



REPUBLICA DE COLOMBIA

SIC SUPERINTENDENCIA
DE INDUSTRIA
Y COMERCIO

SOLICITUD DE



00 88606

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 0086605 0030000

Folios: 67

Fecha (RIS): 2000-07-05 13:27:57

Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica) GERMAN CASTILLO GRAU

País de Domicilio

Bélgica

Departamento o Estado

Dirección

Rue de l'Institut, 89

Ciudad

Rixensart

Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO PODER No. 16.769

Nombre

GERMAN CASTILLO GRAU

Dirección y Domicilio

Carrera 13 No. 37-43, Piso 12

Ciudad

Santafé de Bogotá

Teléfono 2859828

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

Martine Anne Cecile WETTENDORF

Identificación

Dirección

Rixensart, Bélgica

Ciudad

Teléfono

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención NUEVA COMPOSICION

Nuevo título folio 93
Vacunas Polivalentes que comprenden Antígenos
de H2N y HPV

PRIORIDAD REIVINDICADA

SI ☒ NO ☐

TIPO DE PRIORIDAD

ANDINA ☐

UNIONISTA ☐

(33) País Inglesa

(32) Fecha Septiembre 7, 1999

(31) No. Solicitud

GB 9921146.8

Fuente: Convención de París.

Para Publicar a los ☐ 6 meses

☐ 12 meses

☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 31/295, A61K 39/245

A

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Se proporcionan nuevas composiciones de vacuna que comprenden un antígeno de virus del herpes simple (HSV) y un antígeno de HPV y opcionalmente además uno o más de los siguientes: un antígeno de EBV, un antígeno de hepatitis A o virus atenuado inactivado, un antígeno vírico de hepatitis B, un antígeno de VZV, un antígeno de HCMV, un antígeno de Toxoplasma gondii. Las composiciones de vacuna se formulan con un coadyuvante que es un estimulador preferencial de la respuesta celular TH1, como 3D-MPL y QS21.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

- | | |
|--|-------------------------------------|
| Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica | ☒ |
| Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC | ☒ |
| Recibo de la tasa respectiva | ☒ |
| Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Andina: | |
| Copia de la primera solicitud | ☐ |
| Traducción oficial | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Unionista: | ☒ |
| Copia certificada de la primera solicitud: | ☐ |
| Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior | |
| Traducción simple | ☒ |
| Capítulo descriptivo | ☒ |
| Dibujos, planos necesarios | ☒ |
| Capítulo reivindicatorio | ☒ |
| Tarjeta archivo propietarios según formato | ☒ |
| Tarjeta archivo temático según formato | ☒ |
| Extracto para publicación según formato | ☒ |
| Arte final 12 x 12 cms Y 6x6 cms | ☐ |
| Otros Documentos | ☐ |

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

NOMBRE GERMAN CASTILLO GRAU

CC. 17'017.671 Btá

T.P.No. 2978



3 A

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00366605 00000000

Folios: 67

Fecha (OTD): 2000-09-05 13:27:57

Tramite : 032 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 54,980
FECHA : SEPTIEMBRE 5 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
CASTILLO GRAU Y ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	2883184	1,824,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
		TOTAL :	\$ 608,000.00

SOM: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

Nueva composición

Esta invención se refiere a nuevas formulaciones de vacuna, a procedimientos para prepararlas y a su uso en terapia. En particular la presente invención se refiere a vacunas de
5 combinación para administración a adolescentes.

Los virus del papiloma son virus de tumores de DNA pequeños que son altamente específicos de especie. Hasta el momento se han descrito más de 70 genotipos de virus del papiloma
10 humanos (HPV) individuales. Los HPV son generalmente específicos hacia la piel (por ejemplo HPV-1 y 2) o superficies mucosas (HPV-6 y 11) y habitualmente producen tumores benignos (verrugas) que persisten durante varios meses o años. Dichos tumores benignos pueden ser incómodos
15 para los individuos afectados pero no suelen ser un riesgo para la vida, con pocas excepciones.

Algunos HPV están también asociados a cánceres. La asociación positiva más fuerte entre un HPV y un cáncer humano es la
20 existente entre HPV-16 y HPV-18 y el carcinoma cervical. El cáncer cervical es la virulencia más común en países en desarrollo, con la aparición de alrededor de 500.000 nuevos casos en el mundo cada año. Es técnicamente factible ahora combatir de forma activa las infecciones primarias por HPV-
25 16, e incluso los cánceres establecidos que contienen HPV-16,

utilizando vacunas. Para una revisión de las perspectivas de vacunación profiláctica y terapéutica frente a HPV-16 véanse Cason J., Clin. Immunother. 1994, 1(4) 293-306 y Hagensee M.E., Infections in Medicine 1997 14(7) 555-556, 559-564.

5

Otros HPV de interés particular son los serotipos 31, 33 y 45.

En la actualidad se han aislado y caracterizado los
10 diferentes tipos de HPV con la ayuda de sistemas de clonación en bacterias y, más recientemente, por amplificación por PCR. La organización molecular de los genomas de HPV se ha definido sobre una base comparativa con la del bien caracterizado virus del papiloma bovino de tipo 1 (BPV1).

15

Aunque pueden aparecer variaciones menores, todos los genomas de HPV descritos tienen al menos siete genes tempranos, E1 a E7 y dos genes tardíos L1 y L2. Además, una región regulatoria cadena arriba alberga las secuencias regulatorias
20 que parecen controlar la mayoría de los sucesos transcripcionales del genoma de HPV.

Los genes E1 y E2 están implicados en la replicación vírica y el control transcripcional, respectivamente, y tienden a
25 desestabilizarse por la integración vírica. E6 y E7, y

pruebas recientes implican también a E5, están implicados en la transformación vírica.

En los HPV implicados en el carcinoma cervical, como los HPV
5 16 y 18, el proceso oncogénico comienza después de la integración del DNA vírico. La integración da como resultado la inactivación de los genes que codifican las proteínas de cápsida L1 y L2 y la instalación de una sobreexpresión continua de las dos proteínas tempranas E6 y E7 que conducirá
10 a la pérdida gradual de la diferenciación celular normal y al desarrollo del carcinoma.

El carcinoma de cérvix es común en mujeres y se desarrolla a través de una etapa precancerosa intermedia al carcinoma
15 invasivo, que frecuentemente conduce a la muerte. Las etapas intermedias de la enfermedad se conocen como neoplasia intraepitelial cervical y están graduadas de I a II en términos de gravedad creciente.

20 Clínicamente, la infección por HPV del tracto anogenital femenino se manifiesta como condilomas planos cervicales, la marca de los cuales es la coilocitosis que afecta principalmente a las células superficiales e intermedias del epitelio escamoso cervical.

Los coilocitos, que son la consecuencia de un efecto citopático del virus, aparecen como células polinucleadas con un halo claro perinuclear. El epitelio se engrosa por una queratinización anormal responsable de la apariencia
5 verrugosa de la lesión.

Dichos condilomas planos, cuando son positivos frente a los serotipos HPV 16 o 18, son factores de alto riesgo para la evolución hacia neoplasia intraepitelial cervical (CIN) y
10 carcinoma in situ (CIS), que se consideran en sí como lesiones precursoras del carcinoma de cérvix invasivo.

El documento WO 96/19496 describe variantes de las proteínas E6 y E7 del virus de papiloma humano, particularmente
15 proteínas de fusión E6/E7 con una delección en ambas proteínas E6 y E7. Estas proteínas de fusión con delección se dice que son inmunogénicas.

