrando que algunas mutaciones muestran disminución de la actividad eritropoyética como es el caso de R14A, S104A, L108A y G151A (Pág. 20841, Col. Der, figs. 3B, 4C, tabla 1). En tanto, que algunas de ellas causan la pérdida completa de la actividad biológica como el caso del reemplazo de Arg de la posición 14 por Glu y el reemplazo de Arg de la posición 103 por Ala (Pág. 20841, Col. Der, Figs. 2 y 3A, tabla 1). Además, las sustituciones de las posiciones 147, 146 y 143 de la hélice D producen un aumento en la actividad (Pág. 20841, Col. Der, tabla 1). De acuerdo con estos resultados de actividad de las muteínas se logró identificar la importancia funcional de los dominios de la proteína (Abstract). D4 también divulga la secuencia de la eritropoyetina silvestre (fig. 1), la cual tiene 98.19% de identidad con la SEQ ID NO: 24 de la solicitud desde el aminoácido 28 (alineamiento 2).



Alineamiento 2. Entre la secuencia de la eritropoyetina silvestre de D4 y la SEQ ID NO: 24 de la solicitud.

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir una sustitución en alguna de las posiciones K45, S104, G151 o L153 como lo enseña el documento D4, en una proteína de eritropoyetina humana modificada como la del documento D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 1. Por lo cual se considera obvia.

Adicionalmente, está ampliamente divulgado un proceso para la obtención de un análogo de eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) hiperglicosilada que comprende: generar un ADNc que codifica el análogo, ligarlo en un vector de expresión SV40, transfectar los vectores en células COS-1⁴. Así como, muteínas de eritropoyetina cuya

⁴Elliott, S., et al. (2004). Structural requirements for additional N-linked carbohydrate on recombinant human erythropoietin. *The Journal of biological chemistry*, 279(16), 16854–16862. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311095200>

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

sustitución se presenta en la posición S104 con pérdida completa de actividad eritropoyética⁵.

Las reivindicaciones dependientes 2 a 6, 9, 10 y 11 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo a la eritropoyetina humana modificada de la reivindicación 1, por lo cual se considera que carecen de nivel inventivo.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 13 (Radicado NC2024/0006125 del 15 de mayo de 2024) se refiere a: “Un proceso de obtención de la eritropoyetina humana modificada de la reivindicación 1, caracterizado porque comprende los siguientes pasos: (...)”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

CARACTERÍSTICAS ESENCIALES	D3	D4
Un proceso de obtención de la eritropoyetina humana modificada	Un proceso para la obtención de un análogo de eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) (Págs. 16854-55, sección - Experimental Procedures)	Un proceso para la obtención de una eritropoyetina mutante (Pág. 22839, sección - Production of Wild Type and Epo Muteins in Mammalian Cell).
donde la eritropoyetina humana modificada es caracterizada porque comprende	Donde la eritropoyetina humana modificada (Pág. 16855, Col. Izq., sección – Results).	Donde la eritropoyetina humana mutante comprende (todo el documento)
la mutación de un sitio de unión al receptor homodimérico mediante la incorporación de sitios consenso de glicosilación, y	Comprende una mutación en la cual se introducen secuencias consenso de glicosilación en una de 47 posiciones posibles siendo secuencias de consenso Asn-Xaa-Ser y Asn-Xaa-Thr (Pág. 16855, Col. Izq., sección – Results).	Una mutación en el sitio de unión al receptor EPO (Págs. 22840 – 22842, sección - Results).
caracterizada porque dicha mutación es seleccionada del conjunto comprendido por: a. Lys45Asn y Asn47Thr; b. Ser104Asn; c. Gly151Asn y Leu153Thr;	La eritropoyetina está caracterizada porque puede comprender modificaciones en las posiciones 19, 55, 56, 57, 58, 69, 87 a 90, 111, 114, 115, 116, 117, 118 a 128, 132 – 135, 138, 147, 144 o 155 (Págs. 16856 a 16858, sección - Effect of Secondary Structure on Glycosylation). No menciona la secuencia.	Donde la mutación consiste en una sustitución de un único aminoácido en los motivos de las regiones de unión al receptor EPO en donde la mutación es seleccionada del grupo que consisten en S9A, R10A, E13A, R14A, R14L, R14E, L17A, E18A, K20A, E21A, C29Y, C33Y, K45A, F48S, Y49S, A50S, W51S, K52S, Q59A, W64A, Q65A, G66A, L69A, S71A, E72A, A73G, R76A, Q92A, L93A, H94A, D96A, K97A, S100A, G101A, R103A, S104A, T106A, L108A, T132A, D136A, R139A, R143A, K140A, S146A, N147A, R150A, G151A, K152A L153A, K154A, L155A, Y156A, T157A o E159A (Tabla 1).

