

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 612 751**

21 Número de solicitud: 201531661

51 Int. Cl.:

C07D 451/00 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 33/533 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

A01N 43/46 (2006.01)

12

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

R1

22 Fecha de presentación:

17.11.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

18.05.2017

68 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

06.07.2017

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (50.0%)**

C/ Serrano, 117

28006 Madrid ES y

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (50.0%)

72 Inventor/es:

ABAD FUENTES, Antonio;

MERCADER BADIA, Josep Vicent;

ABAD SOMOVILLA, Antonio;

AGULLÓ BLANES, Consuelo y

QUIÑONES REYES, Guillermo

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **PREPARACIÓN DE BIOCONJUGADOS Y ANTICUERPOS PARA LA INMUNODETECCIÓN DE ANATOXINA-A**

57 Resumen:

Preparación de bioconjugados y anticuerpos para la inmunodetección de anatoxina-a.

La presente invención se refiere a bioconjugados y derivados marcados de anatoxina-a, por posiciones diferentes de la molécula, adecuados para la producción de anticuerpos de elevada afinidad y especificidad para anatoxina-a. Asimismo, la presente invención también se refiere al uso de bioconjugados de anatoxina-a y de derivados marcados de anatoxina-a como antígenos de ensayo. Además, la presente invención también se refiere a métodos de análisis, concentración y extracción de anatoxina-a utilizando los anticuerpos obtenidos, en ocasiones junto con antígenos de ensayo que son bioconjugados o derivados marcados. Esta invención también proporciona un kit para analizar anatoxina-a que comprende anticuerpos frente a esta anatoxina, en ocasiones junto con antígenos de ensayo que son bioconjugados o derivados marcados de la anatoxina-a.

ES 2 612 751 R1



21 N.º solicitud: 201531661

22 Fecha de presentación de la solicitud: 17.11.2015

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

5 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	MARC, M. et al. "Synthesis of a (+)-anatoxin-a analogue for monoclonal antibodies production". Tetrahedron Letters 2009, Volumen 50, páginas 4554-4557. [Disponible en línea el 29.05.2009]. doi: 10.1016/j.tetlet.2009.05.094. Ver página 4554, columnas 1 y 2; figura 1.	1-4,14-17,19,20
Y		8-10,18
Y	WO 2014/060623 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS & UNIVERSITAT DE VALÈNCIA) 24.04.2014, Página 1, líneas 6-10; página 12, líneas 8-26; página 13, líneas 12-23; reivindicaciones 29 y 31.	8-10,18
X	TOMBACCINI, D. et al. "Preparation of monoclonal antibodies to racemic anatoxin-a". FASEB Journal 1989, Volumen 3, Número 3, página A724.	1,2,4,14-17,19,20
A	AL-SAMMAK, M.A. et al. "Methods for simultaneous detection of the cyanotoxins BMAA, DABA, and anatoxin- α in environmental samples". Toxicon 2013, Volumen 76, páginas 316-325. [Disponible en línea el 16.10.2013]. Ver página 316, resumen; páginas 318-319, tabla 1.	1-20
A	JACKSON, G.W. et al. "Portable FRET Sensing of Proteins, Hormones, and Toxins Using DNA Apatamers and Quantum Dots". NSTI-Nanotech 2009, Volumen 2, páginas 205-208. Ver página 205, resumen; página 206, figura 2.	1-20
A	ROY-LACHAPPELLE, A. et al. "Determination of BMAA and three alkaloid cyanotoxins in lake water using dansyl chloride derivatization and high-resolution mass spectrometry". Analytical and Bioanalytical Chemistry 2015, Volumen 407, páginas 5487-5501. [Disponible en línea el 03.05.2015]. DOI: 10.1007/s00216-015-8722-2. Ver página 407, resumen.	1-20

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
27.06.2017

Examinador
G. Esteban García

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D451/00 (2006.01)

