

P-2022/20003

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Solicitud de patente No. **NC2020/0008252** a nombre de **INSTITUTO DISTRITAL DE CIENCIA BIOTECNOLOGIA E INNOVACIÓN EN SALUD - IDCBIS**.

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de la sociedad **INSTITUTO DISTRITAL DE CIENCIA BIOTECNOLOGIA E INNOVACIÓN EN SALUD -IDCBIS**, domiciliada en Bogotá D.C., Colombia, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al Oficio No. 15115 notificado electrónicamente el 28 de agosto de 2024, relacionado con el requerimiento de fondo de la solicitud, y de acuerdo con la reunión del pasado 11 de octubre de 2024, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Modificación a las Reivindicaciones

Con fundamento en la facultad que confiere el Artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de once (10) reivindicaciones y reemplaza completamente el capítulo presentado el 2 de julio de 2020. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

- 1.1** Se modificó el lenguaje de las reivindicaciones de modo que ahora hace referencia a un "*constructo tipo sánduche*". Esta modificación encuentra soporte en la descripción como fue originalmente presentada, por ejemplo, en las páginas 6, 7, 10, 18 y 24, en donde se demuestra que este término es utilizado comúnmente en la técnica para referirse al objeto de la invención.
- 1.2** Se modificó la reivindicación 1, eliminando el término "*al menos*" y definiendo de manera concreta características de las capas. De esta manera, la nueva reivindicación específicamente menciona que:
 - 1.2.1.** las capas inferior y superior están conformadas por andamios electrohilados de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y colágeno (COL), en

donde la proporción (p/p) de PCL:COL es entre 9:1 y 19:1; Esta modificación está soportada en el contenido de la solicitud como fue originalmente presentada, en particular, en la página 14 de la descripción y en la antigua reivindicación 3.

- 1.2.2. la capa intermedia está conformada por factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) encapsulado en alginato de calcio. Esta modificación está soportada en el contenido de la solicitud como fue originalmente presentada, en particular, en la página 17 de la descripción.

1.3 Se eliminaron las reivindicaciones 2, 3 y 9.

1.4 Se ajustó la numeración y la dependencia de las reivindicaciones.

1.5 Se modificó la antigua reivindicación 10 (nueva reivindicación 7) con el fin de:

- 1.5.1 Especificar la proporción en masa de poli(ϵ -caprolactona) y colágeno, así como la concentración de la solución de la etapa a). Esta modificación encuentra soporte en la antigua reivindicación 11,
- 1.5.2 Incluir una etapa b) relacionada con la obtención de cápsulas de alginato de calcio cargadas con TGF- $\beta 3$,
- 1.5.3 Eliminar la etapa opcional relacionada con la disposición de una capa de células,
- 1.5.4 Modificar la redacción en aras de la claridad.

1.6 Se incluyó la nueva reivindicación 8 relacionada con una etapa adicional de disponer una capa de células sobre las capas electrohiladas.

Visto lo anterior, me permito señalar que las modificaciones realizadas no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud y se realizan con el ánimo de superar las objeciones de claridad y patentabilidad planteadas por el examinador en su concepto técnico.

2. Sobre la no aceptación de modificaciones al pliego reivindicatorio presentadas el 24 de abril de 2023

El examinador señala que el capítulo reivindicatorio presentado el 24 de abril de 2023 no puede ser aceptado porque, en su opinión, contiene materia que ampliaría el alcance de la solicitud original. En particular, el examinador señala que:

"...no existe ningún aparte en donde se mencione explícitamente dicha afirmación en particular lo relacionado con que el factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) se encuentra encapsulado en alginato de calcio (2% p/v)"

Así, el examinador indica que la descripción no proporciona soporte para la materia del capítulo presentado el 25 de abril de 2024, pues, en la descripción, es la solución de partida de alginato de sodio necesaria para la encapsulación de TGF- $\beta 3$ la que presenta una concentración de 2% p/v, por lo que no se encuentra sustento para la cuantificación del producto final que se precipita. Esta conclusión fue explicada en detalle en la reunión virtual sostenida el pasado 11 de octubre.

Al respecto, el solicitante desea señalar que, siguiendo las amables sugerencias del examinador, se presenta un nuevo capítulo reivindicatorio que es muy similar a aquel presentado el 25 de abril, salvo que no hace referencia alguna a la concentración final del alginato de calcio de las cápsulas.

De esta forma, dado que el examinador únicamente presentó objeciones con respecto a la concentración de alginato de calcio en las cápsulas que ya no se menciona, y el capítulo adjunto incluye características de la invención que están plenamente respaldadas por la descripción de la presente solicitud, solicito que se acepte el capítulo presentado junto a este memorial y se continúe el trámite de la solicitud teniéndolo en cuenta.

3. Reivindicaciones relativas a un uso

El examinador señala que la antigua reivindicación 9 no sería patentable porque hace referencia al uso de un andamio reclamado, es decir, a materia no patentable de acuerdo con lo establecido en el Art. 14 de la Decisión 486.

En relación con lo anterior, me permito resaltar que la reivindicación referida a uso ha sido eliminada del capítulo reivindicatorio modificado. Por lo tanto, la objeción al respecto ha sido superada.

4. Sobre la claridad y la concisión de las Reivindicaciones

El solicitante desea manifestar que mediante el nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones, ya que las nuevas reivindicaciones definen la invención de manera clara y concisa, cuentan con pleno soporte en la descripción de la

solicitud en estudio, y además siguen las recomendaciones realizadas por el examinador en su concepto técnico. En particular, frente a cada objeción, me permito señalar lo siguiente:

- 4.1** El examinador señala que la reivindicación 1 no sería clara, y no tendría sustento en la descripción, toda vez que no define las características técnicas esenciales del andamio reclamado, por lo que abarcaría múltiples opciones no exploradas en la solicitud.

En vista de esta observación, el solicitante ha decidido modificar la reivindicación 1 para definir de manera más concreta las características del producto reclamado. De esta manera, la nueva reivindicación 1 establece que el constructo reclamado comprende una capa inferior, una capa intermedia y una capa superior, en donde las capas superior e inferior están conformadas por andamios electrohilados de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y colágeno (COL); y la capa intermedia está conformada por factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) encapsulado en alginato de calcio. De otro lado, con el fin de definir de manera más concreta la invención, el solicitante ha decidido incluir la proporción de poli(ϵ -caprolactona): colágeno.

De otro lado, el solicitante desea resaltar que no se ha incluido la concentración de la solución polimérica empleada para la obtención del producto reclamado, toda vez que la reivindicación 1 se relaciona con un producto y no con un método, y, por lo tanto, la concentración de la solución polimérica empleada en el proceso de electrohilado de la capa, no es una característica técnica del constructo obtenido. No obstante, lo anterior, el solicitante ha decidido incluir dicha característica en la reivindicación independiente de procedimiento (nueva reivindicación 7).

Ahora bien, en relación con las sugerencias del examinador de mencionar que la estructura de la invención incluye una capa exterior de células mesenquimales estromales, me permito manifestar mi desacuerdo.

En este sentido, se hace notar que la invención reclamada se relaciona con la obtención de un producto basado en biomateriales capaz de imitar la matriz extracelular de la piel, creando un microambiente propicio para la adhesión y proliferación de células. Estos productos se basan en la inmovilización del factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) en una estructura tipo sánduche formada por una capa inferior y una exterior de andamios electrohilados de una mezcla de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y colágeno

(COL), respectivamente. Esta estructura proporciona un medio adecuado para la adhesión y proliferación de células.