⁵Gan, Y., et al. (2012). Mutant erythropoietin without erythropoietic activity is neuroprotective against ischemic brain injury. *Stroke*, 43(11), 3071–3077. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.663120>



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

y donde dicha eritropoyetina humana comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del conjunto comprendido por SEQ ID N°4, SEQ ID N°18, y SEQ ID N°24.		
El proceso es caracterizado porque comprende:	Donde el proceso comprende (rHuEPO) (Págs. 16854-55, sección - Experimental Procedures)	El proceso comprende (Pág. 22839, sección - Production of Wild Type and Epo Muteins in Mammalian Cell).
a. disponer de la secuencia de ácidos nucleicos que codifican dicha eritropoyetina humana modificada y que comprende al menos una secuencia de nucleótidos seleccionada del conjunto comprendido por: SEQ ID N°3, SEQ ID N°17, y SEQ ID N°23.;	Generar un ADNc que codifica, el análogo de eritropoyetina (Págs. 16854-55, sección - Construction of rHuEPO Glycosylation Analogs)	Proporcionar el plásmido H-EPO FL12, que es un plásmido M13, que contiene un inserto de ADN humano Epoc EcoRI-EcoRI de 1,4 kilobases, un fragmento EcoRI-BglIII de 943 pares de bases, que incluye la secuencia codificante completa de la eritropoyetina humana de tipo salvaje, así como regiones no traducidas 216 pares de bases corriente arriba y 183 pares de bases corriente abajo, el cual es insertado en el plásmido de expresión de mamíferos pSG5 (Stratagene) (Pág. 22839, sección - Construction of Wild Type and Mutant Mammalian Expression Plasmids). Hacer mutagénesis dirigida al sitio mediante las modificaciones respectivas sobre el ácido nucleico que codifica para eritropoyetina, secuenciar de cuatro a cinco clones de ADNc de doble cadena para verificar la mutación y examinar cada mutante mediante mapeo de restricción para detectar la presencia de mutaciones no deseadas adicionales (Pág. 22839, sección - Site-directed Mutagenesis).
b. construir, al menos, un vector de cotransfección de células empaquetadoras;	Ligar el ADNc a un vector de expresión S40 (Págs. 16854-55, sección - Construction of rHuEPO Glycosylation Analogs)	
c. cotransfectar dichas células empaquetadoras productoras de partículas lentivirales que contienen dicha secuencia de ácido nucleico que codifica para dicha eritropoyetina humana modificada;	transfectar el vector de expresión en células COS-1 (Pág. 16855, sección - Expression of Variants in Mammalian Cells).	Transfectar las células COS1 o COS7, cultivadas hasta una confluencia del 46 al 60 %, con 20 µg de plásmido recombinante (Pág. 22839, sección - Production of Wild Type and Epo Muteins in Mammalian Cells).
d. cosechar dichas partículas lentivirales producidas por las células empaquetadoras del paso c-;	recuperar el ADN de células COS (Pág. 16855, sección - Expression of Variants in Mammalian Cells).	
e. transducir células capaces de expresar y plegar la eritropoyetina humana modificada con dichas partículas lentivirales de dicho paso d-;	Usar el ADN obtenido para transformar células de ovario de hámster chino y obtener una expresión estable (Pág. 16855, sección - Expression of Variants in Mammalian Cells).	
f. seleccionar las células del paso e- que comprendan la secuencia de ácido nucleico que codifica	Las células que comprenden el vector de expresión son cultivadas para obtener una	

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

para dicha eritropoyetina humana modificada;	gran cantidad de la eritropoyetina modificada (Pág. 16855, sección - Expression of Variants in Mammalian Cells).	
g. cultivar las células del paso f- para que expresen dicha eritropoyetina humana modificada y;		
h. aislar y purificar dicha eritropoyetina humana modificada.	La proteína es aislada y purificada (Pág. 16855 -sección - Analysis of Expressed Proteins).	Cuantificar la cantidad de proteínas específicas obtenidas en el sobrenadante de cultivos de las células COS mediante un radioinmunoensayo con suero policlonal de un conejo (Págs. 22839 y 22840, sección - Quantitation of Transiently Expressed Recombinant Epos).

D3 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 13, ya que divulga un proceso para la obtención de un análogo de eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) hiperglicosilada que comprende: generar un ADNc que codifica el análogo, ligarlo en un vector de expresión SV40, transfectar los vectores en células COS-1, recuperar el ADN para transformar células de ovario de hámster chino y obtener una expresión estable (Págs. 16854-55, Experimental Procedures). Posteriormente, la proteína es aislada y purificada para evaluar sus características (Pág. 16855 -sección - Analysis of Expressed Proteins). D3 también menciona que la eritropoyetina humana es obtenida mediante la introducción de secuencias consenso de glicosilación en una de 47 posiciones posibles siendo las secuencias de consenso Asn-Xaa-Ser y Asn-Xaa-Thr (Pág. 16855, Col. Izq, sección – Results). De esta forma, la eritropoyetina puede comprender modificaciones en las posiciones 19, 55, 56, 57, 58, 69, 87 a 90, 111, 114, 115, 116, 117, 118 a 128, 132 – 135, 138, 147, 144 o 155 (Págs. 16856 a 16858, sección - Effect of Secondary Structure on Glycosylation).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 13 y el proceso divulgado en el documento D3, consiste en que la mutación de la eritropoyetina es seleccionada del conjunto comprendido por: Lys45Asn y Asn47Thr; Ser104Asn; y Gly151Asn/Leu153Thr.

No hay evidencia de que el incluir específicamente las mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en Lys45Asn y Asn47Thr; Ser104Asn; y Gly151Asn/Leu153Thr en una eritropoyetina humana proporcione un proceso con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D3, puesto que un proceso para la obtención de una eritropoyetina humana modificada la cual al ser evaluada por inmunorreactividad del anticuerpo monoclonal anti-rHuEPO 9G8a permite determinar qué cambios estructurales de las mutaciones se correlacionan con la glicosilación, donde el procedimiento permite obtener proteínas en las cuales se puede mantener una estructura normalizada en análogos con nuevos sitios de glicosilación funcionales ya había sido previsto en dicho documento (Pág. 16859, sección - Effect of Secondary Structure on Glycosylation). Además, no está probado un efecto técnico para un procedimiento que comprende un ácido nucleico con más de una secuencia de nucleótidos.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el proceso conocido en D3 con el fin de proporcionar un proceso alternativo?

