

Sres.

Superintendencia de Industria y Comercio Dirección de Nuevas Creaciones

E. S. D

Re: Expediente No. NC2022/0011604

Solicitud de patente de invención titulada: "SUSTRATO DE NANO ESTRUCTURAS PARA LA AMPLIFICACIÓN DE SEÑALES RAMAN Y PROCESO PARA SU CREACIÓN"

Solicitantes: UNIVERSIDAD SIMÓN BOLÍVAR

RESPUESTA AL OFICIO No. 18106 de 16 de octubre de 2025

(PRIMER EXAMEN DE FONDO)

FREDY SÁNCHEZ MERINO, mayor de edad y vecino de Barranquilla, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de las instituciones solicitantes, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, en los siguientes términos:

1. Nos permitimos dar respuesta al Oficio No. 18106 de 16 de octubre de 2025, dentro del término legal establecido. En atención a las observaciones formuladas por la Dirección de Nuevas Creaciones en relación con la claridad, coherencia interna y sustentación del capítulo reivindicatorio, el solicitante ha procedido a presentar una versión enmendada de dicho capítulo, con el fin de garantizar su plena correspondencia con la descripción y asegurar el cumplimiento de lo dispuesto en los artículos 28 y 30 de la Decisión 486 de 2000.

En la versión enmendada, la reivindicación independiente ha sido reorganizada y reformulada de manera integral, precisa y técnicamente coherente, de modo que en un único cuerpo reivindicatorio se integran de forma expresa y ordenada las etapas esenciales que definen el método de preparación del sustrato de nanoestructuras objeto de la invención. Esta reorganización responde a la necesidad de reflejar con mayor claridad la secuencia lógica y funcional de las operaciones técnicas involucradas, evitando dispersiones innecesarias de características esenciales entre distintas reivindicaciones y eliminando posibles ambigüedades en la definición del alcance de la protección solicitada.

De manera particular, la nueva redacción del capítulo reivindicatorio define con mayor precisión la sucesión de etapas relativas a la conformación de la matriz polimérica, la generación de pozos con fondo de poliestireno, la modificación química superficial mediante nitración y silanización, y la posterior incorporación de nanopartículas metálicas activas para la formación de nanoestructuras en el fondo de los pozos. Con ello, se refuerza la comprensión objetiva del método reivindicado y la relación funcional existente entre cada una de sus etapas, sin alterar la naturaleza técnica de la invención originalmente divulgada.

Las reivindicaciones dependientes han sido igualmente ajustadas con el propósito de expresar las características técnicas adicionales mediante parámetros estructurales, composiciones o configuraciones concretas, evitando la formulación de ventajas, efectos deseados o resultados técnicos como si se tratara de características técnicas autónomas. De este modo, se preserva la claridad exigida por el artículo 30 de la Decisión 486 y se mantiene una delimitación precisa del objeto protegido.

Paralelamente, se ha procedido a fortalecer y reorganizar el capítulo descriptivo de la solicitud, con el fin de mejorar la claridad expositiva y asegurar que la divulgación permita a una persona normalmente versada en la materia ejecutar la invención de manera reproducible, conforme a lo previsto en el artículo 28 literal e) de la Decisión 486. Estas modificaciones no implican en modo alguno la incorporación de nueva materia, sino que consisten exclusivamente en la precisión, desarrollo explicativo y sistematización de información técnica que ya se encontraba contenida en la descripción originalmente presentada, en estricto cumplimiento de la prohibición de ampliación establecida en el artículo 34 de la normativa comunitaria.

2. En cuanto a los ajustes introducidos, se deja constancia de que ninguno de ellos implica la incorporación de materia adicional ni excede el contenido originalmente divulgado, en estricto cumplimiento de lo dispuesto en el artículo 34 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. En particular, se armonizó la redacción general de la memoria descriptiva con el fin de precisar la secuencia técnica del método automatizado propuesto, incluyendo las etapas de medición espectroscópica en múltiples puntos de la superficie de la formulación, la recolección y procesamiento de los datos espectrales, y el análisis mediante inteligencia artificial para la determinación de concentración, uniformidad del contenido y degradación del principio activo. Asimismo, se clarificaron los parámetros operativos y criterios técnicos asociados al análisis multivariable, a la comparación entre espectros, a la sustracción espectral y a la identificación del factor degradativo, todos ellos ya descritos en la versión inicial de la solicitud.

De igual forma, se ajustó la redacción de las reivindicaciones dependientes con el propósito de asegurar su plena correspondencia con la descripción, precisando el carácter preferente de determinadas modalidades de ejecución (como el uso de un láser de cascada cuántica (QCL), la implementación de modelos de regresión de cuadrados mínimos parciales (PLS), el empleo de modelos de aprendizaje de máquina tipo bosques aleatorios y la posibilidad de realizar el procesamiento de datos en un servidor en la nube) sin alterar en ningún caso el alcance técnico originalmente divulgado.

Estas modificaciones constituyen ajustes meramente aclaratorios y de orden sistemático, destinados a mejorar la claridad reivindicatoria, la suficiencia descriptiva y la coherencia tripartita entre descripción, reivindicaciones y figuras, sin modificar la naturaleza, finalidad ni alcance técnico de la invención. En consecuencia, el contenido del expediente subsanado se mantiene plenamente dentro del marco normativo aplicable y respeta de manera estricta las limitaciones establecidas por el artículo 34 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina.

En este contexto, y frente a la observación específica formulada por la Oficina en relación con la supuesta falta de claridad de la reivindicación asociada al método, particularmente por la ausencia de proporciones internas de ciertas mezclas y de valores cuantitativos de presión en una de sus etapas, resulta necesario abordar de manera expresa el alcance jurídico de las modificaciones admisibles

durante el trámite de una solicitud de patente. En efecto, si bien el solicitante ha procedido a reorganizar y precisar el capítulo reivindicatorio y descriptivo dentro de los márgenes permitidos por la normativa comunitaria, no toda aclaración solicitada por la autoridad examinadora puede satisfacerse mediante la incorporación de nuevos parámetros técnicos. En consecuencia, a continuación se expone de forma detallada el marco jurídico aplicable a la imposibilidad de introducir proporciones o valores no divulgados originalmente, conforme a lo dispuesto en el artículo 34 de la Decisión 486 de 2000 y a la jurisprudencia reiterada del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina.

3. Imposibilidad jurídica de introducir proporciones no divulgadas

La modificación de una solicitud de patente, conforme al artículo 34 de la Decisión 486, está estrictamente condicionada a que los nuevos elementos introducidos se deriven de manera directa, inequívoca y necesaria de la descripción originalmente presentada. La jurisprudencia del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina ha reiterado en múltiples interpretaciones prejudiciales —tales como los procesos 109-IP-2017, 22-IP-2014, 77-IP-2012 y 70-IP-2021, todos accesibles en la base oficial del Tribunal— que la evaluación de admisibilidad de una modificación exige que la información agregada esté contenida de manera explícita o implícita en el documento inicial, de forma tal que el experto en la materia pueda deducirla sin recurrir a conjeturas, hipótesis técnicas alternativas o reconstrucciones posteriores. Bajo esta doctrina consolidada, no es admisible perfeccionar la solicitud mediante la inclusión de parámetros técnicos que no hayan sido divulgados originalmente, aun cuando dichos parámetros sean comunes en la técnica, habituales en procedimientos similares o aparezcan en documentos del estado de la técnica citados por el examinador. El Tribunal ha sido claro en establecer que la existencia de prácticas habituales en un campo técnico no convierte esos parámetros en parte de la solicitud, ni permite introducirlos en la fase de examen sin vulnerar las reglas sobre inalterabilidad de la divulgación. Aceptar la introducción de proporciones no divulgadas equivaldría a permitir que el contenido técnico de la solicitud se complete con información externa posterior, lo cual desnaturaliza el sistema de patentes basado en la divulgación inicial como contrapartida del derecho exclusivo.

Al examinar la descripción presentada inicialmente por el solicitante, se observa que los únicos elementos divulgados respecto de la etapa de nitración son el volumen total de la mezcla (40 μ L), las concentraciones comerciales de los reactivos utilizados (ácido nítrico al 70 % y ácido sulfúrico al 98 %), el tiempo de exposición (5 minutos), la finalidad técnica de la operación (generar grupos nitrados en el fondo de los pozos), y el procedimiento subsiguiente de enjuague. En ningún punto se especifica la proporción relativa entre ácido nítrico y ácido sulfúrico dentro de los 40 μ L, tampoco se menciona un rango posible, ni se indica que exista una relación particular necesaria para que la etapa funcione de la manera prevista. La ausencia total de esa información implica, conforme al entendimiento reiterado del Tribunal, que el solicitante no puede introducir posteriormente un valor, proporción o intervalo, porque sería añadir un elemento técnico que no forma parte del contenido original accesible al público en la fecha de presentación. El Tribunal ha sido consistente en señalar que una modificación que sustituye una condición general por una condición cuantitativa específica representa una alteración del contenido técnico divulgatorio, incluso cuando el parámetro pueda considerarse conocido o razonable para el experto. La prohibición es absoluta: si la solicitud no la contiene, el solicitante no puede introducirla.

La misma conclusión aplica a las proporciones específicas de polidimetilsiloxano utilizadas en la fase de obtención de la matriz. Aunque el PDMS se comercializa habitualmente como un sistema base-curador con proporciones relativamente estables en ciertas marcas, la solicitud no menciona en ningún pasaje la ratio PDMS:curador, ni aporta valores, rangos, masas, volúmenes o condiciones reológicas. La descripción únicamente indica que se vierte una “preparación de polidimetilsiloxano transparente y ópticamente claro”. La ausencia total de una proporción o referencia cuantitativa impide que la misma se introduzca posteriormente, pues hacerlo equivaldría a completar ex novo el procedimiento con información que no estaba disponible para el público el día de la presentación. El Tribunal ha señalado expresamente en diversas interpretaciones sobre los artículos 28 y 34 que el solicitante no puede añadir detalles técnicos que hagan más específica, precisa o reproducible la invención, si tales detalles no fueron divulgados desde el inicio. El requisito de suficiencia descriptiva no puede ser satisfecho mediante agregaciones posteriores: o la solicitud era suficiente desde su presentación, o no lo era; lo que no es jurídicamente posible es completarla con nuevos datos. Bajo esta premisa, cualquier intento de introducir proporciones de PDMS para “aclarar” el proceso sería jurídicamente improcedente. Además, la invención no se dirige a la formulación del polidimetilsiloxano como tal, sino a su empleo como matriz estructural para la conformación de pozos; en consecuencia, la proporción base-curador no constituye una característica técnica esencial del método reivindicado.