Las vacunas basadas en L1 de HPV se describen en los
20 documentos WO94/00152, WO94/20137, WO93/02184 y WO94/05792. Dicha vacuna puede comprender el antígeno L1 como monómero, un capsómero o una partícula similar a un virus. Dichas partículas pueden comprender además proteínas L2. Las vacunas basadas en L2 se describen por ejemplo en el documento
25 WO93/00436. Otras vacunas de HPV están basadas en la

cb

proteínas tempranas, como E7, o proteínas de fusión, como L2-E7.

HSV-2 es el agente etiológico primario del herpes genital.

5 HSV-2 y HSV-1 (el agente causante del herpes labial) se caracterizan tanto por su capacidad de inducir enfermedades agudas como de establecer una infección latente, principalmente en células ganglionares neuronales.

10 El herpes genital se estima que aparece en alrededor de 5 millones de personas sólo en los Estados Unidos, con 500.000 casos clínicos registrados cada año (infección primaria y recurrente). La infección primaria aparece típicamente después de la pubertad y se caracteriza por la aparición
15 localizada de lesiones dérmicas dolorosas, que persisten durante un periodo de entre 2 a 3 semanas. En los siguientes seis meses después de la infección primaria, el 50% de los pacientes experimenta una recurrencia de la enfermedad. Alrededor del 25% de los pacientes puede experimentar entre
20 10-15 episodios recurrentes de la enfermedad cada año. En paciente inmunocomprometidos la incidencia de recurrencia de alta frecuencia es estadísticamente mayor que en la población de pacientes normales.

25 Tanto los virus HSV-1 como HSV-2 tienen una serie de

componentes de glicoproteína localizados en la superficie del virus. Se conocen como gB, gC, gD, gE, etc.

Existe la necesidad de vacunas de combinación eficaces para
5 prevenir enfermedades a las que los adolescentes son particularmente propensos.

La presente invención proporciona una composición de vacuna
que comprende:

10

(a) un antígeno de virus del herpes simple (HSV) y

(b) un antígeno de virus del papiloma humano (HPV)

en combinación con un coadyuvante que es un estimulador preferente de la respuesta celular TH1.

15

La composición de vacuna de la invención es de gran utilidad para la administración a adolescentes que pueden estar particularmente en riesgo de infección por HSV y/o HPV.

20 Opcionalmente, la composición de vacuna de la invención comprende además uno o más de una serie de otros antígenos como se describe a continuación.

Se ha encontrado que las composiciones de vacuna según la
25 invención sorprendentemente no muestran interferencia, es

decir, que la respuesta inmune a cada antígeno en la composición de la invención es esencialmente la misma que la obtenida por cada antígeno individualmente junto con un coadyuvante que es un estimulador preferente de la respuesta
5 celular TH1.

La vacunas para la profilaxis de infecciones por hepatitis B, que comprenden uno o más antígenos de hepatitis B, son bien conocidas. Por ejemplo, la vacuna Engerix-B (Marca
10 registrada) de SmithKline Beecham Biologicals se utiliza para prevenir la hepatitis B. Esta vacuna comprende un antígeno de superficie de la hepatitis B (específicamente el antígeno S de 226 aminoácidos descrito en Hartford et al., en Postgraduate Medical Journal, 1987, 63 (Supl. 2), pág. 65-70)
15 y se formula utilizando hidróxido de aluminio como coadyuvante.

La vacuna Havrix (Marca registrada), también de SmithKline Beecham Biologicals, es un ejemplo de vacuna que puede
20 utilizarse para prevenir las infecciones por hepatitis A. Se formula con hidróxido de aluminio como coadyuvante. Esta vacuna comprende una cepa atenuada del virus HM-175 de hepatitis A inactivado con formol (formaldehído), véase Andre et al., (Prog. med. Virol., vol. 37, pág. 1-24).

Como se utiliza en la presente, el término antígeno vírico de hepatitis A (HAV) se utiliza para referirse a una proteína derivada del virus de la hepatitis A o a una cepa atenuada de HAV, opcionalmente inactivada, por ejemplo con
5 formaldehído. Si el antígeno HAV es una proteína derivada del virus de la hepatitis A, puede ser opcionalmente una proteína recombinante.

La vacuna Twinrix (Marca registrada) es una combinación de
10 un antígeno recombinante de hepatitis B con el virus de hepatitis A atenuado anteriormente mencionado. La vacuna puede utilizarse para proteger frente a hepatitis A y hepatitis B simultáneamente.

15 La patente europea 0339667 (Chemo Sero) describe el concepto general de combinar un antígeno de hepatitis A y un antígeno de hepatitis B para producir una vacuna de combinación. En esa especificación se afirma que el coadyuvante que se utiliza no es crítico: solamente debe ser capaz de aumentar
20 la actividad inmune en la extensión deseada y no causar ningún efecto secundario. Se afirma que puede utilizarse gel de aluminio, en particular gel de hidróxido de aluminio y gel de fosfato de aluminio.

25 La composición de vacuna según la invención puede comprender,

además de los antígenos HPV y HSV, un antígeno HAV o un antígeno HBV o, más preferiblemente, una combinación de ambos antígenos HAV y HBV.

- 5 Dicha vacuna es de gran utilidad para la administración a adolescentes que pueden estar particularmente en riesgo de infección por HSV, y/o HPV, y/o infección por HAV, y/o infección por HBV.
- 10 La respuesta inmune puede dividirse en general en dos categoría extremas: una respuesta inmune humoral o mediada por célula (tradicionalmente caracterizados por anticuerpos y por mecanismos efectores celulares de protección, respectivamente). Estas categorías de respuesta se han
- 15 denominado respuestas de tipo TH1 (respuesta mediada por células), y respuestas inmune de tipo TH2 (respuesta humoral).

- Las respuestas inmune de tipo TH1 extremas pueden
- 20 caracterizarse por la generación de linfocitos T citotóxicos de haplotipo restringido específicos de anticuerpo y respuestas celulares killer naturales. En ratones, las respuestas de tipo TH1 se caracterizan a menudo por la generación de anticuerpos del subtipo IgG2a, mientras que en
- 25 humanos éstas corresponden a anticuerpos de tipo IgG1. Las

respuestas inmune de tipo TH2 se caracterizan por la generación de un amplio intervalo de isotipos de inmunoglobulinas, incluyendo en ratones IgG1, IgA e IgM.

5 Puede considerarse que la fuerza impulsora detrás del desarrollo de estos dos tipos de respuestas inmune son las citocinas. Niveles altos de citocinas de tipo TH1 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunes mediadas por células frente al antígeno dado, mientras que niveles altos
10 de citocinas de tipo TH2 tienden a favorecer la inducción de respuestas humorales frente al antígeno.

La distinción de las respuestas inmune de tipo TH1 y TH2 no es absoluta. En realidad, un individuo soportará una
15 respuesta inmune que se describe como predominantemente TH1 o predominantemente TH2. Sin embargo, a menudo es conveniente considerar las familias de citocinas en los términos de lo descrito en clones de células T CD4 +ve de murina por Mosmann y Coffman (*Mosmann, T.R. y Coffman, R.L., (1989) TH1 and TH2*
20 *cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annual Review of Immunology, 7, pág. 145-173*). Tradicionalmente las respuestas de tipo TH1 están asociadas a la producción de las citocinas ~~INF- γ e IL-2~~
por linfocitos T. Otras citocinas asociadas a menudo
25 directamente a la inducción de respuestas inmune de tipo TH1

no están producidas por células T, como IL-12. En contraposición, las respuestas de tipo TH2 están asociadas a la secreción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 y el factor β de necrosis de tumor (TNF- β).