Sin embargo, un proceso para obtener una eritropoyetina humana modificada que comprende alguna de las sustituciones en las posiciones K45, S104, G151 o L153 ya había sido divulgado en D4 que se refiere a un proceso para la obtención de una



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

eritropoyetina mutante el cual comprende proporcionar el plásmido H-EPO FL12, que es un plásmido M13, que contiene un inserto de ADN humano Epoc EcoRI-EcoRI de 1,4 kilobases, un fragmento EcoRI-BglII de 943 pares de bases, que incluye la secuencia codificante completa de la eritropoyetina humana de tipo salvaje, así como regiones no traducidas 216 pares de bases corriente arriba y 183 pares de bases corriente abajo, el cual es insertado en el plásmido de expresión de mamíferos pSG5 (Stratagene) (Pág. 22839, sección - Construction of Wild Type and Mutant Mammalian Expression Plasmids). Posteriormente, para la mutagénesis dirigida al sitio se llevaron a cabo mediante las modificaciones respectivas sobre el ácido nucleico que codifica para eritropoyetina, se secuenció de cuatro a cinco clones de ADNc de doble cadena para verificar la mutación y se examinó cada mutante mediante mapeo de restricción para detectar la presencia de mutaciones no deseadas adicionales (Pág. 22839, sección - Site-directed Mutagenesis). Posteriormente, las muteínas EPO fueron producidas en células de mamíferos: las células COS1 o COS7, cultivadas hasta una confluencia del 46 al 60 %, se transfectaron con 20 µg de plásmido recombinante (Pág. 22839, sección - Production of Wild Type and Epo Muteins in Mammalian Cells). Posteriormente, se cuantificó la cantidad de proteínas específicas obtenidas en el sobrenadante de cultivos de las células COS mediante un radioinmunoensayo con suero policlonal de conejo (Págs. 22839 y 22840, sección - Quantitation of Transiently Expressed Recombinant Epos). Así como una composición que comprende una concentración de eritropoyetina humana mutante de 2.5 a 50 miliunidades/ml (Pág. 22840, sección – Bioassays).

D4 también menciona que la eritropoyetina humana modificada obtenida por el proceso se caracteriza por comprender una sustitución en alguna de las hélices (A, B, C, D) o en alguno de los loops interhelicales (A-B, C-D) (Tabla 1). De esta forma, la mutación es presentada en el sitio de unión al receptor EPO y la misma consiste en una sustitución seleccionada del grupo que consisten en S9A, R10A, E13A, R14A, R14L, R14E, L17A, E18A, K20A, E21A, C29Y, C33Y, K45A, F48S, Y49S, A50S, W51S, K52S, Q59A, W64A, Q65A, G66A, L69A, S71A, E72A, A73G, R76A, Q92A, L93A, H94A, D96A, K97A, S100A, G101A, R103A, S104A, T106A, L108A, T132A, D136A, R139A, R143A, K140A, S146A, N147A, R150A, G151A, K152A, L153A, K154A, L155A, Y156A, T157A o E159A (Págs. 22840 – 22842, sección – Results, Tabla 1). De esta forma, se evaluaron un total de 50 muteínas de eritropoyetina frente a la eritropoyetina silvestre en células de bazo eritroides murinas primarias, la línea celular de eritroleucemia murina HCD57 y la línea celular de leucemia humana UT7-EPO, encontrando que algunas mutaciones muestran disminución de la actividad eritropoyética como es el caso de R14A, S104A, L108A y G151A (Pág. 20841, Col. Der, figs. 3B, 4C, tabla 1). De acuerdo con estos resultados de actividad de las muteínas se logró identificar la importancia funcional de los dominios de la proteína (Abstract). D4 también divulga la secuencia de la eritropoyetina silvestre (fig. 1), la cual tiene 98.19% de identidad con la SEQ ID NO: 24 de la solicitud desde el aminoácido 28 (alineamiento 2).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir una sustitución en alguna de las posiciones K45, S104, G151 o L153 en una eritropoyetina humana modificada como lo enseña el proceso del documento D4, en el proceso del documento D3, para así llegar al objeto de la reivindicación 13. Por lo cual se considera obvia.

Adicionalmente, están ampliamente divulgadas muteínas de eritropoyetina cuya sustitución se presenta en la posición S104 con pérdida completa de actividad eritropoyética⁶.

⁶Gan, Y., et al. (2012). Mutant erythropoietin without erythropoietic activity is neuroprotective against ischemic brain injury. *Stroke*, 43(11), 3071–3077. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.663120>



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

Las reivindicaciones dependientes 14 a 19 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al proceso de la reivindicación 13, por lo cual se considera que carecen de nivel inventivo.

8. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	US20070072795	1 a 6, 9, 10 y 11	Nivel inventivo
D3	Elliott, S., et al. <i>The Journal of biological chemistry</i>	13 a 19	Nivel inventivo
D4	Wen, D., et al. <i>The Journal of biological chemistry</i> .	1 a 6, 9, 10, 11 y 13 a 19	Nivel inventivo

9. Respuesta a los argumentos del solicitante

Argumentos frente a las objeciones por excepción a la patentabilidad

En lo referente a los argumentos del solicitante con relación a las excepciones a la patentabilidad de la solicitud bajo estudio en donde manifestó *“El Examinador manifiesta que el objeto de las reivindicaciones 15 y 16 no es patentable, al no referir una proporción o concentración de un principio activo en términos de porcentaje, molaridad o similares; sino a una cantidad requerida para obtener un efecto terapéutico. En consecuencia y para dar por superada la objeción, se han modificado estas reivindicaciones indicando ahora la concentración de la eritropoyetina humana modificada, como se muestra a continuación: (...)*

Por lo tanto, la objeción ha sido superada y en este sentido las anteriores reivindicaciones 15 y 16, ahora reivindicaciones 11 y 12, son patentables”.