En cuanto a la presión de operación durante la etapa de vacío, la solicitud tampoco menciona ningún parámetro cuantitativo. La única información contenida en la descripción consiste en que la mezcla debe “reposar en bomba de vacío durante 15 minutos”. Esta redacción refleja claramente que el inventor no asignó relevancia técnica a la presión, y que el aspecto funcional de la etapa se limita a la eliminación de burbujas mediante el uso de un vacío, sin exigir ni sugerir un nivel particular de presión. Una condición así, que carece de valor concreto, tampoco puede ser modificada hacia un parámetro cuantitativo específico. La jurisprudencia andina ha sido reiterativa en afirmar que, cuando no existe un único valor técnico derivable de la descripción, no es jurídicamente posible introducir uno después. La presión de vacío es un parámetro que puede adoptar múltiples valores según el equipo utilizado, y la descripción no indica que alguno de ellos sea esencial. Por tanto, no existe una “derivación necesaria” (criterio indispensable según la doctrina del Tribunal) que justifique incorporar un valor nuevo. Exigir la incorporación de un valor de presión implicaría imponer ex post un requisito técnico que el propio inventor no consideró esencial para la ejecución del método.

La claridad del método tampoco exige que el solicitante introduzca valores que la memoria no contiene. La doctrina del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina sobre el artículo 30 ha establecido que una reivindicación es clara siempre que la materia pueda comprenderse objetivamente y siempre que el procedimiento pueda ejecutarse por el experto en la materia a partir de la información proporcionada, sin requerir experimentación desproporcionada. En este caso, la descripción sí suministra los elementos funcionales esenciales para la ejecución del procedimiento: la secuencia técnica, el volumen total, las concentraciones comerciales de los ácidos, el tiempo de actuación, el número de enjuagues, la temperatura de secado, el volumen de nanopartículas y la finalidad de cada etapa. El experto en química de superficies y en metodologías SERS es plenamente capaz de reproducir el proceso con base en la información divulgada. La ausencia de proporciones internas de la mezcla ácida o de la proporción del PDMS no impide la ejecución, porque la descripción no señala que dichos parámetros sean críticos ni indispensables. En este contexto, la claridad se satisface mediante la descripción funcional y la secuencia operativa divulgada, lo cual se encuentra en armonía con la interpretación del Tribunal sobre la suficiencia descriptiva y el alcance del artículo 30. Así, el reproche formulado confunde indebidamente el estándar de claridad con una exigencia de

exhaustividad cuantitativa propia de la suficiencia descriptiva, imponiendo un nivel de detalle no exigido por el artículo 30 de la Decisión 486.

Con base en todo lo anterior, cualquier intento de introducir proporciones específicas de ácido nítrico y ácido sulfúrico, proporciones de polidimetilsiloxano o valores de presión de vacío constituiría una modificación que excede lo divulgado originalmente, vulnerando de manera directa la prohibición contenida en el artículo 34 de la Decisión 486. La modificación sería jurídicamente inadmisibles porque no se deriva de manera directa, inequívoca ni necesaria del texto inicialmente presentado. Además, violaría el criterio reiterado del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina según el cual el solicitante no puede completar, reconstruir o mejorar una invención mediante parámetros técnicos que no integraban la divulgación inicial. En consecuencia, la reivindicación debe mantenerse dentro del marco técnico que la descripción permite, sin introducir proporciones no reveladas, y la claridad del método se sostiene mediante los elementos funcionales y operativos efectivamente divulgados.

4. Análisis detallado de D1(US2008228428)

El documento D1, titulado “*Structures, methods of making structures, multi-well array surface enhanced raman spectroscopy (SERS) chips*”, divulga estructuras para espectroscopía Raman (SERS), métodos de fabricación y su uso. Técnicamente, D1 describe sustratos que pueden incluir arreglos de múltiples pozos y que incorporan nanoestructuras metálicas para la amplificación de la señal Raman. Asimismo, D1 menciona el uso de materiales poliméricos, incluidos el poliestireno (PS) y el polidimetilsiloxano (PDMS), para la conformación de dichas estructuras.

Sin embargo, el contenido divulgado en D1 difiere sustancialmente de la solución reivindicada en la presente solicitud en cuanto a la arquitectura química de la superficie y el mecanismo de anclaje de las nanoestructuras.

De manera específica, el documento D1 no divulga ni sugiere las siguientes características técnicas esenciales que son determinantes para la estabilidad y reproducibilidad del sustrato reivindicado:

a) La activación química secuencial del fondo de los pozos mediante nitración y silanización. D1 se centra en la conformación física de las estructuras (geometría de los pozos, pilares, conos) y en la deposición de metales, pero no describe ni sugiere el tratamiento químico específico del poliestireno mediante una mezcla sulfonítrica para generar grupos nitro (-NO₂), ni su posterior funcionalización con agentes silanizantes (como APTES/MPTS) para crear un anclaje covalente.

b) El anclaje químico específico de las nanoestructuras. Mientras que D1 confía en la deposición física o en la estructura moldeada para retener el metal, la invención reivindicada establece un enlace químico interfacial (mediado por la silanización) que fija las nanopartículas al fondo del pozo. D1 no enseña este mecanismo de fijación química.

c) La combinación específica de una matriz de PDMS con un fondo de poliestireno activado químicamente. Aunque D1 menciona ambos polímeros como opciones materiales generales, no divulga la configuración específica donde el PDMS forma el cuerpo de los pozos y el poliestireno actúa como el fondo activo que es sometido a las etapas de nitración y silanización reivindicadas.

En consecuencia, el documento D1 describe un sustrato SERS desde una perspectiva puramente estructural y geométrica, pero carece de la enseñanza técnica referida a la funcionalización química de la superficie (nitración/silanización) necesaria para lograr la homogeneidad y estabilidad de anclaje que caracteriza a la presente invención. Por lo tanto, D1 no anticipa la invención reivindicada, ya que

no divulga de forma directa y completa la secuencia de etapas químicas ni la configuración funcional del sustrato propuesto.

5. Análisis detallado de D2

El documento D2 describe un protocolo biotecnológico cuyo objetivo es la inmovilización covalente de una enzima (ureasa) sobre una placa de poliestireno comercial (ELISA) para mejorar su estabilidad catalítica.

El método divulgado en D2 consiste en:

Nitración: Tratamiento de una placa comercial de poliestireno con para generar grupos nitro.

Silanización con MPTS: Uso de (3-mercaptopropil) trimetoxisilano (MPTS) para generar grupos tiol (-SH) en la superficie.

Anclaje de Nanopartículas "Capped": Adición de nanopartículas de cobre previamente funcionalizadas/recubiertas con cisteína (CCNPs) que actúan como "molécula enlazadora" o *linker*.

Bio-conjugación: Tratamiento con glutaraldehído para unir la enzima ureasa a la cisteína de la nanopartícula.

Mientras que D2 enseña a crear un "bioreactor" a microescala donde la nanopartícula está recubierta de aminoácidos y enzimas para catálisis química. No enseña un sustrato fotónico para espectroscopía Raman.

Diferencias Esenciales frente a la Invención Reivindicada

Al contrastar D2 con la reivindicación 1 de la presente solicitud, se evidencian diferencias sustanciales en la química de superficie, los materiales y el propósito final, que impiden que D2 destruya la novedad o sugiera la invención:

a) Diferencia en la arquitectura del sustrato (Moldeo PDMS vs. Placa Comercial)

Invención: Reivindica un método de *fabricación* del cuerpo del sustrato, que incluye "colocar un molde con altos relieves... verter una preparación de polidimetilsiloxano (PDMS)... y reposar en bomba de vacío". El resultado es una placa híbrida flexible de PDMS con fondo de poliestireno diseñada específicamente para SERS.

D2: Utiliza placas de microtitulación (ELISA) de poliestireno comerciales estándar ("Untreated ELISA polystyrene plate obtained from Tarsons"). D2 **no divulga** la etapa de moldeo con PDMS ni el uso de vacío para la manufactura del dispositivo, limitándose a modificar una superficie preexistente.

b) Diferencia Radical en el Agente Silanizante (Química de Superficie)

Invencción: Exige específicamente el uso de **(3-aminopropil) trietoxisilano (APTES)**. El uso de APTES genera una terminación **amino (NH₂)** en la superficie, la cual es química y electrostáticamente distinta para la interacción con los iones metálicos y las nanopartículas desnudas propuestas en la invención.

D2: Enseña explícitamente el uso de **(3-mercaptopropil) trimetoxisilano (MPTS)**. El MPTS genera una terminación **tiol (SH)**. Un experto en la materia sabe que sustituir un silano amino (APTES) por un silano tiol (MPTS) cambia drásticamente la reactividad de la superficie y el mecanismo de adsorción de las capas subsiguientes.

c) Diferencia en la Naturaleza de la Capa Metálica (SERS vs. Linker Biológico)

Invencción: Describe un proceso de dos pasos metálicos: primero la adición de una solución precursora de y posteriormente el depósito de **nanopartículas metálicas activas centrifugadas** (Au, Ag, Cu, Pt) para generar nanoestructuras "desnudas" o activas para la amplificación de campo electromagnético (SERS).

D2: Emplea nanopartículas de cobre **"cappeadas" (recubiertas) con cisteína** (CCNPs) sintetizadas previamente. El propósito de D2 no es dejar el metal expuesto para interactuar con un analito Raman, sino usar la cubierta de cisteína orgánica para anclar químicamente una enzima voluminosa (ureasa). El recubrimiento orgánico (cisteína + glutaraldehído + enzima) en D2 bloquearía el efecto de "hotspot" necesario para SERS, alejando el analito de la superficie metálica.

d) Diferencia de Propósito y Resultado Técnico

Invencción: El objetivo es la amplificación de señales Raman (SERS) con un Factor de Aumento (FE) de entre 10^3 y 10^6 . Busca un fenómeno físico (plasmónico).

D2: El objetivo es la catálisis enzimática (actividad de la ureasa para degradar urea). Busca un fenómeno bioquímico. D2 no menciona, no sugiere ni evalúa propiedades ópticas o espectroscópicas de la superficie.

No resulta obvio para un experto en la materia partir de D2 para llegar a la invención. D2 enseña a recubrir el metal con capas biológicas complejas (cisteína/enzima) para estabilizar una reacción química. La presente invención requiere una superficie metálica nanoestructurada accesible para que el analito (ej. orina, fármaco) pueda acercarse lo suficiente (pocos nanómetros) y experimentar la amplificación Raman.

Combinar las enseñanzas de D2 (usar MPTS y nanopartículas recubiertas de aminoácidos) destruiría la funcionalidad SERS buscada por la invención, ya que la "capa biológica" de D2 actuaría como una barrera dieléctrica indeseada. Por tanto, no existe motivación técnica en D2 para modificar sus enseñanzas hacia la fabricación de un sustrato de espectroscopía moldeado en PDMS/PS con funcionalización amino (APTES).

Por lo anterior, es evidente que el documento D2 se refiere a un campo técnico distinto (biocatálisis inmovilizada) y emplea una química de superficie divergente (química de tioles vs. química de aminas)

sobre un soporte comercial, lo cual no anticipa ni hace obvio el método de manufactura de sustratos SERS de PDMS/PS reivindicado.