5

Se sabe que ciertos coadyuvantes de vacuna son particularmente adecuados para la estimulación de respuestas de citocina de tipo TH1 o TH2. Tradicionalmente, los mejores indicadores del equilibrio TH1:TH2 de la respuesta inmune después de una vacunación o infección incluyen la medida directa de la producción de citocinas TH1 o TH2 por los linfocitos T in vitro después de reestimulación con antígeno, y/o (al menos en ratones) la medida de la proporción IgG1:IgG2a de respuestas de anticuerpos específicas de antígeno.

Así, un coadyuvante de tipo TH1 es el que estimula las poblaciones de células T aisladas a producir altos niveles de citocinas de tipo TH1 cuando se reestiman con antígeno in vitro, e induce respuestas de inmunoglobulina específicas de antígeno asociadas al isotipo de tipo TH1.

Se describen coadyuvantes que son capaces de estimulación preferencial de la respuesta celular TH1 en las solicitudes de patente internacional n° WO 94/00153 y WO 95/17209.

El monofosforil-lípido A 3 des-O-acilado (3D-MPL) es uno de dichos coadyuvantes. Se conoce desde el documento GB 2220211 (Ribi). Químicamente es una mezcla de monofosforil-lípido A 3-des-O-acilado con cadenas 4, 5, o 6 aciladas y se fabrica en Ribi Immunochem, Montana. Se describe una forma preferida de monofosforil-lípido A 3 des-O-acilada en la patente europea 0689454 B1 (SmithKline Beecham Biologicals SA).

Preferiblemente, las partículas de 3D-MPL son suficientemente pequeñas para filtrarse de forma estéril a través de una membrana de 0,22 micrones (como se describe en la patente europea n° 0689454). El 3D-MPL estará presente en el intervalo de 10 µg-100 µg, preferiblemente de 25-50 µg por dosis, estando típicamente presente el antígeno en un intervalo de 2-50 µg por dosis.

Otro coadyuvante preferido comprende QS21 una fracción no tóxica purificada por HPLC derivada de la corteza de Quillaja Saponaria Molina. Opcionalmente ésta puede mezclarse con monofosforil-lípido A 3 des-O-acilado (3D-MPL), opcionalmente junto con un vehículo.

El procedimiento de producción de QS21 se describe en la patente de Estados Unidos n° 5.057.540.

Se han descrito anteriormente formulaciones de coadyuvante no reactogénicas que contienen QS21 (documento WO 96/33739). Dichas formulaciones que comprenden QS21 y colesterol se han mostrado como eficaces coadyuvantes de estimulación de TH1
5 al formularse junto con un antígeno. De esta manera, las composiciones de vacuna que forman parte de la presente invención pueden incluir una combinación de QS21 y colesterol.

10 Otros coadyuvantes que son estimuladores preferenciales de la respuesta celular TH1 incluyen oligonucleótidos inmunomodulatorios, por ejemplo secuencias CpG sin metilar como las descritas en el documento WO 96/02555.

15 Se contemplan también combinaciones de distintos coadyuvantes de estimulación de TH1, como los mencionados anteriormente en la presente, para proporcionar un coadyuvante que es un estimulante preferencial de la respuesta celular TH1. Por ejemplo, QS21 puede formularse junto con 3D-MPL. La
20 proporción QS21:3D-MPL será típicamente del orden de 1:10 a 10:1, preferiblemente de 1:5 a 5:1, y a menudo sustancialmente 1:1. El intervalo preferido para una sinergia óptima es de 2,5:1 a 1:1 de 3D-MPL:QS21.

25 Preferiblemente también está presente un vehículo en la

composición de vacuna según la invención. El vehículo puede ser una emulsión de aceite en agua, o una sal de aluminio, como fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio.

- 5 Una emulsión preferida de aceite en agua comprende un aceite metabolizable, como escualeno, alfa tocoferol y Tween 80. Además, la emulsión de aceite en agua puede contener span 85 y/o lecitina y/o tricaprilina.
- 10 En un aspecto particularmente preferido, los antígenos de de la composición de vacuna según la invención se combinan con 3D-MPL y alúmina.

Para la administración humana, QS21 y 3D-MPL estarán
15 presentes típicamente en una vacuna en el intervalo de 1 μ g-200 μ g, como 10-100 μ g, preferiblemente 10 μ g-50 μ g por dosis. Típicamente el aceite en agua comprenderá de 2 a 10% de escualeno, de 2 a 10% de alfa tocoferol y de 0,3 a 3% de Tween 80. Preferiblemente, la proporción de escualeno:alfa
20 tocoferol es igual o menor a 1, ya que ésta proporciona una emulsión más estable. Span 85 también puede estar presente a un nivel del 1%. En algunos casos puede ser ventajoso que las vacunas de la presente invención contengan además un estabilizador.

18

15

Las emulsiones de aceite en agua no tóxicas contienen preferiblemente un aceite no tóxico, por ejemplo escualano o escualeno y un emulsionante, por ejemplo Tween 80, en un vehículo acuoso. El vehículo acuoso puede ser, por ejemplo,
5 suero salino tamponado con fosfato.

Una formulación coadyuvante particularmente potente que implica QS21, 3D-MPL y tocoferol en una emulsión de aceite en agua se describe en el documento WO 95/17210.

10

El antígeno de HPV de la composición de la invención deriva preferiblemente de HPV 16 y/o 18, o de HPV 6 y/o 11, o HPV 31, 33 o 45.

15 En una realización preferida, el antígeno de HPV de la composición de vacuna según la invención comprende la proteína de ~~cápsida mayoritaria L1 de HPV~~ y opcionalmente la proteína L2, particularmente de HPV 16 y/o HPV 18. En esta
20 realización, la forma preferida de la proteína L1 es una proteína L1 truncada. Preferiblemente la L1, opcionalmente en una fusión L1-L2, está en forma de una partícula similar a un virus (VLP). La proteína L1 puede estar fusionada a otra proteína HPV, en particular E7, para formar una fusión L1-E7. Las VLP quiméricas que comprenden L1-E o L1-L2-E son
25 particularmente preferidas.

En otra realización preferida, el antígeno de HPV de la composición de la invención deriva de una proteína E6 o E7, en particular de E6 o E7 ligada a un asociado de fusión inmunológica con epitopos de célula T.

5

En una forma preferida de esta realización de la invención, el asociado de fusión inmunológica deriva de proteína D de *Haemophilus influenzae* B. Preferiblemente, el derivado de proteína D comprende aproximadamente el primer tercio de
10 proteína, en particular aproximadamente los primeros 100-110 aminoácidos N-terminales.

Las proteínas de fusión preferidas en esta realización de la invención comprenden proteína D-E6 de HPV 16, proteína D-E7
15 de HPV 16, proteína D-E7 de HPV 18 y proteína D-E6 de HPV 18. La parte de proteína D comprende preferiblemente el primer tercio de la proteína D.

En otra realización de la invención, el antígeno de HPV está
20 en la forma de una fusión L2-E7, particularmente de HPV 6 y/o HPV 11.