De lo anterior, esta Oficina se permite indicar que la objeción por excepciones a la patentabilidad aún continúa siendo pertinente para el capítulo reivindicativo del escrito radicado bajo número NC2024/0006125 el 15 de mayo de 2024 como se indica en el numeral 4 del presente Oficio. Esto en la medida que las reivindicaciones 7 y 8 se refieren a una célula vegetal modificada, la cual no es patentable de acuerdo con el artículo 20 numeral c de la Decisión 486, donde se establece que no son patentables las plantas, y una célula vegetal por su totipotencialidad puede dar lugar a una planta completa. Adicionalmente, la materia de la reivindicación 12 tampoco es patentable dado que se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad mediante la administración de una composición que comprende una eritropoyetina modificada.

Argumentos frente a las objeciones por falta de claridad de las reivindicaciones

Frente a las objeciones por la falta de claridad del capítulo reivindicatorio el solicitante indica que *“En respuesta a lo indicado por el Examinador referente a la falta de concisión del capítulo al comprender múltiples reivindicaciones independientes, el Solicitante ha modificado las reivindicaciones de la 7 a la 14 incluyendo la dependencia directa e indirecta a la reivindicación 1, tal como se propone en el pliego adjunto.*



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

Adicionalmente y para dar claridad a la reivindicación 1, el Solicitante ha modificado la reivindicación 1 y en esta ahora sólo se reivindican las tres secuencias correspondientes a las eritropoyetinas mutadas que han sido objeto de los ejemplos de aplicación presentados en la solicitud original.

En lo que respecta a las objeciones a las reivindicaciones 1, 3 y 4 que considera el Examinador como resultados a alcanzar, y que refiere la baja acción eritropoyética, respetuosamente se difiere de las apreciaciones, ya que se hace referencia a la actividad eritropoyética menor al 0,5 % en el exordio de la primera reivindicación expresando una característica que define el campo tecnológico, no pretendiendo caracterizar la invención con tal efecto técnico (...).

Se aclara que el capítulo reivindicatorio del escrito bajo número NC2024/0006125 el 15 de mayo de 2024 no cumple con los requisitos del artículo 30 de la Decisión 486 porque carece de claridad, concisión y sustento como se muestra en el numeral 5.2 del presente Oficio. Esto en cuanto a que la reivindicación 1 presenta un error de escritura y tal como está redactada se entiende que el sitio de unión comprendiera una única mutación al mencionar “la mutación”, pero en la misma reivindicación se indica que pueden existir dos sustituciones en dicha región de la proteína, por lo cual no habría coherencia. Así mismo, cuando hace alusión a los sitios que están mutados indica “del conjunto comprendido por”, lo cual no es claro. Además, comprende resultados a alcanzar como los que se refieren a la actividad de la eritropoyetina modificada en comparación con la silvestre o a los sitios de glicosilación. Así mismo, las reivindicaciones 2 y 3 no son concisas porque reclaman la misma materia que corresponde al ácido nucleico que codifica la proteína. Además, carecen de sustento porque se refieren a que el ácido nucleico que codifica la eritropoyetina contiene al menos una secuencia de nucleótidos, lo cual no es coherente con lo divulgado en la descripción.

Por su parte el solicitante adiciona que “Las reivindicaciones de proceso (18 original en adelante) han sido enmendadas y ahora reflejan el proceso para obtener las muteínas de la invención, caracterizadas en la enmendada reivindicación 1. Por lo que se entiende superada la objeción.

La reivindicación 20 ha sido enmendada definiendo los vectores utilizados.

Con todas las modificaciones y argumentos presentados, se han dado por superadas las objeciones presentadas por el Examinador”

Se aclara que la actual reivindicación 13 carece de claridad y de sustento porque se menciona que se construye al menos un vector de cotransfección con las cuales se cotransfecta las células empaquetadoras, pero no habría sustento para cotransfectar con más de un vector. Además, no menciona las células empleadas que permiten el plegamiento y la expresión de la proteína, así como tampoco se incluyen las técnicas, amortiguadores, tiempos y temperaturas empleadas para el aislamiento y purificación. Lo anterior porque la solicitud no ha explorado cualquier proceso para la producción de cualquier eritropoyetina modificada.

De esta forma, las modificaciones presentadas no permiten superar las objeciones realizadas sobre claridad, concisión y sustento de las reivindicaciones.

Argumentos frente a las objeciones a la descripción

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

El solicitante menciona que *“En respuesta a lo expresado por el Examinador en relación con las supuestas inconsistencias de la nomenclatura se dice lo siguiente:*

Las proteínas de uso terapéutico producidas por células eucariotas son proteínas de secreción. Por lo tanto, son incorporadas de manera cotraduccional al retículo endoplasmático (RE), y viajan a través del aparato de Golgi y las vesículas secretorias hasta llegar al exterior de la célula (...)