Sin embargo, tal como lo comprendería la persona normalmente versada en la materia, la presencia de una capa exterior de un tipo específico de células no es esencial para resolver el problema técnico planteado, y, por lo tanto, no es una característica esencial del producto de la invención. En efecto, la solución al problema técnico planteado en la presente invención (proporcionar una terapia efectiva para la cicatrización de las heridas) no se basa en la presencia de dichas células, sino en la inmovilización del TGF- β 3, tal como lo demuestran los datos experimentales presentados en la descripción.

Este constructo se fabricó con la finalidad de aportar alternativas a los tratamientos existentes al tratamiento de lesiones de piel, exaltando la posibilidad de incorporar polímeros, proteínas, y factores de crecimiento en un mismo sistema. Con el fin de mantener la bioactividad del TGF- β 3 y permitir su liberación progresiva. Además, se encontró que el constructo favorece la proliferación y modula la producción de factores de crecimiento por células estromales mesenquimales de gelatina de wharton (CEM-GW) *in vitro*. Estos resultados se confirmaron en un ambiente relevante, donde se trataron heridas cutáneas en modelos porcinos con estos constructos (con y sin células), encontrando en ambos casos un proceso de reparación adecuado, dado por la presencia de tejido de granulación con fibras de colágeno gruesas y largas, vasos sanguíneos, papilas dérmicas, baja prevalencia de células inflamatorias y baja contracción a los 30 días en comparación con el control sin tratamiento (Datos mostrados más adelante). Proceso propio de una buena organización del tejido nuevo atribuido a la presencia de TGF- β 3, factor de crecimiento que mejora cicatrización al modular la migración de los fibroblastos, conllevando a un proceso de reparación más lento, evitando la formación de cicatrices y su retracción. También se destaca la ausencia de efectos locales adversos en los tejidos (edema y eritema) durante las observaciones de los modelos porcinos. Estos resultados indican que el sistema de liberación (con y sin células) tiene potencial para ser utilizado en el tratamiento de heridas y para lograr el cierre de heridas sin cicatrices.

Por lo tanto, el solicitante desea resaltar que la nueva reivindicación 1 establece las características técnicas esenciales que permiten definir el producto para la cicatrización de heridas, y que lo diferencian de los productos conocidos en el estado de la técnica, como se verá más adelante.

Por lo tanto, respetuosamente solicito retirar la objeción al respecto.

- 4.2** De otro lado, el examinador indica que la reivindicación 1 no sería clara porque define el producto reclamado en términos generales e imprecisos, lo que, en su opinión, da lugar a un sinnúmero de posibilidades que no han sido contemplados ni explorados en la solicitud y resultan especulativos frente a la capacidad de generar un andamio capaz de imitar la matriz extracelular de la piel.

Al respecto me permito aclarar que la nueva reivindicación 1 ha sido drásticamente limitada, de modo que ahora señala de manera precisa las características estructurales del producto reclamado, esto es, la estructura y composición de las 3 capas que componen el constructo de la invención. Por lo tanto, la objeción ha sido superada.

- 4.3** De otro lado, el examinador indica que la reivindicación 1 no sería clara porque refiere el término "*al menos*".

Al respecto me permito aclarar que la nueva reivindicación 1 no incluye el término objetado. Por lo tanto, la objeción ha sido superada.

- 4.4** El examinador señala que la reivindicación 10 no sería clara porque no define las características técnicas esenciales completas del método de la invención, necesarias para que la persona normalmente versada en la materia pueda reproducirla, tales como la composición de la solución polimérica, el disolvente empleado o las condiciones específicas para realizar el electrohilado.

Al respecto me permito resaltar las modificaciones realizadas en la antigua reivindicación 10 (nueva reivindicación 7), en donde se establece que la solución de poli(ϵ -caprolactona) y colágeno tiene una proporción de masa (poli(ϵ -caprolactona): colágeno 19:1 o 9:1) y una concentración de 9-12%, y se incluye la etapa de b) preparar cápsulas de alginato de calcio cargadas con TGF- β 3 por extrusión, dejando caer gotas de la solución de alginato de sodio (2% p/v) / TGF- β 3 dentro de la solución de cloruro de calcio (3% p/v), de acuerdo con lo enseñado en la etapa b del ejemplo 13 (ver página 47).

Ahora bien, en relación con las sugerencias del examinador de incluir el solvente y las condiciones de electrohilado específicamente mencionadas en los ejemplos de la

solicitud, me permito manifestar mi desacuerdo, y llamar la atención del examinador a las disposiciones del numeral 4.3.1 de la Guía Para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad emitida por la Superintendencia de Industria y Comercio, que señala:

"4.3.1 Contenido de las reivindicaciones

Las reivindicaciones deben contener todas las características técnicas esenciales de la invención

Las características técnicas esenciales son:

- las que definen la invención,*
- las que la hacen (o deberían hacerla) diferente del estado de la técnica, y*
- las que constituyen la solución al problema técnico que intenta resolver la invención.*

4.3.1.1 Características técnicas estructurales

Las características que definen la invención son las características estructurales. Por ejemplo, los elementos que conforman una máquina, la forma de una pieza, la serie de pasos de un proceso, la estructura química de un compuesto, las secuencias de polinucleótidos o aminoácidos, los microorganismos depositados, etc.

Si una reivindicación independiente contiene todas las características técnicas esenciales de la invención, no se deberá requerir que mencione también otras características estructurales." (énfasis añadido)

Ahora bien, en relación con la descripción, la mencionada guía señala en su página 122, que:

"Las reivindicaciones son generalizaciones de los ejemplos, por lo cual la reivindicación no será tan amplia que vaya más allá de la invención, pero tampoco tan limitada como para que la invención divulgada no quede protegida"

En este sentido, y tal como se mencionó previamente, la presente invención aborda la obtención de un producto innovador capaz de imitar la matriz extracelular de la piel, generando un microambiente propicio para la adhesión y proliferación de células. Este

producto se elabora mediante un proceso que se caracteriza por la inmovilización de cápsulas de alginato de calcio cargadas con TGF- β 3 en capas electrohiladas de poli(ϵ -caprolactona) y colágeno. Las características esenciales de dicho método se definen en la nueva reivindicación 7, ofreciendo así una guía clara para que la persona normalmente versada en la materia pueda reproducir la invención y, además, distinguiendo claramente la materia reclamada del estado de la técnica, como se explicará a continuación.

Es importante destacar que la técnica de electrohilado utilizada en esta invención ya ha sido ampliamente descrita en el estado de la técnica, como se demuestra en los documentos previos citados por el examinador y en la página 13 de la descripción. En este sentido, la invención no pretende introducir una nueva técnica de electrohilado, sino emplear una técnica establecida de manera estratégica para desarrollar un producto novedoso y con valor inventivo.

Así, la persona normalmente versada en la materia comprenderá que el proceso de electrohilado implica aplicar un campo eléctrico a la solución polimérica hasta que el solvente se evapora, lo cual requiere ajustar las condiciones en función de las características de la solución inicial, por lo que no es posible definir una única alternativa para todos los casos. La persona normalmente versada deberá seleccionar las condiciones apropiadas en cada instancia para garantizar la correcta preparación de las capas electrohiladas y la reproducibilidad de la invención.

Además, contrario a lo señalado por el examinador, aun sin definir aspectos rutinarios del método, como las condiciones de electrohilado y el disolvente empleado, la reivindicación es clara. La persona normalmente versada en la materia podría fácilmente comprender el alcance de la materia reclamada, toda vez que tanto los solventes que pueden ser empleados en la preparación de una solución de policaprolactona y colágeno como las condiciones para los procesos de electrohilado han sido descritas ampliamente en el estado de la técnica.