6. Diferencias técnicas comunes a D1 y D2

Aunado a las diferencias específicas previamente desglosadas frente a cada documento individual, existen divergencias técnicas transversales que permiten afirmar que la invención reivindicada se aparta clara, objetiva y sustancialmente del estado de la técnica citado. Estas diferencias sistémicas evidencian que la solución propuesta no es una mera yuxtaposición de elementos conocidos, sino un desarrollo técnico integral que no se encuentra divulgado ni sugerido, directa o implícitamente, en el arte previo.

a) Divergencia en la naturaleza del problema técnico y el campo de aplicación La invención reivindicada aborda un problema de física óptica y nanotecnología: la fabricación de un sustrato híbrido (PDMS/PS) funcionalizado químicamente para lograr la amplificación de señales Raman (SERS) de un analito externo mediante "nanoestructuras desnudas" o activas. Por el contrario, el documento D1 se circunscribe a la fabricación física de nanobarres mediante deposición en ángulo oblicuo (OAD) sobre vidrio, un enfoque de manufactura por vacío físico sin la funcionalización química húmeda propuesta. Más distante aún resulta D2, el cual pertenece al campo de la biotecnología y biocatálisis. D2 resuelve un problema de estabilidad enzimática: cómo anclar una enzima (ureasa) para que no pierda actividad catalítica. No existe identidad en los problemas técnicos (amplificación espectroscópica vs. catálisis enzimática), lo cual impide considerar a D2 como una referencia pertinente para desarrollar un sensor fotónico.

b) Ausencia de un proceso de manufactura híbrido e integral La invención reivindicada protege un método de manufactura integral que combina el moldeo físico del cuerpo del sustrato (PDMS sobre PS) con una secuencia de funcionalización química *in situ* (Nitración Silanización APTES Metalización) para crear el dispositivo final. El estado de la técnica carece de esta integración. D1 utiliza placas de vidrio comerciales y deposita metal físicamente, agregando el pozo de PDMS solo después como un accesorio superficial. D2, por su parte, parte de una placa comercial pre-fabricada (ELISA) y aplica un protocolo de modificación superficial para biología, sin involucrar la creación del cuerpo del sustrato ni el diseño de pozos ópticos específicos como lo hace la invención.

c) Incompatibilidad técnica de la superficie de D2 con el efecto SERS Un pilar de la invención es disponer de nanopartículas metálicas "activas" o expuestas que permitan el acercamiento directo del analito a la superficie plasmónica para lograr el factor de aumento (FE) deseado (). En contraste directo, D2 enseña el bloqueo deliberado de la superficie metálica. Su metodología exige recubrir la nanopartícula con cisteína (aminoácido), luego glutaraldehído y finalmente una macromolécula enzimática (ureasa). Esta "biocapa" orgánica crea una distancia física dieléctrica entre el metal y cualquier posible analito externo, lo cual anularía el efecto de campo cercano necesario para SERS. Aplicar la enseñanza de D2 destruiría la funcionalidad de la invención.

d) Diferencia radical en los medios físicos de detección El núcleo funcional de la invención es la espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS), que depende de la resonancia de plasmones superficiales en las nanoestructuras metálicas para detectar huellas vibracionales. D2 no emplea espectroscopía vibracional ni principios plasmónicos. Sus mediciones se basan en ensayos colorimétricos de actividad enzimática (absorbancia a 405 nm tras reacción química con reactivo de Nessler). Los principios físicos de medición (dispersión inelástica de luz vs. absorbancia óptica de productos químicos) son técnicamente inconexos.

e) Diferencia en la funcionalización química (Silanos: Amino vs. Tiol) La invención se distingue por el uso específico de (3-aminopropil) trietoxisilano (APTES), el cual genera terminaciones *amino* ()

esenciales para la interacción electrostática propuesta con las nanopartículas "desnudas". D2, en cambio, enseña explícitamente el uso de (3-mercaptopropil) trimetoxisilano (MPTS), generando terminaciones *tiol* () destinadas a formar enlaces covalentes fuertes (Azufre-Metal) para anclar permanentemente la nanopartícula recubierta. La sustitución de la química de aminas (Invención) por la química de tioles (D2) alteraría el mecanismo de deposición y la orientación de las partículas, alejándose de la solución reivindicada.

f) Diferencia en el estado de la materia activa (Nanopartículas) El método reivindicado utiliza nanopartículas metálicas activas obtenidas por centrifugación y deposición para inducir el crecimiento de nanoestructuras por aglomeración en el fondo del pozo. D2 emplea nanopartículas "capped" (recubiertas) funcionalizadas desde su síntesis con cisteína para actuar como *linker* o conector biológico. En D2, la nanopartícula es un mero soporte estructural para la enzima; en la invención, la nanopartícula es el transductor óptico activo.

g) Arquitectura del dispositivo y materiales La invención reivindicada define un sustrato flexible conformado por una matriz de PDMS transparente con fondos de poliestireno nitrado, diseñado para optimizar la incidencia del láser y la eliminación de burbujas mediante vacío . D1 utiliza vidrio rígido y D2 utiliza placas de poliestireno estándar rígidas. Ninguno de los antecedentes sugiere la arquitectura híbrida (elastómero/plástico) moldeada *in situ* que caracteriza la invención para facilitar la manipulación y el análisis óptico.

h) Falta de motivación para la combinación Finalmente, no existe motivación técnica alguna para que un experto en espectroscopía Raman combine las enseñanzas de D1 (nanobarres físicas) con las de D2 (bio-reactores enzimáticos). Al pertenecer D2 al campo de la estabilización de enzimas mediante recubrimientos orgánicos complejos, sus enseñanzas sobre "ocultar" la superficie metálica bajo capas de cisteína y proteína son contrarias al objetivo de un sustrato SERS, que requiere superficies metálicas accesibles y de alta pureza electromagnética. La combinación es técnicamente inviable y carece de propósito funcional.

7. Formulación del problema técnico objetivo

De conformidad con la metodología reiteradamente desarrollada por el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina para el examen del requisito de nivel inventivo (en particular en las Interpretaciones Prejudiciales 141-IP-2014, 589-IP-2016 y 371-IP-2021), el análisis debe partir de la correcta identificación del problema técnico objetivo, formulado a partir de las limitaciones reales del estado de la técnica más cercano, evitando cualquier razonamiento retrospectivo (*ex post facto*). Esta formulación resulta esencial para determinar si la solución reivindicada habría sido evidente para una persona versada en la materia a la fecha de presentación de la solicitud.

En el presente caso, a partir del análisis conjunto de los documentos D1 y D2, se advierte que el estado de la técnica presenta, de manera objetiva, las siguientes limitaciones técnicas relevantes:

(i) la ausencia de sustratos SERS de bajo costo, reproducibles y de fácil fabricación, que permitan obtener una amplificación homogénea y estable de la señal Raman en aplicaciones analíticas;

(ii) la falta de estructuras que integren una geometría controlada de pozos que faciliten el depósito reproducible de muestras líquidas o biológicas y aseguren condiciones de análisis uniformes;

(iii) la inexistencia de soluciones que combinen de manera funcional polímeros sintéticos económicos con superficies químicamente activadas que permitan la fijación estable y homogénea de nanoestructuras metálicas activas en SERS; y

(iv) la dependencia, en el estado de la técnica, de métodos de fabricación complejos, costosos o altamente especializados (plasma, litografía electrónica, electrodeposición, etc.) para la obtención de sustratos SERS, lo que limita su accesibilidad y uso extendido.

Sobre esta base, el problema técnico objetivo que enfrenta la invención puede formularse de la siguiente manera:

¿Cómo desarrollar un sustrato activo para espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS), de bajo costo y fácil fabricación, que permita la amplificación homogénea y reproducible de la señal Raman, facilite el depósito controlado de muestras y asegure la fijación estable de nanoestructuras metálicas activas, superando las limitaciones de complejidad, costo y falta de uniformidad de los sustratos conocidos en el estado de la técnica?

Este problema técnico no se encuentra planteado ni resuelto en los documentos citados por la Oficina.

El documento D1 se orienta a soluciones basadas en matrices sólidas o estructuras activas para SERS, pero no divulga un sustrato con forma de placa con pozos, ni la combinación específica de polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno, ni un procedimiento de fabricación que incluya nitración y silanización del fondo de los pozos para permitir la fijación homogénea de nanoestructuras metálicas. Asimismo, D1 no resuelve el problema de uniformidad espacial del recubrimiento ni la reproducibilidad del análisis en múltiples puntos de una misma superficie.

Por su parte, el documento D2 se sitúa en un dominio técnico distinto, relativo a la modificación química de superficies de poliestireno para la inmovilización de enzimas, utilizando nanopartículas de cobre funcionalizadas con cisteína como moléculas enlazadoras. D2 no persigue la obtención de sustratos activos en SERS, no aborda la amplificación de la señal Raman, no contempla la geometría de pozos para análisis espectroscópico y no resuelve el problema técnico de la homogeneidad y estabilidad de nanoestructuras metálicas activas para SERS.

Tal como lo ha señalado el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, el problema técnico objetivo debe formularse a partir de las deficiencias del estado de la técnica más cercano, y no a partir de la solución reivindicada. En este caso, ni D1 ni D2 reconocen la necesidad de un sustrato SERS estructurado en forma de placa con pozos, fabricado a partir de materiales poliméricos económicos, con superficies químicamente activadas que permitan la fijación homogénea de nanoestructuras metálicas activas mediante un procedimiento seguro, reproducible y de bajo costo.

La solución reivindicada responde a este problema técnico mediante un conjunto funcional y sinérgico de características técnicas, que comprenden, entre otras:

- (a) la conformación de un sustrato con pozos definidos geométricamente en polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno;
- (b) la activación química del fondo de los pozos mediante nitración y silanización;
- (c) la fijación homogénea de nanoestructuras metálicas activas a partir de nanopartículas seleccionadas entre oro, plata, cobre o platino; y
- (d) la obtención de un sustrato que permite una amplificación significativa y uniforme de la señal Raman, independientemente del punto de incidencia del láser.

El resultado técnico alcanzado, consistente en un sustrato SERS homogéneo, reproducible, económico y apto para análisis espectroscópicos sensibles de muestras biológicas o químicas, no se deriva de manera evidente del estado de la técnica citado.

En relación con una eventual combinación de D1 y D2, el Tribunal ha sido claro —en particular en la Interpretación Prejudicial 475-IP-2022— en señalar que la combinación de documentos del estado de la técnica solo es admisible cuando existe una motivación técnica clara, objetiva y directa que conduzca al experto en la materia a realizar dicha combinación para resolver el mismo problema técnico.

En el presente caso, no existe motivación técnica razonable que conduzca a combinar:

- un documento orientado a matrices o sustratos generales para SERS (D1), con
- un documento dirigido a la inmovilización enzimática sobre poliestireno mediante nanopartículas (D2),

para arribar a un sustrato SERS con pozos, químicamente activado y recubierto homogéneamente con nanoestructuras metálicas, como el aquí reivindicado.

Por el contrario, cualquier combinación requeriría reconstruir artificialmente las enseñanzas de ambos documentos con conocimiento previo de la invención, lo cual constituye un razonamiento retrospectivo (*ex post facto*) expresamente proscrito por la jurisprudencia comunitaria. En consecuencia, la correcta formulación del problema técnico objetivo confirma que la solución reivindicada no resulta obvia para una persona versada en la materia y satisface plenamente el requisito de nivel inventivo, conforme al artículo 18 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina.