Las proteínas de la presente invención se expresan preferiblemente en *E.coli*. En una realización preferida, las
25 proteínas se expresan con una cola de histidina que comprende

entre 5 y 9, y preferiblemente seis, residuos de histidina. Estos son ventajosos para ayudar a la purificación. La descripción de la fabricación de dichas proteínas se describe por completo en la solicitud de patente del Reino Unido de
5 presentación conjunta número GB 9717953.5.

El antígeno de HPV de la composición de vacuna puede adsorberse sobre $Al(OH)_3$.

- 10 El antígeno de HSV de la composición de la invención deriva preferiblemente de HSV-2, típicamente de glicoproteína D. La glicoproteína D está localizada en la membrana vírica y también se encuentra en el citoplasma de células infectadas (Eisenberg, R.J., et al., J. of Virol. 1980, 35, 428-435).
- 15 Comprende 393 aminoácidos incluyendo un péptido señal y tiene un peso molecular de aproximadamente 60 kD. De todas las proteínas de cubierta de HSV es probablemente la mejor caracterizada (Cohen et al, J. of Virology, 60, 157-166). En vivo se sabe que juega un papel clave en la unión vírica a
20 las membranas celulares. Además, la glicoproteína D se ha mostrado capaz de desencadenar anticuerpos neutralizantes in vivo (Eing et al., J. Med. Virology 127:59-65). Sin embargo, los virus HSV-2 latentes pueden reactivarse e inducir la recurrencia de la enfermedad a pesar de la presencia de una
25 alta valoración de anticuerpos neutralizantes en los sueros

de los pacientes.

En una realización preferida de la invención, el antígeno de HSV es una glicoproteína D de HSV-2 truncada de 308 aminoácidos que comprende los aminoácidos 1 a 306 de los aminoácidos de origen natural de la glicoproteína con la adición de asparagina y glutamina en el extremo C terminal de la proteína truncada desprovista de su región de anclaje a la membrana. Esta forma de la proteína incluye el péptido señal que se corta para proporcionar una proteína madura de 283 aminoácidos. La producción de dicha proteína en células de ovario de hámster chino se ha descrito en la patente europea de Genentech EP-B-139417.

El truncamiento de glicoproteína D de HSV-2 madura recombinante se utiliza preferiblemente en las formulaciones de vacuna de la presente invención, y se designa como rgD2t.

Se ha descrito una combinación de este antígeno de HSV-2 en combinación con el coadyuvante 3D-MPL en el documento WO 92/16231.

Cuando se incluye un antígeno de hepatitis B (HBV) en la composición de la invención, éste es típicamente el antígeno de superficie de hepatitis B.

22

La preparación del antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) está bien documentado. Véanse por ejemplo Harford et al., en Develop. Biol. Standard 54, página 125 (1983), Gregg et al., en Biotechnology, 5, página 479 (1987), documentos 5 EP-A-0226846, EP-A-0299108 y las referencias en éstos.

Como se utiliza en la presente, el término "antígeno de superficie de hepatitis B", abreviado en la presente a "HBsAg" o "HBS", incluyen cualquier antígeno HBsAg o 10 fragmento de éste que muestre la antigenicidad del antígeno de superficie de HBV. Se comprenderá que además de la secuencia de 226 aminoácidos del antígeno S de HBsAg (véase Tiollais et al., Nature, 317, 489 (1985) y referencias en éste), el HBsAg como se describe en la presente puede, si se 15 desea, contener toda o parte de una secuencia pre-S como la descrita en las referencias anteriores y en el documento EP-A-0278940. HBsAg como se describe en la presente puede referirse también a variantes, por ejemplo el "mutante de escape" descrito en el documento WO 91/14703. En otro 20 aspecto, el HBsAg puede comprender una proteína descrita como L* en la solicitud de patente europea número 0414374, es decir una proteína cuya secuencia de aminoácidos consiste en partes de la secuencia de aminoácidos de la proteína grande (L) del virus de la hepatitis B (subtipo ad o ay), 25 caracterizada porque la secuencia de aminoácidos de la

23

proteína consiste en:

(a) los residuos 12-52, seguidos de los residuos 133-145, seguidos de los residuos 175-400 de la citada proteína L, o

5 (b) el residuo 12, seguido de los residuos 14-52, seguido de los residuos 133-145, seguido de los residuos 175-400 de la citada proteína L.

HBsAg puede referirse también a los polipéptidos descritos
10 en los documentos EP 0198474 o EP 0304578.

Normalmente el HBsAg estará en forma particulada. Puede comprender la proteína S sola o puede estar como partículas compuestas, por ejemplo (L*, S) en las que L* es como se
15 definió anteriormente, y S indica la proteína S del antígeno de superficie de hepatitis B.

El HBsAg puede estar adsorbido sobre fosfato de aluminio como se describe en el documento WO93/24148.

20

Preferiblemente el antígeno de hepatitis B (HBV) utilizado en la formulación de la invención es el antígeno S de HBsAg, como el utilizado en el producto comercial Engerix-B (Marca comercial, SmithKline Beecham Biologicals).

25

Se describió una vacuna que comprendía el antígeno de superficie de hepatitis B junto con un 3D-MPL en la solicitud de patente europea 0633784.

- 5 Se describen ahora ejemplos de antígenos de patógenos adicionales que pueden incluirse en las composiciones según la invención.

El virus Epstein Barr (EBV), miembro del grupo de
10 herpesvirus, causa la mononucleosis infecciosa como enfermedad primaria en humanos. Afecta predominantemente a niños o adultos jóvenes. Más del 90% de la población adulta promedio está infectada por EBV, que persiste durante toda la vida en linfocitos B periféricos. El virus se produce
15 crónicamente en la glándula parótida y se extiende principalmente por intercambio de saliva de individuos que esparcen el virus. Los niños infectados por EBV son ampliamente asintomáticos o tienen síntomas muy leves, mientras que los adolescentes y adultos que son infectados
20 desarrollan una mononucleosis infecciosa típica, caracterizada por fiebre, faringitis y adenopatía. La gente que ha sido infectada mantiene los anticuerpos anti-EBV durante el resto de sus vidas y es por lo tanto inmune a una nueva infección.

23

Además de sus cualidades infecciosas, se ha mostrado que el EBV transforma los linfocitos en células de división rápida y por lo tanto se ha implicado en varios linfomas diferentes, incluyendo el linfoma africano de Burkitt (BL). El EBV puede
5 estar implicado también en la causa del carcinoma nasofaríngeo (NPC). En todo el mundo se estima que aparecen 80.000 casos de carcinoma nasofaríngeo y es más prevalente en las poblaciones de etnia china. La mononucleosis infecciosa es una consecuencia de la infección primaria por
10 EBV. No es una enfermedad con riesgo para la vida si están ausentes factores de riesgo adicionales.

Se han descrito cuatro proteínas de la cubierta vírica de EBV que constituyen el así llamado complejo de antígeno de
15 membrana. Se refieren habitualmente como gp 220/350 o gp 250/350 o simplemente como gp 250 o 350 (véase el documento EP-A-151079). Existen pruebas convincentes de que gp 350 y gp 250 inducen la producción de anticuerpos neutralizantes y que los anticuerpos frente a gp 350 y gp 250 tienen
20 capacidad neutralizante. Estas proteínas son por tanto candidatas a una posible vacuna de EBV. Para más información sobre la aplicación de gp 250/350 en la profilaxis y tratamiento de las enfermedades relacionadas con EBV véase el documento EP 0173254.