Por lo anteriormente expresado, el péptido señal es una condición indispensable para que la proteína pueda secretarse al medio de producción en su estado final maduro pero su secuencia es escindida antes de que ello ocurra. De este modo, la inclusión del péptido señal es usual en las comunicaciones científicas en la materia, aunque no forma parte de la proteína madura (...)

Sin embargo, coincidimos en que para una mayor claridad es posible expresar el objeto principal de la presente invención en una secuencia que no comprenda al péptido señal. Es por esta razón que tomando las observaciones del Sr. Examinador, que se agradecen, presentamos un nuevo listado de secuencias en que se han eliminado los primeros 27 AA del péptido señal. Asimismo, se elimina el último aminoácido (Arg166) dado que la secuencia madura contiene 165 aminoácidos y finaliza con el residuo Asp165 (...)

El péptido señal, de 27 aminoácidos y cuya escisión da lugar a la molécula de hEPO madura de 165 aminoácidos, tiene la secuencia aminoacídica: mgvhecpawlwllslslplglpvlg). La memoria descriptiva de la presente invención tal como ha sido presentada originalmente contempló las modificaciones indicadas sobre la secuencia de EPO madura (sólo secuencia de aminoácidos de EPO) con la numeración o nomenclatura establecida sobre ella, tal como se encuentra en la bibliografía y como es utilizada por los expertos en la materia (...)

En consecuencia, se incorporan las secuencias correspondientes a la proteína madura, lo que consecuentemente se enmiendan las secuencias para atender la observación del Examinador que se contesta. Con lo que queda resuelta la objeción”.

Es importante resaltar que las objeciones respecto a las secuencias de la proteína madura y con el péptido señal han sido superadas con las modificaciones al capítulo reivindicatorio y con el listado de secuencias proporcionado. Sin embargo, debe mencionarse que el capítulo descriptivo no cumple con los requisitos de claridad y suficiencia dado que no se evidencia el desarrollo de un ácido nucleico que comprenda más de una secuencia de nucleótidos, ni vectores que comprendan más de un ácido nucleico que codifica para una eritropoyetina modificada. Tampoco se evidencia composiciones que comprendan una eritropoyetina modificada con una concentración entre 50 a 400 mg/ml.

Argumentos frente a las objeciones por nivel inventivo

Frente a las objeciones realizadas por la falta de nivel inventivo de la materia reclamada en la solicitud, el solicitante argumenta que *“La generación de muteínas mediante la inserción de sitios de N-glicosilación si bien ya fue utilizada en la bibliografía científica, incluso por los mismos inventores de la presente invención, para incrementar la vida media de las proteínas terapéuticas y así su actividad biológica in vivo, dicha modificación NUNCA fue empleada para bloquear sitios moleculares responsables de determinadas acciones biológicas a nivel de interacciones con receptores celulares. A partir de D1 (Patente US20070072795) se pone en evidencia la incorporación de modificaciones*

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

químicas (residuos de polietilenglicol) y bioquímicas (residuos glicosídicos) para incrementar la vida media de eritropoyetina, pero lo logra en sitios moleculares que no bloquean la actividad eritropoyética sino, contrariamente, la preservan. Nuestra invención se diferencia notablemente ya que los sitios de N-glicosilación fueron incorporados en regiones moleculares que incrementan la vida media, pero bloquean la actividad biológica eritropoyética. Es decir, el efecto técnico es totalmente diferente e inesperado con respecto a lo que muestran los autores de la patente D1. La inhibición completa de la actividad eritropoyética lograda por las muteinas de la presente invención y no enunciadas en la patente D1, contrasta con la preservación de la misma, tal como se evidencia en la patente D1.

La publicación D3 de Elliott et al. estudia la eficiencia de la N-glicosilación en sitios susceptibles para que ella se lleve a cabo. Evalúa el efecto de la posición en la secuencia o estructura primaria de la proteína, la presencia de aminoácidos que circundan el sitio y, en particular enfatiza en la velocidad entre la adquisición de la estructura terciaria y la glicosilación propiamente dicha. Utiliza la EPO para este proceso, pero de ninguna manera modifica los sitios propuestos en la presente invención ni busca el bloqueo de su actividad eritropoyética.

Por los motivos antes expuestos, ni el documento D1 ni D3 afectan la altura inventiva de nuestro descubrimiento, el cual a través de la modificación K45N y N47T ha logrado una independencia absoluta de lo conocido en la literatura y expone su capacidad para la tan ansiada búsqueda de bloquear sitios responsable de la eritropoyesis de modo de disponer de un biofármaco que demuestre actividad en neuroprotección y neuroplasticidad sin los efectos perjudiciales de la actividad biológica eritropoyética, que es la función medular en la biología de eritropoyetina.