8. Novedad y divulgación integral en el estado de la técnica

La valoración del requisito de novedad exige, conforme a la doctrina uniforme del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, verificar si un único documento del estado de la técnica revela de manera directa, completa, suficiente y unitaria todos los elementos técnicos de la invención tal como han sido reivindicados. De acuerdo con el criterio reiterado, entre otras, en la Interpretación Prejudicial 237-IP-2017, la novedad solo se destruye cuando existe una coincidencia estructural y funcional plena entre la divulgación previa y la solución reclamada, sin recurrir a inferencias, combinaciones *ex post facto* ni reconstrucciones retrospectivas. Este estándar obliga a que el análisis se base exclusivamente en lo que el documento anterior enseña de forma explícita e inequívoca.

Aplicando dicho marco, ninguno de los documentos citados por la Oficina divulga ni anticipa la configuración técnica del sustrato SERS reivindicado.

En particular, el documento D1 no describe ni sugiere un sustrato estructurado en forma de placa con múltiples pozos, conformados mediante polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno, ni un procedimiento que comprenda la activación química del fondo de los pozos mediante nitración y silanización, seguida de la fijación homogénea de nanoestructuras metálicas activas en SERS. D1 se orienta a soluciones generales para matrices o soportes activos en espectroscopía Raman, pero no divulga una arquitectura de pozos, no aborda la combinación específica de materiales poliméricos reivindicada, ni resuelve el problema de la uniformidad espacial y reproducibilidad de la señal Raman en distintos puntos de una misma superficie.

Por su parte, el documento D2, correspondiente a un artículo científico sobre inmovilización de enzimas en superficies de poliestireno mediante nanopartículas de cobre funcionalizadas con

cisteína, se sitúa en un dominio técnico distinto. D2 no persigue la obtención de un sustrato activo para SERS, no describe la amplificación de la señal Raman, no contempla la geometría de pozos para análisis espectroscópico y no divulga la fijación de nanoestructuras metálicas seleccionadas para actividad SERS con el objetivo de generar *hot spots* reproducibles. El uso de tratamientos químicos superficiales en D2 responde exclusivamente a la bioinmovilización enzimática, no a la obtención de un sustrato espectroscópico funcional.

De igual forma, ningún otro documento del estado de la técnica identificado por la Oficina divulga, en un solo cuerpo técnico, la totalidad de las características que definen la invención reivindicada. En particular, no se encuentra en el estado de la técnica una divulgación que reúna de manera conjunta y coordinada:

- una placa con múltiples pozos definidos geométricamente;
- la utilización combinada de polidimetilsiloxano y poliestireno como materiales estructurales del sustrato;
- la activación química específica del fondo de los pozos para permitir anclaje superficial;
- la fijación homogénea y estable de nanoestructuras metálicas activas en SERS; y
- la obtención de una respuesta Raman amplificada, uniforme y reproducible entre distintos pozos y distintos puntos de medición.

La simple existencia aislada de elementos conocidos (como polímeros, tratamientos de superficie o nanopartículas metálicas) no afecta la novedad, pues el artículo 16 de la Decisión 486 exige una divulgación íntegra de la solución técnica en su conjunto. Ninguno de los documentos citados presenta una arquitectura equivalente ni una integración funcional que permita anticipar el sustrato ERS reivindicado, ni su modo de fabricación, ni el efecto técnico combinado alcanzado.

De conformidad con los criterios jurisprudenciales del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina y con el mandato del artículo 16 del Régimen Común sobre Propiedad Industrial, debe concluirse que el estado de la técnica citado no compromete la novedad de la presente solicitud. No existe un documento previo que revele, de manera directa, completa y unitaria, la estructura del sustrato con pozos, la combinación específica de materiales poliméricos, la activación química del fondo ni la fijación homogénea de nanoestructuras metálicas activas para SERS tal como han sido reivindicadas. En consecuencia, la invención mantiene plenamente su carácter novedoso frente a D1, frente a D2 y frente al resto de la información considerada por la Oficina.

9. Imprudencia de inferencias técnicas como fundamento para negar la novedad

La evaluación del requisito de novedad debe realizarse conforme al estándar uniforme fijado por el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, según el cual únicamente un documento del estado de la técnica que revele de manera expresa, directa, completa y suficiente la totalidad de las características técnicas de la invención puede comprometer su novedad. Tal criterio ha sido reiterado, entre otras, en la Interpretación Prejudicial 475-IP-2022, en la que el Tribunal enfatiza que el análisis comparativo debe ceñirse estrictamente al contenido técnico efectivamente divulgado en el documento anterior, sin admitir deducciones, reconstrucciones analíticas ni apreciaciones retrospectivas (*ex post facto*). En el mismo sentido, la Interpretación Prejudicial 237-IP-2017 advierte que la novedad no puede evaluarse a partir de configuraciones hipotéticas ni de suposiciones sobre

cómo podría operar o combinarse el arte previo para aproximarlos artificialmente a la invención examinada.

Este estándar implica que la Oficina no puede completar, inferir ni extrapolar elementos técnicos que un documento no divulga. Tampoco resulta admisible suplir lagunas mediante conocimientos generales del experto en la materia ni reconstruir, mediante razonamientos retrospectivos, estructuras, configuraciones geométricas o secuencias de fabricación que no se encuentren descritas de forma explícita e inequívoca en el arte previo. La novedad exige una coincidencia plena y literal entre lo reivindicado y lo revelado, lo que excluye cualquier intento de aproximación conceptual o funcional no sustentado directamente en la divulgación anterior.

Aplicado al presente caso, resulta evidente que el documento D1 no revela la configuración técnica integral del sustrato SERS reivindicado. Si bien D1 puede referirse de manera general a superficies, matrices o soportes asociados a técnicas espectroscópicas, no divulga una placa estructurada con múltiples pozos, ni la combinación específica de polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno, ni un procedimiento que comprenda la activación química del fondo de los pozos mediante nitración y silanización, ni la fijación homogénea y estable de nanoestructuras metálicas activas para SERS. Estos elementos no se encuentran descritos de manera expresa ni inequívoca en D1, ni pueden derivarse de su contenido sin incurrir en una reconstrucción técnica retrospectiva.

Del mismo modo, D1 no enseña ni sugiere un diseño orientado a garantizar la homogeneidad espacial de la amplificación Raman entre distintos pozos o puntos de medición, ni una arquitectura superficial que permita la formación reproducible de *hot spots* SERS mediante nanoestructuras metálicas ancladas químicamente. Cualquier intento de interpretar D1 como si incluyera tales características implicaría atribuirle enseñanzas técnicas que no contiene, lo cual está expresamente proscrito por la jurisprudencia andina.

Por su parte, el documento D2, aun cuando describe tratamientos químicos de superficies de poliestireno, lo hace con una finalidad técnica completamente distinta, orientada a la inmovilización covalente de enzimas mediante nanopartículas funcionalizadas. D2 no divulga un sustrato activo para SERS, no aborda la amplificación de la señal Raman, no contempla una geometría de pozos para análisis espectroscópico ni describe la selección y fijación de nanoestructuras metálicas con fines de generación de señal SERS homogénea. Pretender extraer de D2 una enseñanza relativa al sustrato reivindicado requeriría descontextualizar su contenido y reconfigurarlo artificialmente a la luz de la invención, en abierta contradicción con el criterio del Tribunal.

En consecuencia, cualquier intento de derivar desde D1 o D2 la configuración técnica reivindicada (o de interpretar dichos documentos de manera tal que se asemejen artificialmente al sustrato propuesto) constituiría una reconstrucción técnica inadmisibles, basada en inferencias *ex post facto*. Dado que el análisis de novedad debe limitarse estrictamente a lo efectivamente divulgado, y que ninguno de los documentos revela de forma directa y completa la solución reivindicada, la objeción de falta de novedad carece de sustento jurídico conforme al artículo 16 de la Decisión 486 y a la jurisprudencia reiterada del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina.

10. Improcedencia de combinaciones implícitas para fundamentar una objeción por falta de novedad.

El Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina ha sostenido de forma reiterada que el análisis del requisito de novedad debe limitarse estrictamente a la comparación entre la invención reivindicada y un único documento del estado de la técnica, verificando si dicho documento divulga de manera directa, completa, suficiente y unitaria todos los elementos técnicos que conforman la solución reclamada. En la Interpretación Prejudicial 237-IP-2017, el Tribunal enfatizó que la pérdida de novedad no puede derivarse de la integración de enseñanzas provenientes de múltiples referencias, pues tal ejercicio corresponde exclusivamente al examen de nivel inventivo. La evaluación de la novedad exige, por tanto, una coincidencia integral dentro de un solo texto, sin ensamblajes conceptuales o técnicos provenientes de documentos distintos.

Bajo este criterio, la Oficina no puede complementar lo enseñado por un documento con fragmentos tomados de otro, aun cuando pudiera parecer técnicamente plausible que ambas configuraciones funcionen conjuntamente. La prohibición de combinar referencias resulta especialmente relevante cuando los documentos citados pertenecen a ámbitos técnicos distintos o abordan problemas técnicos diferentes, como ocurre en el presente caso. Admitir tales combinaciones implicaría incurrir en una apreciación retrospectiva, contraria a lo reiterado por el Tribunal en la Interpretación Prejudicial 475-IP-2022, en la cual se precisó que el análisis de novedad debe excluir cualquier deducción orientada a suplir elementos ausentes en el arte previo.

Aplicado al presente caso, ninguno de los documentos citados por la Oficina, considerado de manera individual, divulga la configuración técnica integral del sustrato SERS reivindicado. En particular, el documento D1 no describe ni anticipa una placa estructurada con múltiples pozos, conformada mediante la combinación específica de polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno, ni un procedimiento que comprenda la activación química del fondo de los pozos mediante nitración y silanización, seguida de la fijación homogénea y estable de nanoestructuras metálicas activas para SERS. Estas características técnicas esenciales no se encuentran reveladas de forma explícita ni implícita en D1.

Por su parte, el documento D2, aun cuando describe tratamientos químicos aplicados a superficies de poliestireno, lo hace con una finalidad técnica diferente, orientada a la inmovilización de enzimas mediante nanopartículas funcionalizadas. D2 no divulga un sustrato activo para SERS, no aborda la amplificación de la señal Raman, no contempla una geometría de pozos para análisis espectroscópico ni enseña la fijación de nanoestructuras metálicas seleccionadas por su actividad SERS. En consecuencia, D2 no contiene los elementos técnicos necesarios para reproducir la solución reivindicada.

Aun en el evento hipotético de que se intentara complementar D1 con enseñanzas parciales extraídas de D2 (lo cual ya sería improcedente), tal combinación no podría servir de fundamento para una objeción por falta de novedad, dado que la novedad solo puede cuestionarse mediante la revelación íntegra contenida en un único documento, y nunca mediante un ensamblaje artificial entre referencias aisladas.

Intentar aproximar el contenido de D1 o D2 a la invención reivindicada mediante combinaciones implícitas o inferencias técnicas constituiría una reconstrucción retrospectiva inadmisibles, expresamente proscrita por la jurisprudencia comunitaria. Ninguno de los documentos revela la

totalidad de las características técnicas esenciales del sustrato SERS reivindicado, ni su estructura, ni su modo de fabricación, ni el efecto técnico combinado alcanzado.