La glicoproteína de superficie de EBV mayoritaria gp350/220 infecta células objetivo humanas a través de la interacción con la proteína de membrana celular CD21. Gp350/220 es el objetivo primario de los anticuerpos neutralizantes de EBV
5 en humanos y se ha mostrado que algunas formas de gp350/220 protegen frente a enfermedades relacionadas con EBV. Preferiblemente, una composición de vacuna según la invención comprende gp350 de EBV, aunque pueden utilizarse otros antígenos protectores.

10

En un aspecto preferido, la composición de vacuna de la invención comprende además un antígeno vírico de Varicella Zoster (antígeno VZV). Los antígenos adecuados de VZV para su inclusión en la formulación de vacuna incluyen el gpI-V
15 descrito por Longnecker et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 4303-4307 (1987).

En una realización preferida se utiliza gpI (véase Ellis et al, patente de Estados Unidos 4.769.239). Véase también la
20 patente europea n° 0405867B1.

En otro aspecto preferido, la composición de vacuna de la invención comprende además un antígeno de citomegalovirus humano (HCMV). El HCMV es un virus de DNA humano
25 perteneciente a la familia de los herpesvirus. El HCMV es

endémico en la mayor parte del mundo. En dos poblaciones el HCMV es responsable de estados médicos graves. El HCMV es la causa mayoritaria de defectos congénitos en recién nacidos. La segunda población de riesgo son los pacientes
5 inmunocomprometidos como los que sufren de infección por VIH y aquellos pacientes que experimentan transplantes. La enfermedad clínica causa una serie de síntomas que incluyen fiebre, hepatitis, pneumonitis y mononucleosis infecciosa. Un antígeno preferido para uso en una vacuna frente a HCMV
10 es gB685", como se describe en el documento WO 95/31555. Los inmunógenos para uso en vacunas de HCMV se proporcionan también a partir de pp65, una proteína de matriz de HCMV, como se describe en el documento WO 94/00150 (City of Hope).

15 En un aspecto preferido, la composición de vacuna de la invención comprende además tanto un antígeno VZV como HCMV, en particular aquellos antígenos descritos anteriormente.

En otro aspecto preferido, la composición de vacuna de la
20 invención comprende además un antígeno de *Toxoplasma gondii*. *Toxoplasma gondii* es un parásito protozoario intracelular estricto responsable de la toxoplasmosis en animales de sangre caliente, incluyendo el hombre. Aunque es generalmente clínicamente asintomática en individuos sanos, la
25 toxoplasmosis puede causar graves complicaciones en mujeres

embarazadas y pacientes inmunocomprometidos. Un antígeno preferido para uso en una vacuna frente a *Toxoplasma gondii* es SAG1 (también conocido como P30), según se describe en el documento WO96/02654 o Tg34, según se describe en el
5 documento WO 92/11366.

En un aspecto preferido, la composición de vacuna de la presente invención comprende además un antígeno VZV o un antígeno HCMV combinado con un antígeno de *Toxoplasma gondii*,
10 en particular aquellos antígenos descritos anteriormente.

En un aspecto preferido, la composición de vacuna de la invención es una vacuna multivalente, por ejemplo una vacuna tetra o pentavalente.

15

Las formulaciones de la presente invención son muy efectivas en la inducción de inmunidad protectora, incluso con dosis muy bajas de antígeno (por ejemplo tan bajas como 5 µg de rgD2t).

20

Proporcionan una excelente protección frente a infección primaria y estimulan ventajosamente tanto las respuestas inmunes específicas humorales (anticuerpos neutralizantes) como las mediadas por células efectoras (DTH).

25

29

La presente invención, en otro aspecto más, proporciona una formulación de vacuna como la descrita en la presente para uso en terapia médica, particularmente para el uso en el tratamiento o profilaxis de infecciones por virus del papiloma humanos e infecciones por virus del herpes simple.

La vacuna de la presente invención contendrá una cantidad inmunoprotectora de los antígenos y puede prepararse mediante técnicas convencionales.

10

La preparación de vacunas se describe generalmente en Pharmaceutical Biotechnology, vol. 61, Vaccine Design- the subunit and adjuvant approach, editado por Powell y Newman, Plenum Press, 1995. New Trends and Developments in Vaccines, editado por Voller et al., University Park Press, Baltimore, Maryland, EE.UU., 1978. La encapsulación con liposomas se describe, por ejemplo, en Fullerton, patente de Estados Unidos 4.235.877. La conjugación de proteínas a macromoléculas se describe, por ejemplo, en Likhite, patente de Estados Unidos 4.372.945 y en Armor et al., patente de Estados Unidos 4.474.757.

La cantidad de proteína en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunoprotectora sin efectos secundarios adversos significativos en vacunas

típicas. Dicha cantidad variará dependiendo de qué inmunógeno específico se emplee. Generalmente se espera que cada dosis comprenda 1-1000 μg de proteína, preferiblemente 2-100 μg , lo más preferido de 4-40 μg . Una cantidad óptima para una
 5 vacuna particular puede determinarse por estudios estándares que implican la observación de las valoraciones de anticuerpos y otras respuestas en sujetos. A continuación de la vacunación inicial, los sujetos pueden recibir un refuerzo en alrededor de 4 semanas.

10

Además de la vacunación a personas susceptibles de infecciones por HPV o HSV, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden utilizarse para tratar, inmunoterapéuticamente, a pacientes que sufran las citadas
 15 infecciones víricas.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento de fabricación como el descrito en la presente, comprendiendo el procedimiento la mezcla de un antígeno de
 20 virus de papiloma humano y un antígeno de virus del herpes simple con un coadyuvante inductor de TH-1, por ejemplo 3D-MPL y, preferiblemente, un vehículo, por ejemplo alúmina.

Si se desea, pueden añadirse otros antígenos en cualquier
 25 orden conveniente para proporcionar composiciones de vacuna

multivalentes como las descritas en la presente.

Los siguientes ejemplos ilustran pero no limitan la invención.

- 5 **Ejemplo 1: Inmunogenicidad comparativa de Ags/ HBs/ gD de HPV en vacunas monovalentes o de combinación formuladas con AS04.**

INTRODUCCION

Se realizó un estudio de inmunogenicidad en ratones Balb/C
10 utilizando cuatro antígenos diferentes:

1. Partícula similar a virus con L1 de HPV16 (VLP-16)
2. Partícula similar a virus con L1 de HPV18 (VLP-18)
3. Antígeno gD de HSV-2
- 15 4. HBsAg

Ag de
HPV
conocidos

formulados con alúmina/3D-MPL (AS04) utilizando monogranos preadsorbidos de antígeno o 3D-MPL sobre Al(OH), o AlPO₄.

- 20 Las formulaciones de 3D-MPL/Al(OH), se refieren como AS04D, mientras que las formulaciones basadas en 3D-MPL/AlPO₄, se refieren como AS04C.

Se evaluaron las siguientes vacunas:

25

32

1. VLP16+VLP18 AS04D,
2. gD AS04D,
3. HBs AS04C.

5 y se evaluó el potencial para combinar estas vacunas.

El objetivo de este experimento era comparar la inmunogenicidad de dos combinaciones diferentes de AS04 realizadas con:

10

1. VLP16 + VLP18 y gD.
2. VLP16 + VLP18 y gD y HBsAg.

El protocolo experimental se describe al completo en la
15 sección de Materiales y Procedimientos.