G01N33/531 (2006.01)

G01N33/533 (2006.01)

C07K16/00 (2006.01)

A01N43/46 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, G01N, C07K, A01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTE, BIOSIS, MEDLINE, XPESP, NPL, EMBASE, REGISTRY, CAPLUS, PUBMED, GOOGLE SCHOLAR

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 27.06.2017

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 5-13, 17-20	SI
	Reivindicaciones 1-4, 14-16	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 5-7, 11-13	SI
	Reivindicaciones 1-4, 8-10, 14-20	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	MARC, M. et al. Tetrahedron Letters 2009, Vol. 50, pp. 4554-4557.	29.05.2009
D02	TOMBACCINI, D. et al. FASEB Journal, Vol. 3, N° 3, pp. A724	00.00.1989
D03	WO 2014/060623 A1	24.04.2014

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención es un **bioconjugado** de fórmula (I) que comprende una unidad de **anatoxina-A**; un **derivado marcado** de fórmula (II) también derivado de anatoxina-A; un **anticuerpo** obtenido a partir de dicho conjugado; un **método de análisis** in vitro de anatoxina A que utiliza el anticuerpo; un **kit** de detección y/o determinación de anatoxina-A que comprende un anticuerpo junto a un bioconjugado o un derivado marcado; y un **método de purificación y/o purificación** de anatoxina-A mediante el anticuerpo anterior.

Novedad (Artículo 6.1 de la Ley de Patentes 11/1986):

El documento D01 divulga un derivado de **anatoxina-A** que está incluido en la fórmula general I de la invención, cuando en ésta T es R-I, L es $-N(CH_3)-(CH_2)_6-$, Z es 1,2,3-triazol, n es 1 y P es una proteína, en concreto albúmina de suero bovino (ver página 4554, figura 1). Este derivado puede utilizarse para la producción de anticuerpos, que a su vez pueden ser útiles para el desarrollo de un ensayo de detección y cuantificación de anatoxina (ver página 4554, columnas 1 y 2).

Por tanto, el objeto de las reivindicaciones **1-4, 14-16** no es nuevo a la luz de lo divulgado en el documento D01.

El documento D02 divulga un derivado de **anatoxina-A** que comprende una unidad de anatoxina A (T, en concreto R-I, en la fórmula general I de la invención) unida a través del N a una cadena hidrocarbonada de 5 átomos de carbono (L en la fórmula I de la invención), que a su vez se une a albúmina (P en la fórmula I de la invención). El documento divulga la preparación de anticuerpos monoclonales frente a anatoxina-a, con aplicación para desarrollar un ensayo de esta toxina.

Aunque el documento no recoge explícitamente cuál es el grupo funcional (Z en la fórmula general I de la invención) que sirve de enlace entre la cadena hidrocarbonada L y la albúmina, esta unión se realiza por reacción entre el grupo funcional aldehído de la molécula de glutaraldehído que se utiliza como precursor de la cadena L y un grupo funcional presente en la albúmina. Se considera que esta unión debe realizarse a través de una de las numerosas posibilidades recogidas en la reivindicación 1 respecto a la naturaleza de los grupos de enlace Z, obtenidos por combinación de los distintos grupos funcionales comunes en química orgánica.

Por lo tanto, se considera que el objeto de las reivindicaciones **1, 2, 4, 14-16** no presenta novedad según lo divulgado en el documento D02.

Actividad inventiva (Artículo 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986):

La reivindicación dependiente **17** se refiere a la realización de un ensayo competitivo durante de una de las etapas del método de análisis de análisis de anatoxina-a de la invención.

Aunque los documentos D01 y D02 no divulgan explícitamente esta característica técnica no es posible reconocer para ella actividad inventiva, ya que se considera que constituye una alternativa evidente para el experto en la materia del campo al que pertenece la invención y, como tal, se encuentra recogida en diversos documentos del estado de la técnica (ver, por ejemplo, documento D03, reivindicación 29).