11. Irrelevancia de menciones genéricas o listas abiertas frente a una invención estructurada

En materia de novedad, el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina ha precisado que no basta con que un documento del estado de la técnica contenga referencias genéricas, enumeraciones amplias de posibles componentes o listas abiertas de variantes tecnológicas para destruir la novedad de una invención. El análisis debe centrarse en determinar si el documento previo divulga una configuración concreta, estructurada y funcionalmente equivalente a la que ha sido reivindicada. En la Interpretación Prejudicial 237-IP-2017, el Tribunal enfatizó que las menciones abstractas o generales no afectan la novedad de una invención definida por una estructura técnica específica y por relaciones funcionales claramente establecidas entre sus componentes.

Aplicado al presente caso, los documentos citados por la Oficina (y en particular D1) pueden contener referencias generales a superficies, sustratos, soportes, materiales poliméricos o posibles configuraciones analíticas, así como menciones amplias a distintos tipos de matrices o tratamientos superficiales. Sin embargo, tales referencias aparecen como enumeraciones abiertas de opciones posibles, sin describir una arquitectura técnica concreta que corresponda al sustrato SERS estructurado reivindicado en la presente solicitud.

En efecto, D1 no divulga una placa con múltiples pozos definidos geométricamente, ni la combinación específica de polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno, ni una secuencia técnica que comprenda la activación química del fondo de los pozos mediante nitración y silanización, seguida de la fijación homogénea de nanoestructuras metálicas seleccionadas por su actividad SERS. Las menciones genéricas a posibles materiales, superficies o tratamientos no se traducen en la enseñanza de una estructura organizada, en la que cada elemento cumple una función técnica específica dentro de un sistema integrado destinado a la amplificación homogénea y reproducible de la señal Raman.

La presente solicitud reivindica una arquitectura técnica definida y verificable, en la que se articulan de manera precisa:

- (a) una geometría de pozos que facilita el depósito controlado de la muestra;
- (b) una estructura polimérica híbrida que combina PDMS y poliestireno;
- (c) una activación química específica del fondo de los pozos para permitir anclaje superficial; y
- (d) una capa homogénea de nanoestructuras metálicas activas en SERS, cuya disposición permite la generación reproducible de *hot spots* y una respuesta espectroscópica uniforme.

Esta configuración técnica no se desprende de ninguna lista abierta, mención genérica o catálogo de alternativas contenido en D1 o en los demás documentos citados. El hecho de que el estado de la técnica mencione, de forma aislada, conceptos como “superficie polimérica”, “tratamiento químico”, “nanopartículas” o “soportes para espectroscopía” no equivale a divulgar la disposición concreta, la secuencia de fabricación ni la integración funcional que caracterizan al sustrato reivindicado.

Conforme al artículo 16 de la Decisión 486, la novedad únicamente se pierde cuando la estructura reivindicada se encuentra clara y completamente revelada en un único documento previo, con

identidad tanto estructural como funcional. Dicha identidad no puede construirse a partir de menciones genéricas, listas abiertas o referencias conceptuales, que no describen la disposición concreta de los componentes ni el flujo técnico que los articula.

12. Nivel inventivo del proceso

El señor Examinador sostiene que las características técnicas definidas en las reivindicaciones independientes podrían derivarse de manera evidente a partir de una combinación de las enseñanzas de los documentos D1 (WO2010033267A2) y D2 (Kumar et al., 2020). Con el debido respeto, dicha conclusión no resulta jurídicamente ni técnicamente sostenible, en la medida en que parte de una formulación incorrecta del problema técnico objetivo, presume una motivación técnica inexistente y se apoya en una reconstrucción retrospectiva (ex post facto) del estado de la técnica, expresamente prohibida por la jurisprudencia comunitaria.

De conformidad con la doctrina reiterada del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, en particular la Interpretación Prejudicial 141-IP-2014, el análisis del nivel inventivo exige determinar si la solución reivindicada habría resultado evidente para una persona versada en la materia, partiendo del estado de la técnica más cercano, sin conocimiento previo de la invención y sin razonamientos retrospectivos. En el presente caso, tales condiciones no se cumplen.

12.1 Estado de la técnica más cercano y diferencias reales

El propio Examinador identifica correctamente a D1 como el estado de la técnica más cercano para el sustrato SERS, dado que divulga una estructura en forma de placa con pozos y la disposición de nanoestructuras metálicas en el fondo de dichos pozos. No obstante, también reconoce expresamente que D1 no divulga que los fondos de los pozos sean nitrados y silanizados, característica que constituye la diferencia técnica esencial frente a la invención reivindicada.

Esta diferencia no es meramente formal ni arbitraria, sino que responde a un problema técnico concreto no abordado por D1, a saber: cómo lograr un anclaje químicamente estable, homogéneo y reproducible de nanoestructuras metálicas activas para SERS, que permita reducir la variabilidad espacial de la señal Raman y mejorar la reproducibilidad inter-pozos.

12.2. Error en la formulación del problema técnico objetivo

El Examinador formula el problema técnico objetivo en los siguientes términos: “¿*Cómo modificar el material conocido en D1 con el fin de proporcionar otro sustrato alternativo?*?”. Esta formulación es jurídicamente incorrecta conforme a la doctrina del Tribunal, ya que no refleja una limitación técnica objetiva del estado de la técnica, sino que se construye a partir de la solución misma, reduciendo indebidamente el análisis a una simple “alternativa”.

Tal como lo ha precisado el Tribunal en la Interpretación Prejudicial 371-IP-2021, el problema técnico objetivo no puede formularse como una invitación a modificar o variar lo conocido, sino que debe derivarse de una deficiencia técnica concreta del arte previo. En este caso, D1 no resuelve ni identifica el problema de la adhesión química controlada y estable de las nanoestructuras metálicas al fondo polimérico de los pozos, ni el impacto de dicha adhesión en la reproducibilidad SERS.

El problema técnico objetivo correctamente formulado es, por tanto:

¿Cómo obtener un sustrato SERS con pozos poliméricos que permita el anclaje químicamente estable y homogéneo de nanoestructuras metálicas activas, mejorando la reproducibilidad y uniformidad de la señal Raman respecto de los sustratos conocidos?

Este problema no está planteado ni resuelto en D1, ni tampoco en D2.

12.3. Inexistencia de motivación técnica para combinar D1 y D2

El Examinador sostiene que la persona versada en la materia estaría motivada a incorporar los procesos de nitración y silanización descritos en D2 al sustrato de D1. Sin embargo, esta afirmación carece de sustento técnico objetivo.

El documento D2 se inscribe en un campo técnico distinto, orientado a la inmovilización de enzimas sobre placas de poliestireno, con una finalidad bioquímica completamente ajena a la problemática de amplificación SERS, generación de hot spots o reproducibilidad espectroscópica. En D2, la nitración y silanización tienen como único propósito facilitar el anclaje de biomoléculas, no optimizar propiedades ópticas ni electromagnéticas asociadas a SERS.

Tal como ha señalado el Tribunal en la Interpretación Prejudicial 475-IP-2022, la combinación de documentos del estado de la técnica solo es admisible cuando existe una motivación técnica clara, objetiva y verificable, dirigida a resolver el mismo problema técnico. En el presente caso:

- D1 se orienta a estructuras SERS con pozos, sin abordar la química superficial del anclaje.
- D2 se orienta a bioinmovilización en poliestireno, sin relación con SERS.

No existe en D1 indicación alguna que lleve al experto a buscar soluciones en el campo de la inmovilización enzimática, ni en D2 enseñanza alguna que sugiera su aplicabilidad a la optimización de sustratos SERS. La supuesta motivación solo surge con conocimiento previo de la invención, lo cual constituye un razonamiento ex post facto inadmisibles.

12.4. Carácter no evidente del efecto técnico alcanzado

La invención reivindicada no se limita a aplicar aisladamente etapas conocidas, sino que introduce una secuencia técnica específica y funcionalmente integrada, en la que:

- (a) se conforma una matriz híbrida PDMS/poliestireno con geometría de pozos;
- (b) se activa químicamente el fondo de los pozos mediante nitración controlada;
- (c) se silaniza la superficie activada para introducir grupos de anclaje funcionales; y
- (d) se fijan nanoestructuras metálicas activas en SERS de manera homogénea y estable.

Esta combinación genera un efecto técnico no previsible a partir del estado de la técnica: un sustrato SERS con mayor estabilidad de anclaje, mejor uniformidad superficial y mayor reproducibilidad de la

señal Raman entre pozos, efecto que no se deriva ni de D1 ni de D2 considerados aisladamente, ni de su combinación sin conocimiento previo de la invención.

Conforme a la Interpretación Prejudicial 141-IP-2014, el nivel inventivo se configura cuando la invención establece una relación funcional nueva entre elementos conocidos, produciendo un resultado técnico que no era evidente para el experto. Ese es exactamente el caso de la presente solicitud.

13. Incompatibilidad funcional y de propósito entre D1 y D2

Uno de los elementos determinantes para descartar la combinación de los documentos D1 y D2 como fundamento para cuestionar el nivel inventivo de la presente solicitud radica en la divergencia sustancial de propósito técnico, enfoque metodológico y lógica funcional que caracteriza a cada uno de dichos antecedentes, aun cuando ambos se relacionen de manera amplia con superficies poliméricas o con aplicaciones en contextos analíticos o biomédicos.

En efecto, el documento D1 (WO2010033267A2) se orienta específicamente al diseño estructural de sustratos SERS, describiendo placas con múltiples pozos destinadas al análisis espectroscópico, en las que se disponen nanoestructuras metálicas activas para la amplificación de la señal Raman. El enfoque de D1 es fundamentalmente geométrico y estructural, centrado en la disposición de los pozos, la distribución de las nanoestructuras y la obtención de señales SERS reproducibles a partir de dicha arquitectura. Sin embargo, D1 no aborda la química superficial del fondo de los pozos, no identifica problemas asociados al anclaje químico de las nanoestructuras, ni propone tratamientos específicos de activación química del sustrato que mejoren la estabilidad o uniformidad del recubrimiento metálico.

Por su parte, el documento D2 corresponde a un artículo científico de naturaleza experimental, enfocado en la modificación química de superficies de poliestireno mediante nitración y silanización, con el objetivo de inmovilizar biomoléculas (enzimas) a través de enlaces covalentes estables. El propósito técnico de D2 es bioquímico y funcional, orientado a la creación de superficies activadas para ensayos enzimáticos o biosensores, sin relación alguna con la amplificación SERS, la generación de *hot spots*, ni la optimización de señales Raman. D2 no describe sustratos SERS, no contempla geometrías de pozos para espectroscopía, ni evalúa efectos ópticos, electromagnéticos o espectrales asociados a nanoestructuras metálicas.

Así, aunque ambos documentos se inscriben de manera general en el ámbito de materiales poliméricos funcionalizados, responden a problemas técnicos radicalmente distintos:

- D1 se orienta al diseño estructural de sustratos SERS, sin profundizar en la química de activación superficial ni en el anclaje covalente de nanoestructuras.
- D2 se orienta a la activación química de poliestireno para inmovilización enzimática, sin considerar aplicaciones SERS ni efectos espectroscópicos.

Desde esta perspectiva, la combinación de sus enseñanzas exigiría trasladar procedimientos desarrollados para bioinmovilización enzimática (D2) a un contexto de amplificación Raman (D1), sin que exista en ninguno de los documentos una sugerencia explícita o implícita que justifique dicho

traslado. Tal operación no se desprende de manera natural ni lógica del estado de la técnica, y solo puede concebirse con conocimiento previo de la invención.