Finalmente, la publicación D2 (Gan et al.) expone la modificación S104I que coincide con la modificación propuesta en nuestro pliego reivindicatorio con respecto a la mutación S104N. De ninguna manera se quiso emular la modificación por ellos propuesta, sino que naturalmente se dio en la búsqueda de incorporar sitios de N-glicosilación, en este caso una asparagina en la posición -2 a la Thr106 de modo que quede configurado el sitio de adición de N-glicano (N-X-T, donde N es asparagina, X cualquier aminoácido excepto prolina y T es treonina). Asimismo, el trabajo de Gan et al. cambia un aminoácido hidrofílico (serina) por uno hidrofóbico (Isoleucina) que suele afectar bastante la integridad estructural mientras que en nuestra solicitud mostramos la modificación de serina por otro fisicoquímicamente más relacionado como asparagina que también es hidrofílico lo que permitiría sustentar que conservamos la estructura terciaria (hecho comprobado por ensayo de dicroísmo circular y thermal shift). Cabe destacar que, la modificación permitió incorporar una modificación postraducciona (glicano, que fue comprobado por ensayo de digestión parcial con N-glicanasa) que no se encuentra en la EPO natural ni en la modificada por los autores de D2. Dicho glicano aporta mayor hidrofiliidad a la región, lo que la diferenciaría aún más de las propiedades fisicoquímicas generada por la modificación S104I de los autores de D2. Por otro lado, y como es conocido, la adición de glicanos incrementa el tiempo de vida media que se extrapola con condiciones de formulación y dosificación del futuro medicamento que no son aportadas por la modificación realizada por Gan et al. Al mismo tiempo, hemos observado con la modificación S104N de nuestra molécula un accionar neurobiológico relacionado no sólo con la neuroprotección como demuestran tales autores, sino con la neuroplasticidad tanto en ensayos in vitro como in vivo, con resultados altamente prometedores para desarrollar un bioterapéutico de interés en aspectos relacionados con enfermedades neurodegenerativas donde la neuroplasticidad se encuentra afectada.

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

A continuación, se resume un ensayo no mostrado en la patente y que contiene resultados muy interesantes para la respuesta a la vista de patente en un modelo de neuroplasticidad in vivo (Ensayo 1_Archivo de evidencia científica): (...)

Ninguno de los tres trabajos (D1, D2 y D3) mencionados por el evaluador permite a un experto medio en la materia llegar a la conclusión de que la mutación de los aminoácidos propuestos en la presente invención genera un sitio que al decorarse con glicanos bloquea la actividad biológica eritropoyética. Aún más, NINGUNO de los documentos señalados menciona dicho sitio, ni que su modificación postraducciona con glicanos bloquea la actividad eritropoyética. Por otro lado, D1 y D2 mencionan actividades neuroprotectoras pero no neuroplásticas que fueron observadas con la muteína K45N/N47T al igual que con las muteínas S104N y G151N/L153T y cuyos resultados se muestran en la presente respuesta a la vista de la solicitud de patente”.

Se aclara que el capítulo reivindicatorio del escrito radicado bajo número NC2024/0006125 el 15 de mayo de 2024 carece de nivel inventivo como se presenta en el numeral 7.1 del presente oficio. En primer lugar, se debe indicar que a dicho capítulo modificado se le trasladaron los documentos D1, D3 y D4, por lo cual los argumentos frente al documento D2 ya no son pertinentes. Ahora bien, aunque D1 no exponga las mutaciones y secuencias específicas de la eritropoyetina reclamada en la solicitud, sus enseñanzas motivan el desarrollo de eritropoyetinas con mutaciones que conlleven a la pérdida de la capacidad eritropoyética y que funcionen en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

Como se evidencia en el presente Oficio, D1 es el documento más cercano a la invención reclamada en la solicitud, ya que divulga una eritropoyetina humana modificada que comprende un sitio adicional de glicosilación con una modificación seleccionada de: Asn30, Thr32; Asn51, Thr53, Asn57, Thr59; Asn69; Asn69, Thr71; Ser68, Asn69, Thr71; Val87, Asn88, Thr90; Ser87, Asn88, Thr90; Ser87, Asn88, Gly89, Thr90; Ser87, Asn88, Thr90, Thr92; Ser87, Asn88, Thr90, Ala162; Asn69, Thr72, Ser87, Asn88, Thr90; Asn30, Thr32, Val87, Asn88, Thr90; Asn89, Ile90, Thr91; Ser87, Asn89, Ile90, Thr91; Asn36, Thr138; Asn138, Thr140; Thr125, y Pro124, Thr125 (Pág. 6, Párrs. [0051-0071]).

La diferencia entre la eritropoyetina presentada en D1 y la de la solicitud consiste en que la mutación de la eritropoyetina es seleccionada del conjunto que comprende Lys45Asn y Asn47Thr; Ser104Asn; y Gly151Asn/Leu153Thr. Lo cual no proporciona una eritropoyetina con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1, puesto que este documento ya presentaba una eritropoyetina humana modificada la cual es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica (ejemplo 2).

Así las cosas, la solicitud presenta una eritropoyetina modificada alternativa a la conocida en D1. Pero ya el documento D4 divulga una eritropoyetina humana mutante que comprende una sustitución alterna en los motivos de las regiones de unión al receptor EPO, específicamente, una sustitución seleccionada del grupo que consiste en S9A, R10A, E13A, R14A, R14L, R14E, L17A, E18A, K20A, E21A, C29Y, C33Y, K45A, F48S, Y49S, A50S, W51S, K52S, Q59A, W64A, Q65A, G66A, L69A, S71A, E72A, A73G, R76A, Q92A, L93A, H94A, D96A, K97A, S100A, G101A, R103A, S104A, T106A, L108A, T132A, D136A, R139A, R143A, K140A, S146A, N147A, R150A, G151A, K152A, L153A, K154A, L155A, Y156A, T157A o E159A (Págs. 22840 – 22842, sección – Results, Tabla 1). Con la evaluación de estas muteínas se encuentra que algunas sustituciones conllevan a una disminución de la actividad eritropoyética las cuales son R14A, S104A, L108A y G151A (Pág. 20841, Col. Der, figs. 3B, 4C, tabla 1). Mientras, otras causan la pérdida completa de la actividad biológica como el caso del reemplazo de Arg de la posición 14 por Glu y

Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

el reemplazo de Arg de la posición 103 por Ala (Pág. 20841, Col. Der, Figs. 2 y 3A, tabla 1). Por lo tanto, los resultados presentados en D4 ponen en evidencia la importancia funcional de los dominios de la proteína (Abstract).