En resumen, se inmunizaron intramuscularmente grupos de 10 ratones dos veces a intervalos de 3 semanas con diversas formulaciones basadas en Ag. La respuesta de anticuerpos a
20 Ag de VLP, gD y HBs y el perfil isotípico inducido por la vacunación se evaluaron por ELISA el día 14 después de II. En el mismo momento se analizó la producción de citocina (IFN- γ /IL-5) después de la reestimulación in vitro de células esplénicas con antígenos de VLP, gD o HBs.

25

33

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS

Formulación

Composiciones de la formulación

5 VLP16, VLP18, gD y HBs formulados con 3D-MPL sobre sal de aluminio.

Componentes utilizados

	Componente	Concentración	Tampón
10	VLP de HPV16	560 µg/ml	Tris 20 mM/NaCl 500 mM
	VLP de HPV18	550 µg/ml	NaCl 500 mM/NaPO ₄ 20 mM
	Al(OH) ₃	10380 µg/ml	H ₂ O
	HBs	1219 µg/ml	PO ₄ 10 mM/NaCl 150 mM
	gD	443 µg/ml	PBS pH 7,4
15	3D-MPL	1170 µg/ml	Agua para inyecciones
	AlPO ₄	5 mg/ml	NaCl 150 mM

Adsorción

a) Adsorción de VLP

20 VLP16 y VLP18 purificados en bruto se ajustan a 500 µg/ml con el tampón de purificación, después se añade Al(OH)₃, para obtener una proporción de 2 µg de VLP/10 µg de Al(OH)₃. Se

34

lleva a cabo la agitación magnética a temperatura ambiente durante 60 minutos y la mezcla se almacena a entre 2-8°C hasta la formulación final.

5 **b) Adsorción de gD**

Se mezclan 2 μg de gD con 10 μg de $\text{Al}(\text{OH})_3$. Se lleva a cabo la agitación magnética durante 60 minutos a temperatura ambiente y la mezcla se almacena a entre 2-8°C hasta la formulación final.

10

c) Adsorción de Hbs

Se mezclan 2 μg de Hbs con 10 μg de AlPO_4 . Se lleva a cabo la agitación magnética durante 60 minutos a temperatura ambiente y la mezcla se almacena a entre 2-8°C hasta la formulación final.

15

d) Adsorción de 3D-MPL

Se mezclan 5 μg de 3D-MPL con 10 μg de $\text{Al}(\text{OH})_3$. Se lleva a cabo la agitación magnética durante 60 minutos a temperatura ambiente y la mezcla se almacena a entre 2-8°C hasta la formulación final.

20

Se mezclan 5 μg de 3D-MPL con 10 μg de AlPO_4 . Se lleva a cabo la agitación magnética durante 60 minutos a temperatura ambiente y la mezcla se almacena a entre 2-8°C hasta la formulación final.

25

35

Formulación

Se mezclan H₂O y NaCl (concentrado 10 veces) y después de 10 minutos se agitación a temperatura ambiente se añaden los distintos componentes: antígeno adsorbido, 3D-MPL adsorbido y Al(OH)₃ (Véase la tabla inferior). Se agitan a temperatura ambiente durante 10 minutos y se almacenan a 4°C hasta la inyección.

		Antígeno(s)		Inmunoestimulantes		Vehículo	
Grupo	Tipo	µg	Tipo	µg	Tipo	µg	
10	A	gD	2	3D-MPL	5	Al(OH) ₃ ,	10
	VLP16	2	Al(OH) ₃ ,			10	
	VLP18	2	Al(OH) ₃ ,			10	
			Al(OH) ₃ ,			10	
			Al(OH) ₃ ,			10	
15	B	gD	2	3D-MPL	5	Al(OH) ₃ ,	10
	VLP16	2	Al(OH) ₃ ,			10	
	VLP18	2	Al(OH) ₃ ,			10	
	HBs	2	AlPO ₄ ,			10	
			Al(OH) ₃ ,			10	
15	C	gD	2	3D-MPL	5	Al(OH) ₃ , Al(OH) ₃ , Al(OH) ₃ ,	10
						10	
						30	
15	D	VLP16	2	3D-MPL	5	Al(OH) ₃ ,	10
	VLP18	2	Al(OH) ₃ ,			10	
			Al(OH) ₃ ,			10	
			Al(OH) ₃ ,			20	
15	E	HBs	2	3D-MPL	5	AlPO ₄ ,	10
			Al(OH) ₃ ,			10	
			Al(OH) ₃ ,			30	

Serología de ratones

Serología anti-VLP16 y anti-VLP18

Se realizó la cuantificación de anticuerpos anti-VLP16 y anti-VLP18 por ELISA utilizando VLP16 503/1 (20-12-99) y VLP18 504/2 (250-1099F) como antígenos de recubrimiento. Se utilizaron las disoluciones de antígeno y anticuerpo a 50 µl por pocillo. Se diluyó el antígeno a una concentración final de 0,5 µg/ml en PBS y se adsorbió durante la noche a 4°C en pocillos de placas de microvaloración de 96 pocillos (Inmunoplasacas Maxisorb, Nunc, Dinamarca). Las placas se incubaron después durante 1 hora a 37°C con PBS que contenía seroalbúmina bovina al 1%. Se añadieron diluciones dobles de sueros (empezando a dilución 1/400) en tampón de saturación a las placas recubiertas de VLP y se incubaron durante 1 hora y 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas cuatro veces con PBS al 0,1%, Tween 20 y se añadió IgG anti-ratón conjugada a biotina (Amersham, RU) diluída 1/1500 en tampón de saturación a cada pocillo, y se incubaron durante 1 hora 30 minutos a 37°C. Después de una etapa de lavado, se añadió el complejo peroxidasa biotinilada-estreptovidina (Amersham, RU) diluído 1/1000 en tampón de saturación durante otros 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas como anteriormente y se incubaron durante 20 minutos con una disolución de ortofenilendiamina (Sigma) al 0,04%, H₂O, al 0,03% en Tween 20 al 0,1% y tampón citrato 0,05 M pH 4,5. La reacción se detuvo

con H₂SO₄ 2N y se leyó a 490/630 nm. Las valoraciones con ELISA se calcularon a partir de la referencia con SoftmaxPro (utilizando una ecuación de cuatro parámetros) y se expresaron en UE/ml.

5

Respuesta anti-gD:

Se realizó la cuantificación de anticuerpo anti-gD mediante ELISA utilizando gD (gD 43B318) como antígeno de recubrimiento. Las disoluciones de antígeno y anticuerpo se utilizaron a 50 µl por pocillo. El antígeno se diluyó a una concentración final de 1 µg/ml en PBS y se adsorbió durante la noche a 4°C en pocillos de placas de microvaloración de 96 pocillos (Inmunoplasmas Maxisorb, Nunc, Dimamarca). Después se incubaron las placas durante 1 hora a 37°C con PBS que contenía seroalbúmina bovina al 1% y Tween 20 al 0,1% (tampón de saturación 100 µl/pocillo). Se añadieron diluciones dobles de sueros (empezando a dilución 1/100) en tampón de saturación a las placas recubiertas de gD y se incubaron durante 1 hora y 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas cuatro veces con PBS al 0,1%, Tween 20 y se añadió IgG1, IgG2a, IgG2b o Ig anti-ratón conjugada a biotina (Amersham, RU) diluída 1/1000 en tampón de saturación a cada pocillo, y se incubaron durante 1 hora 30 minutos a 37°C. Después de una etapa de lavado, se añadió el complejo peroxidasa biotinilada-estreptovidina (Amersham, RU) diluído 1/1000 en

tampón de saturación durante otros 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas como anteriormente y se incubaron durante 20 minutos con una disolución de orto-fenilendiamina (Sigma) al 0,04%, H₂O₂ al 0,03% en Tween 20 al 0,1% y tampón citrato 0,05 M pH 4,5. La reacción se detuvo con H₂SO₄ 2N y se leyó a 490/630 nm. Las valoraciones con ELISA se calcularon a partir de la referencia con SoftmaxPro (utilizando una ecuación de cuatro parámetros) y se expresaron en UE/ml.