Tal como lo ha señalado el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina en la Interpretación Prejudicial 589-IP-2016, no puede considerarse evidente una invención cuando los documentos que se pretenden combinar no responden al mismo problema técnico ni persiguen una finalidad coincidente, dado que en tal escenario no existe una motivación técnica objetiva que conduzca al experto en la materia a integrar sus enseñanzas.

Asimismo, conforme a lo precisado en la Interpretación Prejudicial 371-IP-2021, el análisis de nivel inventivo debe partir del estado de la técnica más cercano y de sus deficiencias reales. En el presente caso, D1 no reconoce el problema del anclaje químico estable y homogéneo de nanoestructuras metálicas, y D2 no reconoce problema alguno relacionado con reproducibilidad SERS o amplificación espectroscópica. Ninguno de los documentos identifica la necesidad de combinar activación química superficial con arquitecturas SERS estructuradas para resolver un problema común.

Desde el punto de vista de una persona versada en la materia, no existiría motivación técnica razonable para combinar:

- (i) un documento orientado al diseño estructural de sustratos SERS sin tratamiento químico específico del fondo de los pozos, con
- (ii) un documento orientado a la inmovilización enzimática sobre poliestireno mediante nitración y silanización,

para arribar a un sustrato SERS químicamente activado como el reivindicado.

Como ha reiterado el Tribunal en las Interpretaciones Prejudiciales 141-IP-2014 y 475-IP-2022, toda combinación de documentos que solo resulta posible a partir del conocimiento previo de la invención constituye un razonamiento retrospectivo (*ex post facto*), incompatible con el examen objetivo del nivel inventivo exigido por el artículo 18 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina.

En consecuencia, la incompatibilidad funcional y de propósito entre D1 y D2 impide considerarlos combinables de manera legítima para cuestionar el nivel inventivo de la presente solicitud. No resulta jurídicamente ni técnicamente válido suponer que una persona versada en la materia, enfrentada al problema técnico efectivamente resuelto por la invención (esto es, obtener un sustrato SERS con anclaje químicamente estable y reproducible de nanoestructuras metálicas) encontraría en D1 y D2 enseñanzas compatibles o convergentes que la condujeran de manera evidente a la solución reivindicada.

14. Ausencia de motivación técnica para combinar las enseñanzas de D1 y D2

Más allá de la incompatibilidad funcional y de propósito previamente expuesta entre los documentos D1 y D2, resulta igualmente determinante destacar la ausencia total de motivación técnica objetiva que pudiera conducir a una persona versada en la materia a combinar sus enseñanzas para arribar al sustrato SERS reivindicado en la presente solicitud.

De conformidad con los criterios desarrollados por el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, en particular en la Interpretación Prejudicial 141-IP-2014, el examen del nivel inventivo no se limita a verificar si elementos aislados de la invención pueden encontrarse dispersos en el estado de la técnica, sino que exige determinar si el experto en la materia habría contado con una razón técnica clara, previa y funcional para integrar tales elementos con el fin de resolver un mismo problema técnico. Dicha motivación no puede construirse a posteriori, sino que debe desprenderse directamente del contenido, finalidad y lógica interna de los documentos citados.

En el presente caso, ni D1 ni D2 identifican, reconocen o plantean el problema técnico efectivamente resuelto por la invención, esto es, la necesidad de obtener un sustrato SERS con anclaje químicamente estable, homogéneo y reproducible de nanoestructuras metálicas, que permita mejorar la uniformidad de la señal Raman y reducir la variabilidad inter-pozos asociada a la fijación superficial de dichas nanoestructuras.

El documento D1 (WO2010033267A2) se limita al diseño estructural de sustratos SERS con pozos, abordando aspectos geométricos y de disposición física de las nanoestructuras metálicas, pero sin analizar ni problematizar la química superficial del fondo de los pozos, ni la estabilidad del anclaje de las nanoestructuras, ni los efectos de dicha química sobre la reproducibilidad espectroscópica. En consecuencia, D1 no ofrece indicio alguno que motive al experto a buscar soluciones en el ámbito de la activación química del sustrato polimérico, ni mucho menos a incorporar procesos de nitración y silanización como los descritos en D2.

Por su parte, el documento D2, en su carácter de artículo científico experimental, describe procedimientos de nitración y silanización de superficies de poliestireno con el objetivo específico de inmovilizar biomoléculas (enzimas) mediante enlaces covalentes estables. D2 no se inscribe en el campo de los sustratos SERS, no aborda problemas de amplificación Raman, no analiza efectos electromagnéticos ni espectroscópicos, y no sugiere en modo alguno que tales tratamientos químicos puedan emplearse para optimizar la fijación de nanoestructuras metálicas con fines SERS. Tal como lo ha precisado el Tribunal en la Interpretación Prejudicial 589-IP-2016, los documentos de carácter descriptivo o experimental orientados a finalidades distintas no constituyen una base técnica suficiente para derivar de manera evidente una solución específica en un campo técnico diferente.

Desde esta perspectiva, no existe una relación lógica, funcional ni teleológica entre las enseñanzas de D1 y D2 que permita al experto en la materia inferir que su combinación conduciría al sustrato reivindicado. Como ha señalado el Tribunal en la Interpretación Prejudicial 371-IP-2021, la combinación de documentos solo es legítima cuando ambos responden al mismo problema técnico, o cuando uno de ellos aporta una solución parcial claramente aplicable al problema abordado por el otro. Ninguna de estas circunstancias se presenta en el caso analizado.

Por el contrario, una eventual combinación de D1 y D2 exigiría asumir, sin fundamento técnico previo, que un procedimiento desarrollado para bioinmovilización enzimática sobre poliestireno (D2) resulta directamente aplicable a la optimización del anclaje de nanoestructuras metálicas activas en SERS dentro de una arquitectura de pozos (D1). Esta suposición no se desprende de los objetivos, principios de funcionamiento ni resultados esperados de los documentos citados, y solo sería concebible a partir del conocimiento previo de la invención.

Tal como lo ha reiterado el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina en la Interpretación Prejudicial 475-IP-2022, toda combinación que requiera reconstruir el estado de la técnica utilizando la invención como guía constituye un razonamiento retrospectivo (*ex post facto*), incompatible con el análisis objetivo del nivel inventivo exigido por el artículo 18 de la Decisión 486.

Así, la ausencia de motivación técnica razonable para combinar las enseñanzas de D1 y D2 confirma que la solución reivindicada no se deriva de manera evidente del estado de la técnica, careciendo la persona versada en la materia de una expectativa razonable de éxito para arribar al sustrato SERS propuesto. Por tanto, la presente invención cumple plenamente con el requisito de nivel inventivo, conforme a lo dispuesto en el artículo 18 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina.

15. Ausencia de características triviales o evidentes en la configuración técnica reivindicada

En relación con el requisito de nivel inventivo previsto en el artículo 18 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina, resulta necesario precisar que la invención reivindicada no incorpora características triviales, rutinarias ni derivables de manera directa del estado de la técnica, ni consideradas de forma aislada ni mediante una hipotética combinación de documentos previos como D1 y D2.

La memoria descriptiva pone de manifiesto una configuración técnica compleja e integrada, estructurada como un sustrato SERS con pozos, en el que la geometría, la selección de materiales, la activación química superficial y la fijación de nanoestructuras metálicas cooperan funcionalmente para resolver un problema técnico específico no abordado previamente en el estado de la técnica: obtener un anclaje químicamente estable, homogéneo y reproducible de nanoestructuras metálicas activas en SERS, capaz de mejorar la uniformidad y reproducibilidad de la señal Raman entre pozos.

En particular, la invención reivindicada articula de manera sinérgica y no trivial:

- (a) la conformación de una placa estructurada con múltiples pozos destinados al análisis espectroscópico;
- (b) la utilización de una matriz híbrida que combina polidimetilsiloxano (PDMS) y poliestireno, asignando a cada material una función técnica específica dentro del sustrato;
- (c) la activación química controlada del fondo de los pozos mediante un proceso de nitración, generando grupos funcionales reactivos en la superficie;
- (d) la silanización posterior del fondo nitrado, introduciendo grupos de anclaje químicamente compatibles con las nanoestructuras metálicas; y
- (e) la fijación homogénea y estable de nanoestructuras metálicas activas para SERS, capaces de generar *hot spots* reproducibles y una señal Raman uniforme.

Cada una de estas etapas, considerada de manera aislada, podría corresponder a técnicas conocidas en contextos distintos; sin embargo, su integración funcional específica dentro de un mismo sustrato SERS estructurado no se desprende de manera evidente del estado de la técnica. Tal como lo ha precisado el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina en la Interpretación Prejudicial 141-IP-2014, el nivel inventivo no se excluye por el hecho de que ciertos elementos individuales sean conocidos, cuando su combinación produce una solución técnica que no era previsible para la persona versada en la materia.

La no trivialidad de la invención se refuerza por el hecho de que la configuración reivindicada no se limita a una modificación superficial o a una simple sustitución de materiales, sino que introduce una secuencia técnica específica de activación química y anclaje, cuyo efecto conjunto es mejorar de manera significativa la estabilidad del recubrimiento metálico y la reproducibilidad espectroscópica del sustrato, efecto que no se encuentra anticipado ni sugerido en D1, que carece de activación química del fondo de los pozos, ni en D2, que se orienta a la inmovilización enzimática con una finalidad técnica distinta.

Como ha reiterado el Tribunal en la Interpretación Prejudicial 371-IP-2021, una configuración técnica no puede considerarse evidente cuando introduce una relación funcional distinta entre elementos conocidos, produciendo un efecto técnico cualitativamente diferente al esperado a partir del estado de la técnica. En el presente caso, la relación funcional entre geometría de pozos, activación química del poliestireno y fijación de nanoestructuras metálicas SERS excede claramente una aplicación rutinaria de técnicas conocidas.

Asimismo, conforme a la Interpretación Prejudicial 589-IP-2016, no puede calificarse como obvia una solución que exige decisiones técnicas específicas sobre cómo tratar químicamente una superficie polimérica, cómo compatibilizar dicha superficie con nanoestructuras metálicas y cómo integrar estos elementos dentro de una arquitectura SERS estructurada para obtener un efecto técnico concreto. La configuración reivindicada no surge de una optimización incremental de D1 o D2, sino de una concepción técnica distinta, orientada a resolver un problema no identificado en dichos documentos.

En definitiva, el valor inventivo de la presente invención radica en la organización funcional novedosa de elementos estructurales y químicos dentro de un sustrato SERS con pozos, que produce un efecto técnico no anticipable: un anclaje químicamente estable y reproducible de nanoestructuras metálicas activas, con mejora sustancial de la uniformidad y reproducibilidad de la señal Raman. Dicha configuración no resulta evidente para una persona versada en la materia y satisface plenamente el requisito de nivel inventivo, conforme al artículo 18 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina.