En este sentido, D4 ya expone que las mutaciones divulgadas pueden eliminar la actividad eritropoyética, particularmente en las posiciones K45, S104, G151 o L153, mostrando para las posiciones S104 y G151 disminución de la actividad (Pág. 20841, Col. Der, figs. 3B, 4C, tabla 1). Por tanto, una persona normalmente versada en la materia se vería motivada a incluir una mutación en S104 o G151 en la muteína de D1 para llegar a la eritropoyetina alternativa de la solicitud.

Por su parte D3 divulga un proceso para la obtención de un análogo de eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) hiperglicosilada la cual puede comprender modificaciones en las posiciones 19, 55, 56, 57, 58, 69, 87 a 90, 111, 114, 115, 116, 117, 118 a 128, 132 – 135, 138, 147, 144 o 155 (Págs. 16856 a 16858, sección - Effect of Secondary Structure on Glycosylation). Donde el método comprende: generar un ADNc que codifica el análogo, ligarlo en un vector de expresión SV40, transfectar los vectores en células COS-1, recuperar el ADN para transformar células de ovario de hámster chino y obtener una expresión estable, además de aislar y purificar la proteína modificada (Págs. 16854-55, Experimental Procedures).

Por tanto, la diferencia entre el proceso divulgado en D3 y el de la solicitud consiste en las modificaciones en la eritropoyetina humana. Sin embargo, D4 divulga el procedimiento para la obtención de una eritropoyetina humana modificada, la cual tiene una mutación seleccionada del grupo que consiste en S9A, R10A, E13A, R14A, R14L, R14E, L17A, E18A, K20A, E21A, C29Y, C33Y, K45A, F48S, Y49S, A50S, W51S, K52S, Q59A, W64A, Q65A, G66A, L69A, S71A, E72A, A73G, R76A, Q92A, L93A, H94A, D96A, K97A, S100A, G101A, R103A, S104A, T106A, L108A, T132A, D136A, R139A, R143A, K140A, S146A, N147A, R150A, G151A, K152A, L153A, K154A, L155A, Y156A, T157A o E159A (Págs. 22840 – 22842, sección – Results, Tabla 1). El proceso comprende proporcionar un plásmido que comprende la secuencia codificante de la proteína silvestre y sobre la cual se realizan las mutaciones puntuales, se inserta en otro plásmido que es usado para cotransfección de células de mamíferos COS, siendo éstas últimas cultivadas para obtener la proteína mutada en el sobrenadante (Pág. 22839, sección - Construction of Wild Type and Mutant Mammalian Expression Plasmids; Pág. 22839, secciones - Site-directed Mutagenesis y Production of Wild Type and Epo Muteins in Mammalian Cells; Págs. 22839 y 22840, sección - Quantitation of Transiently Expressed Recombinant Epos). D4 también divulga una composición que comprende una concentración de eritropoyetina humana mutante de 2.5 a 50 miliunidades/ml (Pág. 22840, sección – Bioassays).

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de 2000, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Si como respuesta a este requerimiento, el solicitante modifica el capítulo reivindicatorio, deberá observar las instrucciones contenidas en el numeral 1.2.2.1.1., del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única de esta Superintendencia. De igual forma, deberá tener presente que de conformidad con el literal a) del numeral 1.2.2.5.1. de la norma ibidem, será necesario acreditar el pago de la tasa por concepto de modificación a solicitudes en trámites, de conformidad con el valor establecido en la resolución de tasas vigentes.



**Superintendencia de
Industria y Comercio**



Oficio N° **14568** de **20 de agosto de 2024**

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 6.2 del Capítulo Sexto del Título I de la Circular Única, informándoles que contra el mismo no procede recurso alguno en actuación administrativa.

Sandra Isabel Calderon Rodriguez
DIRECTORA DE NUEVAS CREACIONES



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

INFORME DE BÚSQUEDA
EXAMEN DE PATENTABILIDAD

Solicitud No.		Examen de patentabilidad							
NC2021/0004447		1°		2°	X	3°		Revoca	
Solicitud Internacional No.		Fecha solicitud internacional: (DD/MM/AÑO)							
PCT/IB2019/058179		26/09/2019							
Fecha de determinación estado de la técnica (DD/MM/AÑO)				Prioridad		Presentación			
27/09/2018				X					
Solicitante UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL, CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y TECNICAS (CONICET), UNIVERSIDAD NACIONAL DE GENERAL SAN MARTÍN									
Reivindicaciones que no son objeto de búsqueda por:									
Art. 14	-	Art. 15	-	Art. 20	7, 8 y 12	Art. 25 (Falta de unidad de invención)		-	

CRITERIOS DE BÚSQUEDA	
Reivindicaciones objeto de búsqueda	1 a 6, 9, 10, 11 y 13 a 19
Palabras clave utilizadas	Mutant erythropoietin, human erythropoietin, substitutions, Lys45Asn y Asn47Thr, Ser104Asn, Gly151Asn y Leu153Thr, binding receptor, transformation vector, expression vector, lentiviral vector, CHO.K1, HEK293, NS0, BHK-21, HeLa, SEQ ID NO: 4, 17, 18, 23 y 24.
Clasificaciones utilizadas para la búsqueda	CIP: A61K 38/00

DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES (Documentos patente, Literatura no patente (LNP): Artículos, catálogos, etc.)					
Informes de búsqueda / Bases de datos consultadas	N° de solicitud de patente / N° de patente / Autor LNP ⁽¹⁾	Fecha de Publicación /Presentación (DD/MM/AAAA)	Reivindicaciones /Secuencias afectadas	Citas relevantes del estado de la técnica	Categoría del documento citado ⁽²⁾
SIPI	CO 00048531	28/06/2000	-	-	A
	CO 00048963	29/06/2000	-	-	A
	CO 03054618	27/06/2003	-	-	A
	CO 03089905	08/10/2003	-	-	A
	CO 97057986	03/10/1997	-	-	A
	NC2022/0002934	15/03/2022	-	-	A
THE LENS	WO2015073727	20/05/2015	-	-	A
	US20040122216	23/06/2004	-	-	A
	WO2015052231	15/04/2015	-	-	A
	EP3323826A1	22/05/2018	-	-	A
	US20160207978	20/07/2016	-	-	A
ISA/ EPO	WO9424160	27/10/1994	-	-	A
	CN102186879	14/09/2011	-	-	A
	WO9505465	23/02/1995	-	-	A
	WO2004003176	08/01/2004	-	-	A
	US2007072795	29/07/2007	1 a 6, 9, 10 y 11	Pág. 6, Párrs. [0051-0071]	Y
	US2012094906	19/04/2012	-	-	A
	Elliott, S., et al.	02/02/2004	13 a 19	Abstract, Págs. 16854-55, sección - Experimental Procedures, Págs. 16856 a 16858, sección - Effect of	Y



Ref. Expediente N° NC2021/0004447

				Secondary Structure on Glycosylation	
STN	CN 110554121	10/12/2019	-	-	A
	Yu Gan., <i>et al.</i>	11/11/2012	-	-	A
	Boissel, J. P.	1993	-	-	A
PUBMED	Hand, C. C., & Brines, M.	10/2011	-	-	A
	Wen, D., <i>et al.</i>	09/09/1994	1 a 6, 9, 10, 11 y 13 a 19	Abstract, Pág. 22839, sección - Construction of Wild Type and Mutant Mammalian Expression Plasmids; Pág. 22839, secciones - Site-directed Mutagenesis y Production of Wild Type and Epo Muteins in Mammalian Cells; Págs. 22839 y 22840, sección - Quantitation of Transiently Expressed Recombinant EPOS; Pág. 22840, sección – Bioassays).	Y
GOOGLE	Fibi, M. R., <i>et al.</i>	01/03/1995	-	-	A
PATBASE	US2002086816	04/07/2002	-	-	A
	US2002068318	06/06/2002	-	-	A
	US2005272634	08/12/2005	-	-	A
	US7309687BA	18/12/2007	-	-	A
	US2007161552	12/07/2007	-	-	A
	US2003077753	24/04/2003	-	-	A
	US2004122216	24/06/2004	-	-	A
	CL2003001761	01/01/2004	-	-	A
	US2002081734	27/06/2002	-	-	A
(¹) Cita completa literatura no patente (LNP) Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Volumen(Número), pp-pp. O Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Recuperado de http://xxxxxxx.		Elliott, S., <i>et al.</i> (2004). Structural requirements for additional N-linked carbohydrate on recombinant human erythropoietin. <i>The Journal of biological chemistry</i> , 279(16), 16854–16862.			
		Yu Gan, <i>et al.</i> (2012) Mutant Erythropoietin Without Erythropoietic Activity Is Neuroprotective Against Ischemic Brain Injury. <i>Stroke</i> , 43 (11), 3071 - 3077.			
		Boissel, J. P., <i>et al.</i> (1993). Erythropoietin structure-function relationships. Mutant proteins that test a model of tertiary structure. <i>The Journal of biological chemistry</i> , 268 (21), 15983–15993.			
		Hand, C. C., & Brines, M. (2011). Promises and pitfalls in erythropoietin-mediated tissue protection: are nonerythropoietic derivatives a way forward?. <i>Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research</i> , 59(7), 1073–1082.			
		Wen, D., <i>et al.</i> (1994). Erythropoietin structure-function relationships. Identification of functionally important domains. <i>The Journal of biological chemistry</i> , 269(36), 22839–22846.			
		Fibi, M. R., <i>et al.</i> (1995). N- and O-glycosylation muteins of recombinant human erythropoietin secreted from BHK-21 cells. <i>Blood</i> , 85(5), 1229–1236.			
(²) Categorías de documentos citados “A” Documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante. “E” Solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior. “L” Documento citado para llamar la atención sobre por ejemplo, dudas acerca de una reivindicación de prioridad o para determinar la fecha de publicación de otra cita, siempre van acompañados de una explicación, por la cual se citan. “O” Documento del tipo actas de conferencia, este tipo de documentos siempre estará acompañado por otra letra que indique la pertinencia del documento, por ejemplo, O,X, O,Y o bien O,A. “P” Documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada. “T” Documento publicado en fecha posterior a la de presentación o la de prioridad de la solicitud internacional y no entra en conflicto con dicha solicitud, pero puede ser útil para la mejor comprensión del principio o teoría en que se basa la invención, o para demostrar que el razonamiento o los hechos en los que se basa dicha invención son incorrectos. “X” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado. “Y” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.					



Oficio N° 14568 de 20 de agosto de 2024

Ref. Expediente N° NC2021/0004447

Fecha del reporte de búsqueda: (05/08//2024)