10 Serología anti-HBs

Se realizó la cuantificación de anticuerpo anti-HBs mediante ELISA utilizando HBs (Hep286) como antígeno de recubrimiento. Las disoluciones de antígeno y anticuerpo se utilizaron a 50 µl por pocillo. El antígeno se diluyó a una concentración final de 1 µg/ml en PBS y se adsorbió durante la noche a 4°C en pocillos de placas de microvaloración de 96 pocillos (Inmunoplasacas Maxisorb, Nunc, Dimamarca). Después se incubaron las placas durante 1 hora a 37°C con PBS que contenía seroalbúmina bovina al 1% y Tween 20 al 0,1% (tampón de saturación 100 µl/pocillo). Se añadieron diluciones dobles de sueros (empezando a dilución 1/100) en tampón de saturación a las placas recubiertas de HBs y se incubaron durante 1 hora y 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas cuatro veces con PBS al 0,1%, Tween 20 y se añadió IgG anti-ratón conjugada a biotina (Amersham, RU) diluída 1/1500 o

IgG1, IgG2a, IgG2b (IMTECH, Estados Unidos) diluídas respectivamente a 1/4000, 1/8000, 1/4000 en tampón de saturación a cada pocillo, y se incubaron durante 1 hora 30 minutos a 37°C. Después de una etapa de lavado, se añadió el
5 complejo peroxidasa biotinilada-estreptovidina (Amersham, RU) diluído 1/1000 en tampón de saturación durante otros 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas como anteriormente y se incubaron durante 20 minutos con una disolución de orto-fenilendiamina (Sigma) al 0,04%, H₂O₂ al 0,03% en Tween 20 al
10 0,1% y tampón citrato 0,05 M pH 4,5. La reacción se detuvo con H₂SO₄ 2N y se leyó a 490/630 nm. Las valoraciones con ELISA se calcularon a partir de la referencia con SoftmaxPro (utilizando una ecuación de cuatro parámetros) y se expresaron en UE/ml.

15

Producción de citocina

Dos semanas después de la segunda inmunización se sacrificaron los ratones, se extrajeron los bazo
asépticamente y se reunieron. Se prepararon suspensiones
20 celulares en medio RPMI 1640 (GIBCO) que contenía L-glutamina 2 mM, antibióticos, 2-mercaptoetanol 5x10⁻⁴ M, y suero de ternera fetal al 5%. Se cultivaron las células a una concentración final de 5x10⁴ células/ml en 1 ml por placa de 24 pocillos de fondo plano con diferentes concentraciones
25 (10⁻¹ µg/ml) de cada uno de los Ag (antígenos VLP, gD o HBs).

Se recogieron los sobrenadantes 96 horas después y se congelaron hasta el ensayo para la presencia de IFN- γ e IL-5 por ELISA.

5 IFN- γ (Genzyme)

Se realizó la cuantificación de IFN- γ por ELISA utilizando reactivos de Genzyme. Las disoluciones de muestras y anticuerpos se utilizaron a 50 μ l por pocillo. Se recubrieron durante la noche a 4°C placas de microvaloración de 96 pocillos (Inmunoplasmas Maxisorb, Nunc, Dimamarc) con 50 μ l de IFN γ de hámster anti-ratón diluída a 1,5 μ g/ml en tampón carbonato a pH 9,5. Después se incubaron las placas durante 1 hora a 37°C con 100 μ l de PBS que contenía seroalbúmina bovina al 1% y Tween 20 al 0,1% (tampón de saturación). Se añadieron diluciones dobles de sobrenadantes procedentes de la estimulación in vitro (empezando a 1/2) en tampón de saturación a las placas recubiertas de anti-IFN- γ y se incubaron durante 1 hora y 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas cuatro veces con PBS, Tween 20 al 0,1% (tampón de lavado) y se añadió IFN γ de cabra anti-ratón conjugada a biotina diluída en tampón de saturación a una concentración final de 0,5 μ g/ml a cada pocillo, y se incubaron durante 1 hora a 37°C. Después de una etapa de lavado, se añadió el conjugado AMDEX (Amersham) diluído 1/10000 en tampón de saturación durante otros 30 minutos a 37°C. Se lavaron las

placas como anteriormente y se incubaron con 50 μ l de TMB (Biorad) durante 10 minutos. La reacción se detuvo con H_2SO_4 0,4N y se leyó a 450/630 nm. Se calcularon las concentraciones utilizando una curva patrón (patrón de IFN γ de ratón) con SoftmaxPro (ecuación de cuatro parámetros) y se expresaron en pg/ml.

IL5 (Pharmingen)

Se realizó la cuantificación de IL-5 por ELISA utilizando reactivos de Pharmingen. Las disoluciones de muestras y anticuerpos se utilizaron a 50 μ l por pocillo. Se recubrieron durante la noche a 4°C placas de microvaloración de 96 pocillos (Inmunoplasmas Maxisorb, Nunc, Dimamarca) con 50 μ l de IL-5 de rata anti-ratón diluída a 1 μ g/ml en tampón carbonato a pH 9,5. Después se incubaron las placas durante 1 hora a 37°C con 100 μ l de PBS que contenía seroalbúmina bovina al 1% y Tween 20 al 0,1% (tampón de saturación). Se añadieron diluciones dobles de sobrenadantes procedentes de la estimulación in vitro (empezando a 1/2) en tampón de saturación a las placas recubiertas de anti-IL-5 y se incubaron durante 1 hora y 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas cuatro veces con PBS, Tween 20 al 0,1% (tampón de lavado) y se añadió IL-5 de rata anti-ratón conjugada a biotina diluída en tampón de saturación a una concentración final de 1 μ g/ml a cada pocillo, y se incubaron durante 1

42

hora a 37°C. Después de una etapa de lavado, se añadió el conjugado AMDEX (Amersham) diluido 1/10000 en tampón de saturación durante otros 30 minutos a 37°C. Se lavaron las placas como anteriormente y se incubaron con 50 µl de TMB (Biorad) durante 15 minutos. La reacción se detuvo con H₂SO₄ 0,4N y se leyó a 450/630 nm. Se calcularon las concentraciones utilizando una curva patrón (IL-5 de ratón recombinante) con SoftmaxPro (ecuación de cuatro parámetros) y se expresaron en pg/ml.