16. Efecto técnico distinto y no previsible

Finalmente, la combinación de características técnicas que conforman la presente invención produce un efecto técnico distinto y no previsible para una persona versada en la materia. La invención no consiste en la mera yuxtaposición de técnicas conocidas, sino en la articulación funcional de una arquitectura SERS estructurada, en la que la geometría del sustrato, la selección de materiales poliméricos y la activación química superficial cooperan para resolver un problema técnico que no estaba identificado ni abordado en el estado de la técnica.

En particular, la invención logra de manera conjunta:

a) Un anclaje químicamente estable y homogéneo de nanoestructuras metálicas activas en SERS, mediante la activación controlada del fondo de los pozos por nitración y silanización, lo que evita desprendimientos, agregación no controlada y variabilidad superficial;

b) Una mejora sustancial en la reproducibilidad espectroscópica, tanto intra-pozo como inter-pozos, derivada de la fijación covalente y uniforme de las nanoestructuras metálicas sobre una superficie químicamente funcionalizada;

c) Una reducción significativa de la variabilidad de la señal Raman, al favorecer la generación controlada y repetible de *hot spots*, superando las limitaciones asociadas a sustratos en los que las nanoestructuras se depositan por adsorción física o sin tratamiento químico previo del soporte; y

d) Una mayor estabilidad mecánica y química del sustrato SERS, que permite su manipulación, almacenamiento y reutilización sin pérdida significativa de desempeño espectroscópico.

Estos efectos técnicos no pueden deducirse de manera directa ni evidente a partir de las enseñanzas individuales de los documentos citados por la Oficina. En efecto:

– El documento D1 (WO2010033267A2) describe sustratos SERS con geometría de pozos y presencia de nanoestructuras metálicas, pero no aborda la química superficial del fondo de los pozos, ni reconoce el problema del anclaje inestable o la variabilidad asociada a la fijación de dichas nanoestructuras;

– El documento D2 describe procesos de nitración y silanización de poliestireno con fines de inmovilización enzimática, sin considerar aplicaciones SERS, sin analizar efectos espectroscópicos y sin sugerir que tales tratamientos puedan emplearse para optimizar la fijación de nanoestructuras metálicas activas en Raman.

Ninguno de estos documentos sugiere que la combinación funcional de:

1. (i) una arquitectura de pozos para SERS,
2. (ii) una matriz híbrida PDMS/poliestireno, y
3. (iii) una activación química secuencial del fondo de los pozos,

pueda conducir a un sustrato SERS con desempeño superior en términos de estabilidad y reproducibilidad, ni mucho menos que dicha combinación produzca un efecto técnico sinérgico distinto al esperado de la simple suma de sus componentes.

Los resultados alcanzados por la presente invención constituyen, por tanto, un efecto técnico inesperado, derivado de la interacción cooperativa entre geometría estructural, química superficial y nanoestructuras metálicas, que hasta el momento se empleaban de forma aislada o con finalidades distintas. El sustrato reivindicado supera claramente el rendimiento previsible de los sustratos SERS conocidos, introduciendo una solución técnica cualitativamente superior.

De conformidad con la doctrina reiterada del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, en particular en las Interpretaciones Prejudiciales 141-IP-2014 y 371-IP-2021, existe nivel inventivo cuando la combinación de elementos conocidos produce un efecto técnico distinto y no anticipable para una persona versada en la materia. En el presente caso, la invención satisface plenamente dicho criterio, pues no representa una simple variación del estado de la técnica, sino una solución técnica innovadora que redefine la forma de obtener sustratos SERS estables, homogéneos y reproducibles.

17. Conclusión

A la luz de los argumentos técnicos y jurídicos desarrollados a lo largo del presente escrito, y conforme a los criterios interpretativos reiteradamente establecidos por el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina en la aplicación de los artículos 16 y 18 de la Decisión 486 de 2000, se concluye que la invención reivindicada en la solicitud NC2022/0011604 cumple plenamente con los requisitos sustantivos de patentabilidad exigidos por la normativa comunitaria andina.

En relación con el requisito de novedad, se ha demostrado de manera clara, suficiente y técnicamente fundamentada que ninguno de los documentos citados por la Oficina, considerados de forma individual, revela de manera directa, completa, inequívoca y unitaria la configuración técnica del sustrato SERS reivindicado, ni la combinación funcional de características que lo definen. En particular, el estado de la técnica no divulga un sustrato que integre simultáneamente:

- (a) una placa estructurada con múltiples pozos destinada al análisis espectroscópico;
- (b) una matriz híbrida de polidimetilsiloxano y poliestireno, en la que cada material cumple una función técnica diferenciada;
- (c) la activación química específica del fondo de los pozos mediante un proceso de nitración;
- (d) la silanización posterior del fondo activado, destinada a introducir grupos funcionales de anclaje; y
- (e) la fijación homogénea y químicamente estable de nanoestructuras metálicas activas para SERS.

En consecuencia, no se configura anticipación alguna en los términos exigidos por el artículo 16 de la Decisión 486, ni conforme a la doctrina vinculante del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina sobre divulgación integral y unitaria del estado de la técnica.

Asimismo, en lo que respecta al requisito de nivel inventivo, se ha acreditado que la solución técnica reivindicada no resulta evidente para una persona versada en la materia, ni a partir del documento D1, ni del documento D2, ni mediante una eventual combinación de ambos. Dichos documentos responden a problemas técnicos distintos, persiguen finalidades no coincidentes y se inscriben en enfoques técnicos incompatibles, sin que exista una motivación técnica objetiva y razonable que conduzca al experto a integrar sus enseñanzas para arribar a la configuración reivindicada.

En particular, mientras D1 se limita a describir sustratos SERS con geometría de pozos sin abordar la química superficial del fondo ni el problema del anclaje estable de nanoestructuras metálicas, D2 se orienta a la activación química de poliestireno para inmovilización enzimática, sin relación alguna con la amplificación Raman, la reproducibilidad espectroscópica ni la generación controlada de *hot spots*. La combinación de ambos documentos solo sería posible mediante un razonamiento retrospectivo (*ex post facto*), expresamente proscrito por la jurisprudencia comunitaria.

La invención reivindicada introduce una configuración técnica no trivial, en la que la geometría estructural del sustrato, la selección de materiales poliméricos y la activación química secuencial del fondo de los pozos cooperan funcionalmente para producir un efecto técnico distinto y no previsible, consistente en un anclaje químicamente estable, homogéneo y reproducible de nanoestructuras metálicas activas en SERS, con mejora sustancial de la uniformidad y reproducibilidad de la señal Raman. Este efecto técnico no se desprende de manera evidente del estado de la técnica citado.

De conformidad con la doctrina reiterada del Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, en particular en las Interpretaciones Prejudiciales 141-IP-2014 y 371-IP-2021, existe nivel inventivo cuando la combinación de elementos conocidos produce un resultado técnico cualitativamente distinto y no anticipable para la persona versada en la materia, condición que se cumple plenamente en el presente caso.

La invención objeto del expediente NC2022/0011604 constituye, además, una solución técnica concreta, reproducible y técnicamente verificable, aplicable al desarrollo de sustratos SERS de alta estabilidad y reproducibilidad, superando las limitaciones de los sustratos conocidos en cuanto a variabilidad superficial y fijación de nanoestructuras metálicas.

En virtud de todo lo anterior, se solicita respetuosamente que la Superintendencia de Industria y Comercio tenga por debidamente atendidas las observaciones formuladas en el requerimiento de fondo y, en consecuencia, continúe el trámite hacia la concesión de la patente solicitada, al verificarse el cumplimiento de los requisitos de novedad y nivel inventivo exigidos por la Decisión 486 de la Comunidad Andina

Atentamente,



Fredy S. Merino

C.C. 1043177293

T.P. 268742 del C.S. de la J.

Anexos: pliego reivindicatorio y capítulo descriptivo modificados.

5 **SUSTRATO DE NANO ESTRUCTURAS PARA LA AMPLIFICACIÓN DE SEÑALES
RAMAN Y PROCESO PARA SU CREACIÓN**

Campo de la invención

- 10 La presente invención pertenece a los campos de la bioquímica y la física. Particularmente en lo relacionado con la medición de entes biológicos por espectroscopía Raman y los materiales usados para los sustratos de análisis de muestras.

Estado de la técnica

- 15 En el estado de la técnica se encontró la patente US2003149153 que describe una “Matriz sólida para espectroscopia Raman de superficie mejorada”. El método comprende mezclar una solución de metal coloidal con un medio de soporte polimérico para formar una suspensión; depositando opcionalmente dicha suspensión sobre una superficie; y luego secar la suspensión para formar la matriz.
- 20 La patente US6149868 que describe “Sustrato tipo sándwich de nanopartículas metálicas - analito - metal noble, para espectroscopia Raman de superficie aumentada”. Que consiste en una estructura a escala nanométrica para la dispersión Raman de superficie mejorada (SERS) que comprende tres componentes proximales: (a) un sustrato de metal activo en SERS (b) una nanopartícula de metal coloidal (c) un analito intercalado entre el sustrato y
- 25 la partícula de tal manera que la distancia más corta entre la superficie de la nanopartícula metálica y la superficie del sustrato metálico tiene entre 1 y 50 nanómetros.

- Finalmente, la patente US6514767 que identifica “Compuesto activo de nanopartículas para espectroscopía de superficie mejorada”. Que comprende un método y un compuesto a partir de la determinación de qué las nanopartículas de metal asociadas con un analito
- 30 espectroscópico activo y rodeadas por un encapsulante son útiles como etiquetas ópticas sensibles detectables por espectroscopía de superficie mejorada.

Ninguno de los casos citados del estado de la técnica comprende una metodología que comprometa el nivel inventivo o la novedad de la solución presentada. Si bien es una

- 5 práctica relativamente común el uso de nanopartículas metálicas para la realización de espectroscopía Raman de superficie mejorada, la creación de un sustrato para el depósito de muestras biológicas, con las características técnicas, las mezclas y los materiales utilizados en la invención provista, no fueron encontrados en el estado de la técnica, así como tampoco el procedimiento para su elaboración.
- 10 A diferencia de las inversiones encontradas, la solución que se provee comprende un sustrato con forma de placa con pozos para el depósito de las muestras objeto de análisis; donde los pozos son de polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno y sus fondos son nitrados y silanizados. Todo ello a partir de un procedimiento de elaboración muy específico. Adicionalmente, los fondos de estos pozos están recubiertos de nanoestructuras generadas
- 15 a partir de nanopartículas metálicas que opcionalmente pueden ser de oro, cobre, plata y platino.

Breve descripción de la invención

- La misma consiste en el uso de polímeros sintéticos —como matriz de soporte— hechos
- 20 en poliestireno (PS) nitrado mejorado con silanización. Luego, se crea una monocapa de molécula de silano sobre la superficie de la matriz, permitiendo un crecimiento inducido de nanopartículas y nanoestructuras mediante la incidencia del láser directamente sobre las superficies. La interacción con el metal es una forma de asegurar el acercamiento de la molécula diana a la superficie.

25

Breve descripción de las figuras

- Figura 1.** La figura 1 muestra una vista superior y una vista lateral del sustrato con los
- 30 pozos.

Figura 2. Muestra un flujograma del proceso.