Por último, pero no menos importante, me permito resaltar que la objeción del señor examinador va en contra de los objetivos del sistema de patentes. Acceder a especificar todos los aspectos señalados por el examinador en la reivindicación independiente (por ejemplo, limitando el disolvente o las condiciones de electrohilado), daría como resultado una reivindicación de patente excesivamente limitada de reducida eficacia, ya que cubriría solo un conjunto estrecho de características y dejaría sin protección muchos aspectos del concepto inventivo desarrollado por el solicitante. En consecuencia, seguir

las sugerencias del examinador facilitaría que competidores introdujeran productos y métodos similares sin infringir la patente, es decir, dejaría la invención vulnerable a imitaciones o variaciones mínimas y rutinarias por parte de terceros.

Esto no solo socava la ventaja competitiva del titular de la eventual patente, sino que desincentiva la investigación y el desarrollo continuos. Así que, desde un punto de vista estratégico y de protección efectiva, una reivindicación debe ser lo suficientemente amplia como para abarcar las posibles variaciones, en línea con el propósito del sistema de patentes.

Por lo tanto, amablemente solicito que la objeción al respecto se dé por superada.

4.5 Finalmente, el examinador indica que la reivindicación 10 no sería clara porque incluye el término "*opcionalmente*".

Al respecto me permito aclarar que la nueva reivindicación 7 (basada en la antigua reivindicación 10) no incluye el término objetado, y las características opcionales han sido incluidas en una nueva reivindicación dependiente. Por lo tanto, la objeción ha sido superada.

En consecuencia, me permito indicar que el presente capítulo reivindicatorio, que incluye once (10) reivindicaciones, se ajusta a las disposiciones del artículo 30 de la Decisión 486/00.

4 Descripción

El examinador indica que la descripción no divulga la materia reclamada de manera suficiente para que una persona normalmente versada en la materia pueda ejecutarla o reproducirla, y señala que la descripción únicamente proporciona soporte para un grupo específico de andamios, producidos por una metodología específica. Por lo tanto, el examinador considera que la descripción de la solicitud no cumpliría con las disposiciones del Art. 28 de la Decisión Andina 486.

Al respecto, me permito manifestar mi desacuerdo con la opinión del examinador, pues la descripción de la solicitud sí describe la mejor manera para llevar a cabo de la invención y las reivindicaciones presentadas junto a este escrito corresponden a una adecuada generalización de los ejemplos presentados en la solicitud. En este sentido,

es pertinente tener en cuenta que el capítulo reivindicatorio fue drásticamente limitado, y ahora se refiere a constructos tipo sánduche en los que dos capas de andamios de poli(ϵ -caprolactona)-colágeno electrohilados inmovilizan cápsulas de alginato de calcio que contienen TGF- β 3 y métodos para la obtención de dichos constructos. Además, las nuevas reivindicaciones independientes señalan la proporción de poli(ϵ -caprolactona)-colágeno.

Asimismo, me permito referirme a lo mencionado en el Manual Andino de Patentes, con respecto a la suficiencia de la descripción, en donde se menciona:

"La invención puede considerarse suficientemente descrita si se aporta uno o más ejemplos, modos de realización alternativos o variaciones que habilitan a la persona versada en la materia técnica para que, aplicando sus conocimientos técnicos generales, pueda poner en práctica la invención en toda el área reivindicada y no solo algunas modalidades particulares reivindicadas, sin que para ello requiera desplegar un esfuerzo inventivo. Sin embargo, la presentación de ejemplos relativos a todas las especies particulares de la invención o a cada alternativa reivindicada no será necesaria para encontrar una suficiencia de la descripción, siempre y cuando dichas especies se mencionen en esta." (Numeral 3.1.2, página 42, énfasis añadido).

Asimismo, en el Numeral 4.4.e de la ya mencionada guía colombiana de examen, se señala que:

"En referencia a la mejor manera de realizar la invención se considerará que los ejemplos son casos particulares que sirven para ilustrar la mejor manera conocida por el solicitante para ejecutar o llevar a la práctica la invención. Dado que la solicitud está dirigida a la persona del oficio normalmente versada en el ámbito tecnológico, no es necesario, ni deseable, incluir características, ni detalles que sean bien conocidos, sino que deberá divulgar las características esenciales para poner en práctica la invención, sin que ello requiera de un esfuerzo inventivo que sea superior a las habilidades ordinarias de dicha persona. Este requisito se entenderá superado con la divulgación de una razonable generalización de los ejemplos más representativos de la invención." (Pág. 121)

Visto lo anterior, es claro que el espíritu de la normativa vigente no es el de requerir que las reivindicaciones estén limitadas únicamente a las condiciones o características

de los ejemplos presentados. Por el contrario, las directrices de examen claramente establecen que los ejemplos deben servir como una guía para que la persona normalmente versada en el campo técnico esté en capacidad de reproducir la invención.

De esta manera, aun cuando los ejemplos de la descripción a los que hace referencia el examinador en su objeción se relacionan con una selección de elementos y condiciones específicas, esto no implica que la invención únicamente pueda ser llevada a cabo mediante la reproducción de dichas condiciones.

Además, como se mencionó previamente, el requerimiento del examinador sobre restringir el alcance de la materia reclamada únicamente a las condiciones particulares de los ejemplos no solo va en contra de los lineamientos locales y comunitarios, sino que va en contra de los mismos principios del sistema de patentes. Aceptar las sugerencias del examinador resultaría en una limitación indebida del concepto inventivo desarrollado por el inventor, pues permitiría que terceros interesados pudieran hacer uso de la invención desarrollada por mi mandante por medio de modificaciones sencillas, por ejemplo, mediante la selección de solventes o condiciones de electrohilado distintas a las establecidas en las reivindicaciones independientes.

Por lo tanto, dado que la descripción sí presenta la información necesaria para que la persona normalmente versada en la materia pueda reproducir la invención, y los ejemplos de la solicitud permiten establecer la generalización de las reivindicaciones, es claro que la descripción sí cumple con las disposiciones del Art. 28 de la decisión 486.

5 Nivel Inventivo

El examinador establece en su concepto técnico que:

- las antiguas reivindicaciones 1 a 8, no podrían considerarse inventivas si se tiene en cuenta la combinación de enseñanzas descritas en los documentos **D1** (Jing H. *et al.*, Restoring tracheal defects in a rabbit model with tissue engineered patches based on TGF- β 3-encapsulating electrospun poly(L-lactic acid-co- ϵ -caprolactone)/collagen scaffolds. 2018. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*) y **D3** (Sousa I. *et al.*, Collagen surface modified poly(ϵ -caprolactone) scaffolds with improved hydrophilicity and cell adhesion properties, *Materials Letters*).

- las antiguas reivindicaciones 10 a 13 no podrían considerarse inventivas si se tiene en cuenta la combinación de enseñanzas descritas en los documentos **D1** (Jing H. *et al.*, Restoring tracheal defects in a rabbit model with tissue engineered patches based on TGF- β 3-encapsulating electrospun poly(L-lactic acid-co- ϵ -caprolactone)/collagen scaffolds. 2018. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*) y **D4** (Bolaina E. A., Estudio de la relación estructura propiedades en andamios electrohilados hechos a base de quitosano y policaprolactona para su posible uso en ingeniería de tejidos de nervio periférico, *Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C.*).

Con respecto a lo anterior, me permito resaltar las disposiciones del artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, que establecen que “se considerará que la invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica”.

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo **NO** es una comparación de los objetos de las anterioridades y la solicitud en estudio. Por el contrario, el análisis de nivel inventivo **debe demostrar** la obviedad de la invención y establecer cómo ésta no contiene un salto cualitativo, que demuestre su altura inventiva, teniendo en cuenta que se hace **necesario demostrar** que la invención analizada carece de nivel inventivo y hubiese sido obvia para una persona versada en la materia.