Del mismo modo, se considera que la reivindicación independiente **19**, relativa a un **kit** para la detección y/o determinación de la anatoxina-a que comprende el anticuerpo de la invención junto al bioconjugado de fórmula (I) o al derivado marcado de fórmula (II), carece de actividad inventiva respecto a lo divulgado en cada uno de los documentos D01 y D02, teniendo en cuenta además que existen en el estado de la técnica numerosos ejemplos de kits de detección de compuestos químicos basados en tecnologías de inmunoensayos que utilizan anticuerpos que reconocen específicamente dichos compuestos (ver, por ejemplo, D03, reivindicación 31).

Por otro lado, la reivindicación **20** se refiere a un **método de purificación y/o concentración** de anatoxina-a de una muestra mediante cromatografía de afinidad que comprende inmovilizar el anticuerpo de la invención sobre un soporte y hacer pasar la muestra sobre éste para que la anatoxina quede retenido. Se considera que, el experto en la materia, a la luz de lo divulgado en los documentos D01 y D02, tomados por separado, se plantearía la aplicación del inmunoensayo objeto de la invención para la purificación y/o concentración de anatoxina-a de una muestra, sin requerir el ejercicio de actividad inventiva por su parte.

Por lo tanto, se considera que el objeto de las reivindicaciones **17, 19, 20** no presenta actividad inventiva a la luz de lo divulgado en cada uno de los documentos D01 y D02 tomados por separado.

La reivindicación independiente **8** se refiere a un derivado de anatoxina-a de fórmula (II) **marcado** con un marcador no isotópico detectable. La diferencia existente entre el compuesto divulgado en el documento D01 y el compuesto **II** de la invención es que en éste el ligando L se encuentra unido a un marcador no isotópico, en lugar de a una proteína.

El problema técnico que subyace en la invención es la provisión de un derivado de anatoxina-a alternativo a los disponibles en el estado de la técnica y útil como antígeno de ensayo frente a anatoxina-a. Sin embargo, ya existen en el estado de la técnica derivados marcados de toxinas que se han utilizado para la producción de anticuerpos a su vez útiles en métodos de detección de dichas toxinas.

El documento D03 divulga conjugados y derivados marcados de fludioxonil de fórmula (III), [T-L-Z]_m-Q (ver página 1, líneas 6-10), siendo Q un marcador no isotópico, como es biotina, fluoresceína, un fluoróforo de cianina, rodamina, o cumarina, nanopartículas cuánticas, etc. (ver página 13, líneas 12-23). El documento divulga también los anticuerpos para fludioxonil, así como un método de análisis de este compuesto utilizando dichos anticuerpos (ver página 1, líneas 6-10; página 12, líneas 8-26).

Se considera que el experto en la materia, a la luz de lo divulgado en el documento D03 se plantearía, con razonables expectativas de éxito, la sustitución de la albúmina presente en el derivado divulgado en el documento D01 por un marcador isotópico como los divulgados en el documento D03.

Por consiguiente, se considera que el objeto de las reivindicaciones **8-10, 18** carece de actividad inventiva respecto a la combinación de las enseñanzas técnicas recogidas en los documentos D01 y D03.

Sin embargo, no se ha encontrado en el estado de la técnica divulgación ni sugerencia alguna que pudiera dirigir al experto en la materia hacia la invención objeto de las reivindicaciones **5-7**, que se refieren a bioconjugados de fórmulas concretas Ia, Ib y Ic; ni hacia las reivindicaciones **11-13**, relativas a los derivados marcados de fórmulas IIa, IIb y IIc.

En consecuencia, se considera que el objeto de las reivindicaciones **5-7, 11-13** reúne los requisitos de patentabilidad (novedad, actividad inventiva y aplicación industrial) establecidos en el Artículo 4.1 de la Ley de Patentes 11/1986.