Descripción detallada de la invención

La Espectroscopía Raman, debido a los avances tecnológicos de las últimas décadas, ofrece herramientas importantes para el estudio de biomoléculas. Pero a pesar de estas evidentes ventajas, ésta técnica en condiciones normales está limitada a sistemas en los que factores como las bajas concentraciones y la presencia de fluorescencia dificultan los análisis de las muestras.

Los métodos existentes para la creación de sustratos activos en *surface-enhanced Raman spectroscopy* (SERS) o sustratos que amplifican la señal Raman, son extremadamente complejos y costosos. Entre otros, tenemos la metodología de disposición por plasma, la litografía electrónica, la electrodeposición, etc. Todas las alternativas mencionadas, generan un alto costo en el uso de la técnica SERS limitando el acceso a ésta y permitiendo su uso sólo en experimentos de alta complejidad y con una financiación considerable.

La invención propuesta es una alternativa de diferente composición consistente en un sustrato de bajo costo creado con materiales no tóxicos y con una metodología segura para el operario.

El sustrato (1) tiene una forma específica que facilita el análisis por intermedio de espectroscopía Raman. En una modalidad preferida de la invención, el sustrato consiste en una superficie de 77 mm la largo por 26 mm de ancho —lo que permite analizar muestras de hasta 50µL— que comprende al menos 27 pozos (2) dentro de los cuales se deposita la muestra a analizar.

Para la creación del sustrato, se utiliza un recipiente de poliestireno sobre el que se coloca un molde con altos relieves cilíndricos fijados sobre una placa, cuya profundidad y separación entre sí, determinan el volumen idóneo de microlitros de la muestra a analizar. En una aplicación preferida de la invención, estos cilindros tienen una altura y un diámetro de 4mm y una separación de 3mm entre sí y permiten el análisis de entre 5-50 microlitros de muestra.

Utilizar polímeros sintéticos como matriz de soporte representa ventajas como una mayor resistencia química y rentabilidad, así como mayor inercia frente al ataque microbiano.

5 Asimismo, de manera opcional, el polímero sintético propuesto es el poliestireno (PS) por ser no tóxico, de fácil disponibilidad, exhibir una excelente resistencia química y proporcionar rigidez mecánica.

Una vez colocado el molde dentro del recipiente de poliestireno, se procede a verter sobre él una preparación de polidimetilsiloxano transparente y ópticamente claro. Esta
10 preparación corresponde al polidimetilsiloxano tal como se suministra comercialmente para aplicaciones de moldeo, mezclado y curado según las prácticas usuales de laboratorio, lo que garantiza una consistencia fluida y homogénea adecuada para llenar completamente el molde y formar la matriz de pozos. La mezcla se manipula siguiendo los procedimientos convencionales empleados por el experto en la materia para preparar este tipo de polímeros
15 elastoméricos, de manera que, una vez vertida, conforma una película continua apta para su posterior solidificación.

La preparación de polidimetilsiloxano vertida en el molde se coloca en una bomba de vacío durante 15 minutos, con el fin de eliminar burbujas de aire que puedan haberse generado
20 durante el mezclado o el vertido. Esta etapa se ejecuta bajo las condiciones de vacío propias del equipo de laboratorio utilizado y responde al procedimiento estándar mediante el cual el experto en la materia asegura la formación de una matriz sólida libre de oclusiones internas que puedan afectar la obtención uniforme de los pozos. El resultado de esta operación se obtiene tras el reposo indicado, sin necesidad de parámetros adicionales para
25 lograr la solidificación homogénea del material. En otra aplicación de la invención, la preparación se somete a calentamiento de 50° durante 24 horas para lograr el mismo efecto de solidificación.

Luego se procede a retirar el molde (puede ser mediante corte) quedando entonces una
30 placa de pozos en polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno.

El fondo de los pozos debe nitrarse. Para la nitración del fondo de los pozos se agrega en cada uno un volumen de 40 µL de una mezcla de ácido nítrico (HNO₃ al 70 %) y ácido sulfúrico (H₂SO₄ al 98 %) durante un tiempo de 5 minutos. La mezcla se prepara
35 inmediatamente antes de su uso combinando los reactivos con sus concentraciones comerciales habituales, de modo que actúen como agente nitrante en la superficie del poliestireno. El procedimiento descrito permite que la superficie adquiera los grupos

5 funcionales necesarios para la etapa posterior de silanización, cumpliendo la función química prevista sin requerir parámetros adicionales.

Para la silanización de la matriz se aplica dentro de cada pozo ya nitrado, una solución de 40 μL de (3-aminopropil) trietoxisilano (APTES) al 2% diluida en etanol absoluto al 99.5%
10 durante 15 minutos y luego se enjuaga con etanol 2 veces. Adicionalmente, se lleva a secado en horno a 100°C durante 60 minutos y se deja reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos.

El nitrado del pozo obedece a la posibilidad de silanizarlo luego. Con ello se busca cambiar
15 la química del poliestireno para incrementar su adherencia y lograr que las nanopartículas metálicas queden fijadas al fondo.

Posteriormente se agregan 40 μL de una solución de CuSO_4 al 1% durante 5 minutos y se enjuaga con agua ultrapura al menos dos veces.

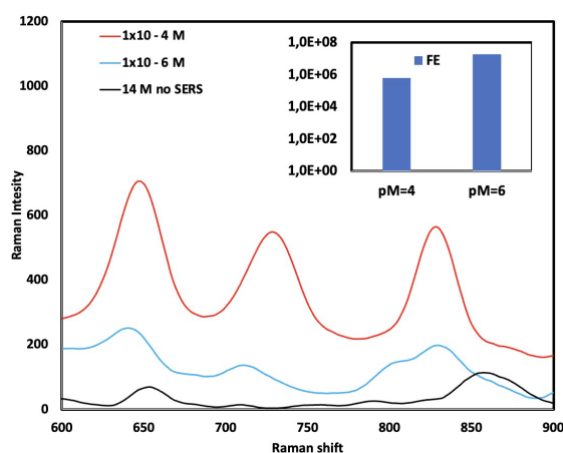
20 Luego, se mezclan una solución de 450 μL de HAuCl_4 5mM con 50-200 μL de citrato de sodio al 1% y se calienta a 80°C durante 5 minutos, donde el rango de citrato de sodio varia en dependencia del tamaño de partícula que se quiera lograr; se deja reposar de 12-24 horas; luego se centrifuga la solución a 8000 rpm y se descarta el sobrenadante y se
25 resuspende en agua hasta un volumen de 1mL; luego se vuelve a centrifugar a 6000 rpm y se vuelve a descartar el sobrenadante, resuspendiendo esta vez en 200 μL de agua ultrapura.

Se toman 40 μL de las nanopartículas de oro activas centrifugadas y se depositan en el
30 fondo del pozo permitiendo un crecimiento inducido de nanoestructuras por aglomeración de las nanopartículas en el fondo del pozo, que en una aplicación preferida de la invención son de oro, pero pueden ser de plata, platino o cobre.

El fondo de los pozos es plano y con un diámetro de, al menos 4mm, lo que permite la
35 fijación de las nanoestructuras de tal manera que toda la superficie del fondo del pozo queda homogéneamente recubierta. Esto implica que el láser dará los resultados esperados y sin ruido, sin importar el punto de la superficie donde incida.

5 EJEMPLO

En un ejemplo de aplicación de la solución, el sustrato se usó para analizar una muestra de fluido biológico —orina— por medio de espectroscopía Raman. Se tomó el sustrato preparado, se agregó en cada pozo una muestra diferente de un volumen aproximado de 40 µL de fluido; se enfocó el láser Raman en el fondo del pozo y se adquirió el espectro por, al menos, un segundo. Ello es posible ya que la actividad espectroscópica del sustrato es tan alta que disminuye considerable el tiempo de integración. En la realización de la invención, el factor de aumento (FE) fue de entre un millón y diez millones.



La figura es la comparación de la medición Raman de dos diferentes concentraciones (1x10⁻⁴ y 1x10⁻⁶ M) de 2-Mercaptoetanol sobre el sustrato vs el 2-Mercaptoetanol puro (14 M) sobre una lámina de oro (o sustrato). Esto muestra la eficiencia del sustrato y a partir de las intensidades y la concentración se calcula el factor de aumento el cual indica que tan activo es el sustrato para análisis Raman.

La ecuación para calcular el FE es:

$$EF = \frac{I_{SERS}}{I_{Raman}} \times \frac{N_{Raman}}{N_{SERS}}$$

Donde I_{SERS} es la intensidad de la señal Raman en el sustrato, N_{SERS} la concentración de la muestra, I_{Raman} es la señal sobre una superficie no activa, en este caso una lámina de oro y N_{Raman} la concentración que se tenía la muestra en esta condiciones.

REIVINDICACIONES

1. Método para la preparación de un sustrato de nanoestructuras, caracterizado porque comprende las etapas de:

a) colocar un molde con altos relieves cilíndricos en un recipiente de poliestireno, definiendo los pozos del sustrato;

b) verter una preparación de polidimetilsiloxano (PDMS) transparente y ópticamente claro dentro del recipiente;

c) reposar la preparación en bomba de vacío durante 15 minutos, con el fin de eliminar burbujas;

d) dejar reposar la preparación durante 48 horas a temperatura ambiente hasta su solidificación;

e) retirar el molde para obtener una placa de pozos en polidimetilsiloxano con fondo de poliestireno;

f) agregar a cada pozo un volumen de 40 μL de una mezcla de ácido nítrico (HNO_3 al 70 %) y ácido sulfúrico (H_2SO_4 al 98 %) durante 5 minutos para generar grupos nitrados;

g) enjuagar al menos tres veces con agua ultrapura;

h) aplicar dentro de cada pozo una solución de 40 μL de (3-aminopropil) trietoxisilano (APTES) al 2 % en etanol absoluto (99.5 %) durante 15 minutos para silanizar la superficie;

i) secar en horno a 100 °C durante 60 minutos y dejar reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos;

j) enjuagar dos veces con etanol;

k) agregar 40 μL de una solución de CuSO_4 al 1 % durante 5 minutos;

l) enjuagar con agua ultrapura dos veces; y

m) depositar 40 μL de nanopartículas metálicas activas centrifugadas seleccionadas entre oro, plata, cobre o platino, para generar nanoestructuras sobre el fondo del pozo.

2. Método de la reivindicación 1, caracterizado porque los pozos formados tienen 4 mm de diámetro, 4 mm de profundidad y una separación de 3 mm entre sí.

3. Sustrato de nanoestructuras obtenido mediante el método de la reivindicación 1, caracterizado por comprender:

a) una placa de PDMS con fondo de poliestireno (PS);

b) una multiplicidad de pozos cilíndricos (2);

c) fondos nitrados mediante la mezcla $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$;

d) fondos silanizados mediante APTES al 2 %;

e) fondos completamente recubiertos con nanoestructuras generadas a partir de nanopartículas metálicas seleccionadas entre oro, plata, cobre o platino.

4. Sustrato de la reivindicación 3, caracterizado porque los fondos de los pozos tienen un diámetro de al menos 4 mm, lo que permite un recubrimiento homogéneo de las nanoestructuras en toda la superficie.

5. Sustrato de la reivindicación 3, caracterizado porque las nanoestructuras se obtienen a partir de nanopartículas metálicas activas centrifugadas seleccionadas entre oro, plata, platino o cobre.