Ahora bien, dichas condiciones no se cumplen para el caso en cuestión, pues, tal como se mostrará más adelante, las características técnicas mencionadas en las nuevas reivindicaciones no pueden derivarse de manera obvia o evidente a partir de las enseñanzas del estado de la técnica representadas en los documentos D1, D3, y D4, ya sean solos o en combinación, por lo tanto, la materia reclamada es inventiva a la luz del arte previo.

Sobre el problema técnico planteado

Tal como se explicó en la reunión del pasado 11 de octubre, existe una problemática latente relacionada con la necesidad de proporcionar metodologías que permitan recuperar el tejido en lesiones relacionadas con úlceras crónicas, quemaduras o úlceras por presión, afecciones que afectan a millones de personas en los países en vías de desarrollo.

La reparación de este tipo de lesiones es un proceso complejo que requiere de la participación coordinada de una serie de eventos que incluyen el reclutamiento de células adyacentes y la participación de factores de crecimiento y citoquinas. Sin el tratamiento adecuado estas lesiones pueden dar lugar a heridas crónicas que no cicatrizan o en cicatrices hipertróficas, lo que constituye uno de los mayores problemas de salud pública.

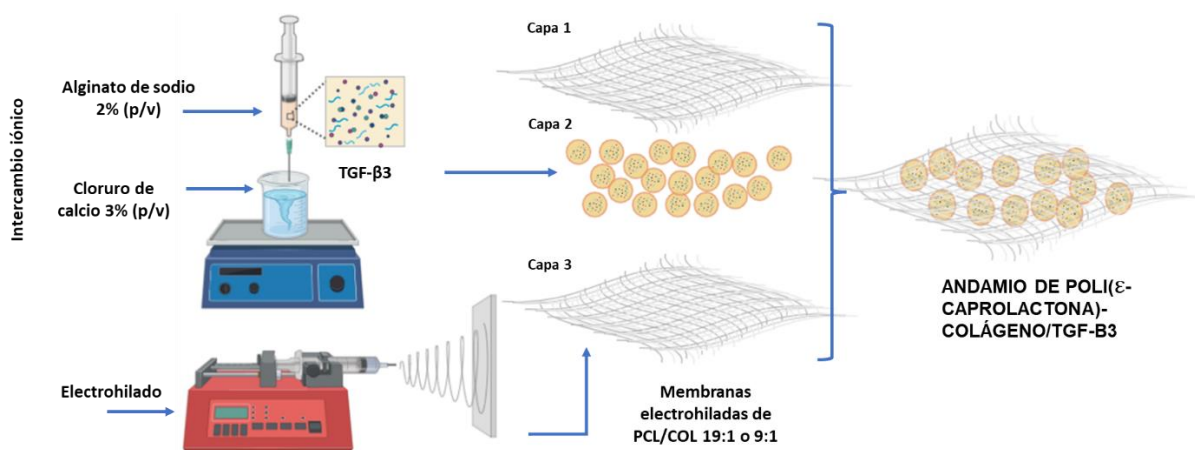
Aunque actualmente existen terapias convencionales para el tratamiento de heridas en piel su éxito es limitado y normalmente conducen a la formación de cicatrices con posibles alteraciones estéticas y funcionales. Por lo anterior con la presente invención se pretende generar una alternativa de fácil manipulación e implantación con un alto potencial en la reparación del tejido y apariencia final de la cicatriz.

Características de la materia reclamada

En primer lugar, el solicitante desea resaltar que la presente solicitud se refiere a un constructo tipo sánduche de poli(ϵ -caprolactona)-colágeno/TGF- β 3, que comprende una capa inferior, una capa intermedia y una capa superior,

- en donde las capas superior e inferior están conformadas por andamios electrohilados de poli- ϵ -caprolactona (PCL) y colágeno (COL) en una proporción entre 9:1 y 19:1; y
- la capa intermedia está conformada por factor de crecimiento transformante β 3 (TGF- β 3) encapsulado en alginato de calcio.

Además, la solicitud se refiere a métodos para obtener dichos constructos mediante el electrohilado y la encapsulación, como se muestra en la figura a continuación:



Tal como se demuestra en el ejemplo 15 de la descripción de la solicitud y en la Figura 5, los constructos de la presente invención conllevan a una proliferación celular aumentada.

La materia reclamada es inventiva a la luz del arte previo citado

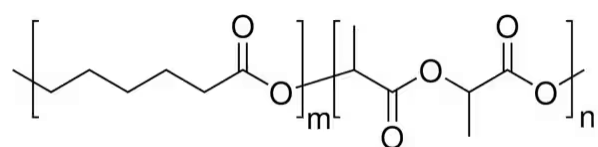
Al realizar un análisis del contenido de D1, es posible notar que este describe la elaboración de un andamio a partir de PLCL (poli(ácido L-láctico -co- ϵ - caprolactona)) con una proporción molar de 75% L-lactida (peso molecular 0,8–1,0 $\times$ 10⁵Da) y colágeno tipo I.

En el proceso divulgado en D1, diferentes proporciones de masa de PLCL y colágeno (PLCL: colágeno 75:25, 50:50 y 25:75, respectivamente) se disolvieron en 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol a una concentración de 12 %. En paralelo, se reconstituyó TGF- β 3 a 20 μ g/ml en ácido clorhídrico 4 mM estéril que contenía 1 mg/ml de BSA. Luego, las soluciones de PLCL-colágeno y TGF- β 3 se incorporaron en una aguja coaxial usando la solución de PLCL-colágeno como solución externa y la solución de TGF- β 3 como solución interna, y se llevó a cabo el electrohilado. Finalmente, se realizó el proceso de reticulación con vapor de glutaraldehído para evitar la disolución del componente de colágeno. Los andamios se conservaron a -20 °C para mantener la bioactividad de TGF- β 3.

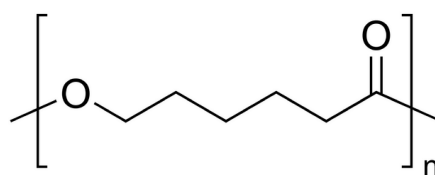
De lo anterior, es posible observar una serie de diferencias con respecto al constructo definido en la nueva reivindicación 1 y su método de obtención de acuerdo con la nueva reivindicación 10:

a. D1 se refiere a un tipo de polímeros distinto y presenta una proporción distinta de los mismos

D1 emplea poli(ácido L-láctico-co- ϵ - caprolactona) (PLCL) un polímero que es estructuralmente distinto al de la presente invención (poli- ϵ -caprolactona) (PCL):



poli(ácido L-láctico -co- ϵ - caprolactona)



D1poli-ε-caprolactona
Presente invención

Asimismo, la proporción de polímeros es distinta a la empleada en el método de la presente invención, mientras en la presente invención la proporción de PCL: Colágeno está entre 19:1 (95:5) y 9:1 (90:10), en la solución de D1 la proporción de PLCL: colágeno es de 75:25, 50:50 o 25:75, respectivamente.

De esta manera, el contenido de colágeno en los andamios de la presente invención es drásticamente menor al reportado en D1. Tal como se explica en la descripción de la solicitud, las membranas obtenidas con concentraciones de colágeno menores al 1%, no solo permiten el crecimiento celular y la disminución del diámetro de fibra sino la obtención de un producto menos costoso que exhibe propiedades biológicas mejoradas (ver pág. 14 de la descripción).

La proporción de poli-ε-caprolactona:colágeno empleada en la invención se determinó luego de hacer un estandarización de concentraciones para encontrar la menor cantidad necesaria de colágeno en el andamio que permitiera la adhesión y proliferación celular, esto con el fin de optimizar el posible escalamiento comercial del producto debido a que el colágeno es una materia prima de alto costo.

Además, se hace notar que D1 hace uso de un copolímero de PCL en donde el 75% corresponde a L-lactida (peso molecular $0,8-1,0 \times 10^5$ Da) mientras que en la invención se usa policaprolactona de alto peso molecular (80kDa).

Tal como se describe en la solicitud y lo comprendería la persona normalmente versada en la materia, estas diferencias en la composición del andamio pueden influir directamente en la capacidad de las células cultivadas sobre los andamios para secretar factores. La secreción de factores por las células estromales mesenquimales de gelatina de wharton (CEM-GW) puede variar sustancialmente dependiendo de la composición del material con el que se fabrica el andamio y la adición de proteínas o péptidos conjugados. Estudios previos afirman que los biomateriales usados para elaborar andamios pueden modificar el comportamiento de las células estromales mesenquimales en cultivo, debido a los cambios en el microambiente que le proporciona el andamio (Lane, S.W. D.A. Williams *et al.*, Modulating the stem cell niche for tissue regeneration. *Nature biotechnology*, 2014. 32(8), 795), (Anderson, H., *et al.* Mesenchymal stem cell fate: applying biomaterials for control of stem cell behavior. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 2016. 4, 38). Ciertos materiales se usan

en la estimulación de estas células para controlar la diferenciación y/o la producción de factores para un linaje celular particular (Qazi, T., *et al.* Biomaterials that promote cell-cell interactions enhance the paracrine function of MSCs. *Biomaterials*, (2017) 140, 103-114).

b. D1 no menciona ni sugiere la inmovilización de cápsulas de alginato de calcio cargadas con factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$).

Por otra parte, es pertinente señalar que una segunda diferencia significativa entre la presente invención y el documento D1 es la forma en la encapsulación del TGF- $\beta 3$.

En la presente invención se utiliza un proceso de encapsulación en alginato de calcio, que se lleva a cabo en condiciones suaves que buscan garantizar la conservación de la bioactividad del TGF- $\beta 3$. En contraste, en D1 el TGF- $\beta 3$ se incluye en el proceso de electrohilado, en donde es sometido a un ambiente ácido y a un campo eléctrico, condiciones que pueden generar reordenamientos dentro de la proteína, toda vez que esta es un factor de crecimiento termolábil, inestable frente a cambios de pH y fotosensible.

Esta diferencia en la técnica de encapsulación conlleva a cambios en la estructura del producto obtenido. A diferencia de D1, en el constructo de la presente invención el TGF- $\beta 3$ no se encuentra dentro de las fibras, sino que se encuentra en cápsulas de alginato de calcio que están inmovilizadas entre dos capas electrohiladas de poli- ϵ -caprolactona:colágeno.

Por lo tanto, D1 presenta diferencias drásticas con la presente invención, que a su vez implican diferencias funcionales en el material reclamado. Además, D1 no proporciona sugerencias o indicios que pudieran guiar a la persona normalmente versada en la materia hacia la presente invención, ni mucho menos al efecto técnico de los constructos que ahora se reclaman.

c. El efecto técnico de la materia reclamada: Evaluación *in vivo* del andamio de poli(ϵ -caprolactona)-colágeno/TGF- $\beta 3$ con y sin células para la reparación de heridas

Para la evaluación del efecto técnico de los constructos de la invención se procedió con elaboración del andamio POLI(ϵ -CAPROLACTONA)-COLÁGENO/TGF- $\beta 3$ (PCAT), empleando la técnica de electrohilado descrita en la solicitud, en donde la poli(ϵ -

caprolactona) y el colágeno (PCL/COL) en una proporción de entre 19:1 y 9:1. Luego esta solución se cargó en una jeringa y se sometió a altos voltajes para obtener una membrana polimérica, sobre una primera capa electrohilada se depositaron cápsulas de alginato de calcio cargadas de TGF- β 3 (estas cápsulas se obtuvieron por intercambio iónico entre una solución de alginato de calcio al 2% mezclada con TGF- β 3 y una solución de cloruro de calcio al 3%), sobre las cápsulas se depositó una nueva membrana de PCL/COL garantizando la inmovilización de las cápsulas.

Además, para la modalidad que incluye células mesenquimales, se sembraron 1×10^6 células estromales mesenquimales de gelatina de Wharton (CEM-GW) sobre un andamio de 9 cm², se cultivaron por 24 horas a 37°C y 5% de CO₂. Luego de 24 horas de incubación se colocaron en los modelos porcinos.

Para la evaluación del andamio PCAT (Cápsulas sobre el andamio) y PCAT con células (PCAT+CEM-GW) en el proceso de reparación de heridas, se utilizaron seis hembras de cerdo Yorkshire de aproximadamente 10 semanas de edad y 40-45 kg de peso. Este estudio se realizó contando con la aprobación del protocolo 094 por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (IACUC) de ANESTCOL S.A.

Para esto, cada modelo porcino se colocó en decúbito prono sobre una superficie metálica aséptica y se anestesió con isoflurano inhalado al 3% durante 10 minutos. Se crearon quirúrgicamente heridas de 9 cm² (3x3 cm) utilizando un marco de acetato estéril para delimitar la herida y un bisturí. Se crearon heridas de espesor completo (retirando dermis, epidermis e hipodermis, hasta el tejido celular subcutáneo). En cada biomodelo se cubrió una herida con PCAT+CEM-GW y una con PCAT, los andamios se suturaron por el borde de la herida y se colocó un punto de sutura en el centro para favorecer su integración.

Adicionalmente, se creó un control negativo por animal, correspondiente a una lesión no tratada. Cada herida se cubrió con una lámina de silicona transparente y se vendó la totalidad del lomo del animal.

Después de la cirugía, los modelos porcinos se alojaron individualmente y se mantuvieron a una humedad relativa del 50-70% y a una temperatura de 20-25°C bajo vigilancia constante. Se administró dipirone (2 ml/25 kg) para el tratamiento del dolor, cefalexina (15 mg/kg) y flunixinina (20 mg/kg) para la prevención de la infección de la herida cada 12 horas durante dos semanas. Los modelos porcinos se sacrificaron después de 30 días de tratamiento con PCAT+CEM-GW y PCAT, se tomaron biopsias de

tejido de todas las condiciones utilizando un suaje de 8 mm de diámetro y se almacenaron en paraformaldehído PFA al 4%. Estos tejidos se procesaron en parafina para obtener secciones de 4 mm, se tiñeron con hematoxilina & eosina (H&E), tricrómico de Masson y ácido periódico de Schiff (PAS). Se tomaron imágenes con aumentos de 10X y 20X.

Resultados

8 días después de la cirugía se retiraron los vendajes y se realizó la evaluación observacional con registro fotográfico de las heridas tratadas con PCAT+CEM-GW (Figura 1a), PCAT (Figura 1c), Control negativo (Figura 1e). Después de 30 días, al realizar la evaluación macroscópica de las heridas se observó que las heridas tratadas con PCAT/CEM-GW y PCAT no cerraron completamente, pero no se evidencia signos de contracción en la herida, (Figura 1 b, d, respectivamente) mientras que en el control negativo se observó que la herida no conservó sus dimensiones iniciales, por una acción contráctil importante que hizo que los bordes de la herida se aproximaran, evidenciando un cierre por segunda intención (Figura 1f).

La calidad del nuevo tejido se evaluó 30 días después del tratamiento con PCAT+CEM-GW y PCAT mediante análisis histológico, identificando la presencia/ausencia de crestas epidérmicas (ER), papilas dérmicas (DP), células inflamatorias (IC), vasos sanguíneos (BV), membrana basal (BM) y fibras de colágeno, mediante tinción con H&E (Figura 1), tricrómico de Masson y PAS (Figura 2).

Para PCAT/CEM-GW (Figura 1h) se identificaron proyecciones papilares de la dermis hacia la epidermis identificando tanto crestas epidérmicas (ER) como papilas dérmicas (DP), el tejido conectivo de la dermis se ubicó paralelo a la superficie tisular y los nuevos vasos sanguíneos (BV) se encontraban perpendiculares al tejido conectivo, formando tejido de granulación relacionado con un proceso de reparación activo. En cuanto a PCAT (Figura 1i), se identificó tejido de granulación, presencia de células estromales mesenquimales de tejido conectivo, fibroblastos (células alargadas) y angioblastos, que forman capilares que contienen glóbulos rojos (BV), se observó una alta formación de vasos sanguíneos (neovascularización), indicando una buena organización del tejido recién formado. Sin embargo, se observó una superficie necrótica en la parte superior de la histología (células muertas que formaban una costra), presencia de células inflamatorias (IC) y no se observaron proyecciones papilares, ya que en el momento de toma de la biopsia no se había completado el proceso de reparación de la herida.

Indicando que las CEM-GW intervinieron en la reducción del tiempo de reparación en comparación con los resultados obtenidos con PCAT.

En cuanto al control negativo (Figura 1j), a pesar de que se observa un cierre completo de la lesión, se observa que la epidermis está conformada por colágeno inmaduro heterogéneo (diferentes tonos de rosa claro), se observa un proceso inflamatorio elevado (IC) y ausencia de vasos sanguíneos, indicando la formación de tejido cicatricial, tejido fibroso de menor calidad en comparación con los constructos evaluados

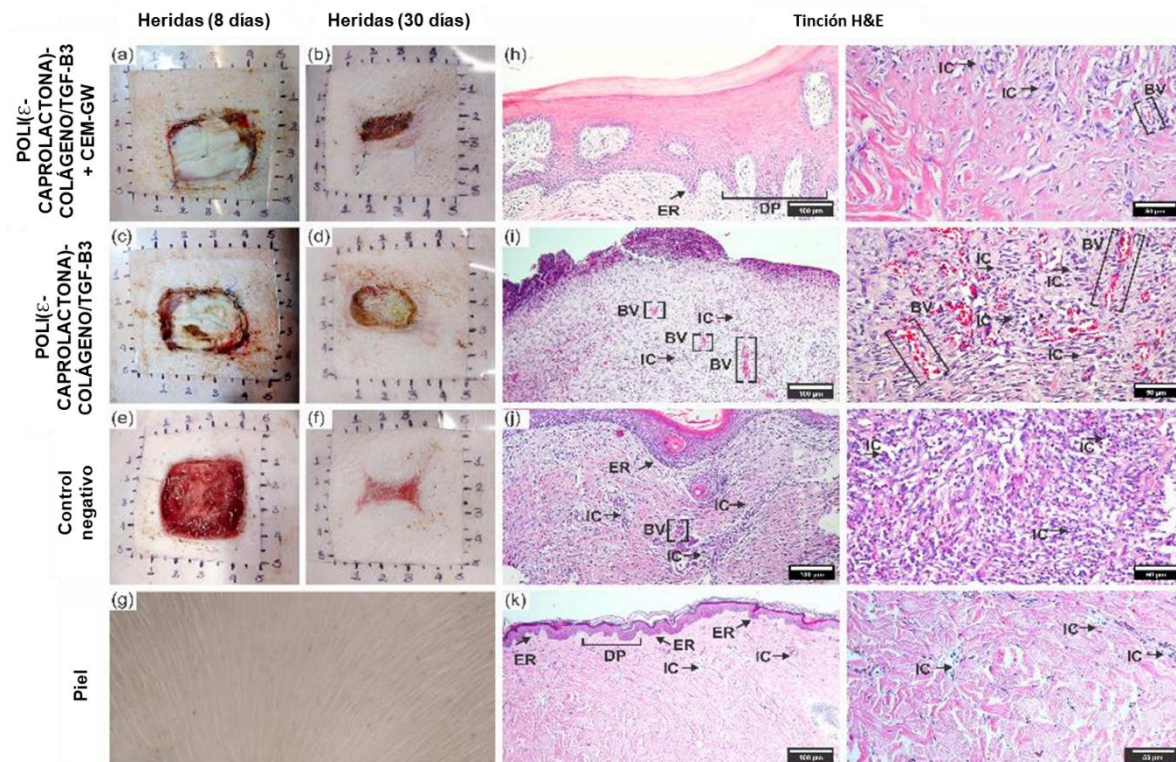


Figura 1. Evaluación de la reparación cutánea en biomodelos porcinos. Imágenes representativas de vistas macroscópicas de las heridas en los biomodelos a los 8 y 30 días (a-b) PCAT/ CEM-GW; (c-d) PCAT; (e-f) control negativo; (g) Apariencia de la piel del modelo porcino. Tinción con hematoxilina y eosina a aumentos de 10X y 20X de las secciones histológicas de heridas reparadas al día 30 de (h) PCAT/ CEM-GW; (i) constructo PCAT; y (j) control negativo; (k) piel sana; (barra de escala 10X 200 μ m). (ER) crestas epidérmicas, (DP) papilas dérmicas, (IC) células inflamatorias, (BV) formación de vasos sanguíneos.

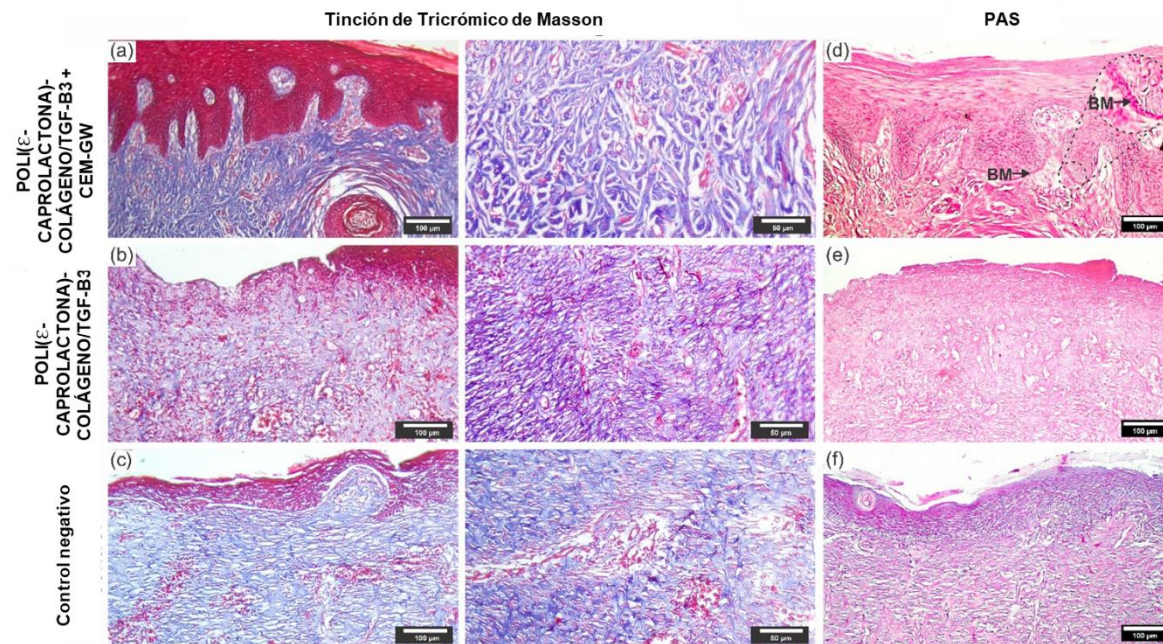


Figura 2. Evaluación histológica de la reparación cutánea en el biomodelo porcino. Tinción tricrómico de Masson a aumento de 10X y 20X de las secciones histológicas de heridas reparadas al día 30 de (a) PCAT/CEM-GW; (b) PCAT; y (c) control negativo; y tinción de ácido periódico-Schiff (PAS) (d) PCAT/CEM-GW; (e) PCAT; (f) control negativo; (barras de escala 10X y 20X). (BM) la membrana basal y las fibras de colágeno (las fibras de colágeno teñidas de azul/morado para PCAT/CEM-GW fueron fibras gruesas, largas y maduras; en PCAT las fibras fueron cortas; y en el control negativo las fibras fueron cortas e inmaduras)

Para PCAT/CEM-GW (Figura 2a), se observaron fibras de colágeno eosinofílicas intensas, gruesas, abundantes, organizadas y paralelas a la línea superficial del tejido, y también se observó la formación de vasos sanguíneos con células sanguíneas en su interior. Además, este tratamiento fue el único que mostró una dermis definida con una membrana basal bien diferenciada (Figura 2d). En PCAT (Figura 2b), se observaron proteínas fibrilares eosinofílicas dispuestas en haces cortos, formación de vasos sanguíneos, con células sanguíneas en su interior y ocasionales células inflamatorias dispersas por toda la lesión. En el control negativo se observaron haces de colágeno cortos y largos paralelos a la línea superficial del tejido y vasos sanguíneos con células sanguíneas en su interior (Figura 2c).

Aunque PCAT/CEM-GW y PCAT no cerraron completamente a los 30 días, el análisis histológico mostró tejido conectivo de la dermis paralelo a la superficie del tejido y la presencia de vasos sanguíneos perpendiculares al tejido conectivo formando tejido de granulación, característico de un proceso de cicatrización adecuado, indicando que la incorporación de TGF- β 3 a los andamios mejora su potencial regenerativo modulando las respuestas celulares. Además, se observó que las CEM-GW aceleró el proceso de

cicatrización, ya que el tejido reparado del que se tomó la biopsia estaba completamente cubierto de epidermis madura, en la que se identificaron crestas epidérmicas y membranas basales. Cabe destacar que no se observaron signos de efectos adversos locales en el tejido (edema y eritema) durante el seguimiento de los modelos porcinos. Por último, la incorporación de TGF- β 3 y CEM-GW en un sustituto dérmico ayudó a mejorar la deposición de tejido de granulación en comparación con el control negativo.

Por lo tanto, la presente invención si proporciona un efecto técnico inesperado.

d. Los documentos D3 y D4 no subsanan las deficiencias del documento D1

Ahora bien, contrario a lo señalado, las diferencias entre el documento D1 y la presente invención no pueden ser anticipadas por los documentos D3 y D4 citados, como se explica a continuación.

Con respecto a D3

D3 se describe la obtención los andamios de poli(ϵ -caprolactona) (PCL)/colágeno en donde:

1. Se utilizó un sistema de bioextrusión aditiva para obtener los andamios de PCL,
2. Se realizó una modificación superficial a esta estructura 3D de PCL utilizando un tratamiento de plasma
3. Se adicionó ácido acrílico (AAc) mediante polimerización ultravioleta (UV).
4. Se inmovilizó colágeno en la superficie del andamio 3D a través de la química de carbodiimida.

Por lo tanto, a diferencia de la presente invención, en D3 no se utiliza electrohilado, no se lleva a cabo la mezcla física de polímeros en un solvente orgánico, y, además, no hay inmovilización de cápsulas de alginato de calcio de un factor de crecimiento antifibrótico como el TGF- β 3 como se nombra en la presente invención. De esta manera, contrario a lo mencionado por el examinador, las enseñanzas combinadas de D1 y D3 no proporcionan las indicaciones necesarias para llevar a la materia reclamada de forma obvia o evidente.

Las pruebas biológicas de D3 se realizaron con fibroblastos 3T3 y se limitaron a la caracterización de adhesión y proliferación celular sobre la estructura tridimensional.

Los autores encontraron con esta caracterización que se modificó la naturaleza superficial de la estructura de PCL con la inclusión del colágeno.

Con respecto a D4

De otro lado, en D4 se menciona la obtención de fibras de quitosano/PCL, para esto, los autores prepararon soluciones individuales de estos polímeros. El quitosano (4 p/v) se disolvió en ácido tricloroacético (TFA) y diclorometano (DCM) (70:30 v/v) y agitando por 4 h a 50 °C en una placa de agitación y calentamiento, mientras que la PCL (12 p/v) se disolvió en 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) y se mantuvo en agitación durante 2.5 h. Posteriormente ambas soluciones se mezclaron para obtener soluciones con 0. 5. 10, 25 y 100% p/p de quitosano, identificadas como PCL, 5%Q. 10%Q. 25%Q y Q respectivamente.

Los autores usaron fibroblastos de ratón L929 y células de Schwann de rata para ensayo de citotoxicidad directo e indirecto por MTT, inmunocitoquímica para mirar faloidina, morfología celular por SEM.

De esta forma, esta tesis difiere de la invención principalmente en que, a pesar de que se usa la técnica de electrohilado para obtener las fibras, no se usa el mismo polímero natural (ya que en este se utiliza quitosano, que por su naturaleza debe ser diluido en un solvente ácido como el ácido tricloroacético), las proporciones de los polímeros difieren, y tampoco se incluyen factores de crecimiento encapsulados.

De esta manera, contrario a lo mencionado por el examinador, las enseñanzas combinadas de D1 y D3 no proporcionan las indicaciones necesarias para llevar a la materia reclamada de forma obvia o evidente.

Consideraciones finales

Por último, me permito señalar la siguiente tabla en la que se resumen las principales diferencias entre el arte previo y la presente invención:

DIFERENCIAS	INVENCION	D1	D3	D4
-------------	-----------	----	----	----

Polímeros usados	PCL 80,000 Da y Colágeno	Poli(ϵ -caprolactona) y colágeno tipo I.	Poli(ϵ -caprolactona) y colágeno extraído de cartílago bovino	Poli(ϵ -caprolactona) y Quitosano
Proporciones de polímeros	PCL: Colágeno 19:1 (95:5) y 9:1 (90:10)	PLCL: colágeno 75:25, 50:50 y 25:75, respectivamente	No hay una proporción de polímeros, el colágeno fue adicionado por química de carbodiimida	El quitosano (4 p/v) PCL (12 p/v) ambas soluciones se mezclaron para obtener soluciones con 0. 5. 10, 25 y 100% p/p de quitosano
Estado del TGF-β3	TGF- β 3 encapsulado en alginato de sodio	TGF- β 3 reconstituido a 20 μ g/ml en ácido clorhídrico 4 mM estéril que contenía 1 mg/ml de BSA.	No usan TGF- β 3	No usan TGF- β 3
Incorporación del TGF-β3	Se generaron esferas de alginato de calcio cargadas con TGF- β 3 por intercambio iónico en condiciones suaves, luego se ubicaron en una capa de	Las soluciones se incorporaron en una aguja coaxial donde la solución externa era PLCL-colágeno y la interna TGF- β 3 y se electrohilaron, luego se reticularon con	No usan TGF- β 3	No usan TGF- β 3

	PCL/Col previamente electrohilada y se inmovilizaron electrohilando nuevamente para generar una estructura tipo sándwich.	vapor de glutaraldehído		
--	--	----------------------------	--	--

Por último, el solicitante desea manifestar que la presente invención representa un avance técnico en comparación con el conocimiento existente aun cuando la técnica de electrohilado utilizada para obtener los andamios con fibras submicrométricas y los polímeros como la Poli(ϵ -caprolactona) son ampliamente utilizados en el área de ingeniería de tejidos, como se evidencia en D1 y D3.

El nivel inventivo de la presente solicitud radica en la estructura final obtenida donde:

- i) La cantidad de colágeno utilizado es drásticamente menor que lo encontrado en la literatura favoreciendo el posible escalamiento comercial del producto debido a que el colágeno es un material prima de alto costo, representando una competencia económica frente a los dispositivos comerciales disponibles.
- ii) Para encapsular el TGF- β 3 se utilizó el alginato de calcio, que permitió una encapsulación en condiciones suaves para garantizar la conservación de la bioactividad del TGF- β 3 (factor de crecimiento termolábil, inestable frente a cambios de pH y fotosensible). Como se mencionó previamente esta característica no se divulga en ninguna de las referencias citadas.
- iii) El TGF- β 3 en la presente invención no se encuentra dentro de las fibras electrohiladas sino en capsulas esféricas de alginato de calcio que están inmovilizadas entre dos capas electrohiladas de PCL/colágeno, la encapsulación del factor de crecimiento TGF- β 3 en condiciones suaves, para preservar su bioactividad y estructura hace que la invención no sea obvia para una persona experta en la materia.

La estructura final representa una alternativa en el área de ingeniería de tejidos de piel que comprende un andamio biocompatible con materias primas aprobadas por la FDA

para uso en humanos, las fibras electrohiladas permiten un fácil manejo quirúrgico y la posibilidad de suturar en el sitio de la herida. Contiene el factor de crecimiento antifibrótico TGF- β 3 encapsulado en alginato de calcio e inmovilizado en la mitad de dos membranas electrohiladas, conservando su bioactividad, su estabilidad y permitiendo una liberación prolongada en el tiempo. Además, se puede usar con o sin células estromales mesenquimales de gelatina de wharton, células que se caracterizan por sus efectos paracrinós y modulación de la respuesta inmunológica para mejorar el proceso de cicatrización y la apariencia del tejido reparado.

De este modo, teniendo en cuenta que D1, ya sea solo o en combinación con D3 y D4, no proporciona indicaciones claras que conduzcan efectivamente a la persona normalmente versada en la materia a la invención como se reivindica, pues no contienen ninguna enseñanza sobre la encapsulación de TGFB en alginato, es evidente que el objeto reivindicado no puede considerarse obvio y, por lo tanto, cumple con los requisitos de los artículos 14, 16 y 18 de la Decisión 486 de 2000.

6 Conclusiones

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

- i) La invención de la presente solicitud es clara y cuenta con el debido sustento en el capítulo descriptivo, a la vez que se encuentra divulgada de manera suficientemente completa, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 30 y 28 de la Decisión 486; y
- i) La invención de la presente solicitud no resulta obvia ni se derivada de manera evidente del estado de la técnica, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 18 de la Decisión 486.

Por tanto, atentamente me permito solicitar a ese Despacho otorgar el privilegio de patente a la solicitud en estudio, toda vez que cumple a cabalidad con los requerimientos de la Decisión 486/00.

En consecuencia, solicitamos a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

7 Pago de tasas

En primer lugar, teniendo en cuenta que se presenta un nuevo capítulo reivindicatorio, me permito adjuntar recibo por concepto de pago de tasa de modificación a la solicitud, según lo establecido en la **Resolución No. 59669 de 2020**.

Por otra parte, en relación con el número de reivindicaciones, atentamente me permito decir que no se adjunta pago de tasa por concepto reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio presenta un numero de cláusulas inferior al presentado y estudiado previamente por su Despacho.

8 Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por diez (10) reivindicaciones.
- Comprobante de pago de la tasa por modificación de la solicitud.

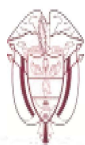
Señora Directora,


CAROLINA DAZA MONTALVO
C.C. 66.783.790 de Palmira Valle
TP-141563 CSJ
notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Constructo tipo sánduche de poli(ϵ -caprolactona)-colágeno/TGF- β 3, que comprende una capa inferior, una capa intermedia y una capa superior;
 en donde las capas superior e inferior están conformadas por andamios electrohilados de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y colágeno (COL), en una proporción (p/p) de PCL: COL de entre 9:1 y 19:1; y
 en donde la capa intermedia está conformada por factor de crecimiento transformante β 3 (TGF- β 3) encapsulado en alginato de calcio.
2. El constructo según la Reivindicación 1, que además comprende una capa exterior de células seleccionadas entre progenitoras mesenquimales, epiteliales y/o condrogénicas localizada sobre una de las capas superior o inferior.
3. El constructo según la Reivindicación 2 en donde dichas células de la capa exterior son células estromales mesenquimales (CEM).
4. El constructo según la Reivindicación 3 en donde dichas células de la capa exterior producen factores seleccionados entre factores angiogénicos, epiteliales, e inmunomoduladores.
5. El constructo según la Reivindicación 4 en donde dichas células de la capa exterior producen factores de crecimiento seleccionados entre HGF, FGFB, VEGF, PDGF-AA, TGF β 2, G-CSF y/o TGF- β 1, quimiocinas seleccionadas entre RANTES, MCP-1, Eotaxin, IP-10, CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL6 y/o CXCL8, factores neurotróficos seleccionados entre NGF, NT3, NT4 y/o GDNF, citoquinas y factores de crecimiento hematopoyético seleccionados entre G-CSF, GM-CSF, LIF, IL-1 α , IL-6, IL-8, IL-10 y/o IL-11 y factores angiogénicos seleccionados entre angiopoyetina 1, angiogenina, PLGF, trombospondina 2 y/o endostatina.
6. El constructo según la Reivindicación 1, en donde las capas superior e inferior presentan las siguientes características:
 - Diámetro de fibras de 200 a 400 nm;
 - Porosidad entre 55 y 75%;
 - Hidrofobicidad medida por ángulo de contacto, correspondiente a 60 - 80° a 0 segundos y de 5 - 15° a 5 segundos.
7. Un método para la elaboración de un constructo de poli(ϵ -caprolactona)-colágeno/TGF- β 3 según la Reivindicación 1, que comprende:
 - a) Preparar una solución polimérica de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) y colágeno (COL) con una concentración de entre el 9 y 12 % p/v, y en donde la proporción en masa de PCL: COL es de entre 19:1 o 9:1;
 - b) Obtener cápsulas de alginato de calcio cargadas con TGF- β 3, dejando caer gotas de la solución de alginato de sodio (2% p/v) / TGF- β 3 dentro de la solución de cloruro de calcio (3% p/v);
 - c) Electro hilar una primera capa de la solución polimérica obtenida en a);
 - d) Ubicar las cápsulas de factor de crecimiento transformante (TGF- β 3) obtenidas en la etapa b) sobre la capa electrohilada de la etapa c); y
 - e) Electro hilar una segunda capa de solución polimérica de la etapa a) sobre las cápsulas de alginato de calcio cargadas con TGF- β 3 obtenidas en la etapa b);

8. El método de la reivindicación 7 que comprende, una etapa adicional en donde se dispone una capa de células sobre una de las capas obtenidas en las etapas c) o e).
9. El método de la Reivindicación 7 en donde la solución de la etapa a) se prepara en un solvente seleccionado entre 2,2,2- trifluoroetanol (TFE), HFP, dimetilformamida, cloroformo, acetona.
10. El método de la Reivindicación 9, en donde el solvente es TFE.



**Superintendencia de
Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2020/0008252
Recibo: 24-91118
Fecha: 15/11/2024

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Consignación No: 1040752

Patente de Invención Nacional
ANDAMIO DE POLI(?-CAPROLACTONA)-COLÁGENO/TGF-?3

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	\$ 214,000	\$ 214,000
TOTAL					\$ 214,000