10

GRUPOS

Se inmunizaron intramuscularmente grupos de 10 ratones Balb/C con las siguientes formulaciones:

Tabla 1: Grupos y formulaciones

15

Grupo	FORMULACION
A	2 µg VLP16 / 2 µg VLP18 / 2 µg gD / 5 µg 3D-MPL / 50 µg Al(OH)₃
B	2 µg VLP16/ 2 µg VLP18/ 2 µg HBs/ 2 µg gD/ 5 µg 3D-MPL/ 40 µg Al(OH) ₃ / 10 µg AlPO ₄
C	2 µg gD/ 5 µg 3D-MPL/ 50 µg Al(OH) ₃ ,
D	2 µg VLP16/ 2 µg VLP18/ 5 µg 3D-MPL/ 50 µg Al(OH) ₃ ,
E	2 µg HBs/ 5 µg 3D-MPL/ 10 µg AlPO ₄ / 40 µg Al(OH) ₃ ,

20

Los detalles de las formulaciones se describen anteriormente en Materiales y Procedimientos.

RESULTADOS

5 1. Serología:

a) Respuesta anti-VLP16:

Se midieron las respuestas humorales (Ig) por ELISA utilizando VLP16 503-1 (20-12-99) como antígeno de recubrimiento. El día 14 después de II se analizaron los
10 sueros.

La Figura 1 muestra las respuestas de anticuerpo Ig anti-VLP16 medidas en sueros individuales el día 14 después de II.

15 Las valoraciones anti-VLP16 obtenidas después de la inmunización con la combinación de Ag de VLP, gD y Hbs (grupo B) fueron ligeramente menores que las obtenidas con la combinación de VLP y gD (grupo A) o la formulación monovalente de VLP (grupo D) (GMT respectivamente de 27578
20 frente a 48105 UE/ml frente a 44448 UE/ml). Antes del análisis estadístico se aplicó un test T de Grubbs sobre cada población para la exclusión de datos. Se eliminaron dos ratones sin respuesta de los grupos A y D para el análisis.

25 Las diferencias observadas entre los grupos se mostraron como

estadísticamente no significativas utilizando el test de Student Newman Keuls.

b) Respuesta anti-VLP18:

- 5 Se midieron las respuestas humorales (Ig) por ELISA utilizando VLP18 504-2 (25-10-99) como antígeno de recubrimiento. El día 14 después de II se analizaron los sueros.
- 10 La Figura 2 muestra las respuestas de anticuerpo Ig anti-VLP18 medidas en sueros individuales el día 14 después de II.
- Las valoraciones anti-VLP18 obtenidas después de la inmunización con la combinación de Ag de VLP, gD y Hbs (grupo
- 15 B) fueron de la misma magnitud que la obtenida con la combinación de VLP y gD (grupo A) o la formulación monovalente de VLP (grupo D) (GMT respectivamente de 56078 frente a 88786 UE/ml frente a 76991 UE/ml).
- 20 Antes del análisis estadístico se aplicó un test T de Grubbs sobre cada población para la exclusión de datos. Se eliminaron dos ratones sin respuesta de los grupos A y D para el análisis.
- 25 Las diferencias observadas entre los grupos se mostraron como

estadísticamente no significativas utilizando un test de análisis de varianza de un sentido.

c) Respuesta anti-gD:

- 5 Se midieron las respuestas humorales (Ig e isotipos) por ELISA utilizando gD como antígeno de recubrimiento. El día 14 después de II se analizaron los sueros.

La Figura 3 muestra las respuestas de anticuerpo anti-gD
10 medidas en sueros individuales el día 14 después de II.

Respecto de la ~~respuesta anti-gD, se observó una ligera~~
~~reducción del GMT obtenido~~ con la combinación VLP/gD/HBs
(~~grupo B~~) ~~comparado con gD solo (grupo C)~~ o la combinación
15 VLP/gD (grupo A) (GMT respectivamente de 18631 frente a 32675
frente a 27058 UE/ml).

Antes del análisis estadístico se aplicó un test T de Grubbs
sobre cada población para la exclusión de datos. Se
20 eliminaron dos ratones sin respuesta del grupo A para el
análisis.

Se realizó un análisis de varianza de un sentido sobre las
valoraciones anti-gD después de transformación logarítmica
25 de los datos después de II. No se observó una diferencia

estadísticamente significativa entre las tres formulaciones.

El reparto isotípico analizado en los sueros reunidos fue el siguiente:

5

	Reparto isotípico (%)		
	IgG1	IgG2a	IgG2b
Grupo A	96	3	2
Grupo B	96	3	2
Grupo C	97	1	1

10

No se observó diferencia en el perfil isotípico inducido por las tres formulaciones: la respuesta IgG1 principal (96-97% de IgG1) fue inducida en los 3 grupos como se indica en la tabla siguiente.

15

d) Respuesta anti-HBs:

Se midieron las respuestas humorales (Ig e isotipos) por ELISA utilizando HBsAg (Hep286) como antígeno de recubrimiento. El día 14 después de II se analizaron los

20

La Figura 4 muestra las respuestas de anticuerpo anti-HBs medidas en sueros individuales el día 14 después de II.

Se observa una respuesta de anticuerpo anti-HBs ligeramente menor en el grupo de combinación B que contiene los antígenos VLP, gD y HBs, comparado con el HBs solo (grupo E) (GMT de 28996 UE/ml frente a 20536 UE/ml).

5

Se realizó un análisis de varianza de un sentido sobre las valoraciones anti-HBs después de transformación logarítmica de los datos después de II. No se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo B (VLP/HBs/gD) frente al grupo E (HBs AS04) utilizando un test Student Newman Keuls.

10

El reparto isotípico analizado en los sueros reunidos fue el siguiente y no mostró diferencias entre los 2 grupos con la proporción de IgG2a mantenida en la vacuna de combinación.

15

	Reparto isotípico (%)		
	IgG1	IgG2a	IgG2b
Grupo B	54	24	21
Grupo E	56	23	21

20

2. Respuesta inmune mediada por célula

Se evaluaron las respuestas inmune mediadas por células (producción de IFN- γ /IL-5) el día 14 después de II después de la reestimulación in vitro de células esplénicas con

48

antígenos VLP, gD o HBs. Para cada grupo de ratones se constituyeron reuniones de 5 órganos.

El procedimiento experimental se describe por completo en Materiales y Procedimientos.

5

3. Producción de citocinas

a) Reestimulación in vitro con VLP16 y VLP18

La Figura 5 muestra la producción de citocina medida en células esplénicas después de 96 horas de reestimulación in vitro con VLP16.

La Figura 6 muestra la producción de citocina medida en células esplénicas después de 96 horas de reestimulación in vitro con VLP18.

15 No se ha observado un claro efecto del intervalo de dosis utilizando dosis de Ag de 10 μ g y 1 μ g para la reestimulación con cualquier antígeno VLP en la producción de ambas citocinas.

20 Se observó un claro perfil TH1 con todas las formulaciones.

Tabla 2: Proporción IFN- γ /IL-5 después de reestimulación
in vitro con VLP16 y VLP18.

5

Proporción IFN/IL-5	Grupo A	Grupo B	Grupo C
10 μ g/ml VLP16	5,2	8,9	11,8
1 μ g/ml VLP16	15,1	14,3	16,5

10

Proporción IFN/IL-5	Grupo A	Grupo B	Grupo C
10 μ g/ml VLP18	19,6	11,1	16,1
1 μ g/ml VLP18	23,2	14,3	(18,2)

b) *Reestimulación in vitro con gD*

La Figura 7 muestra la producción de citocina medida en células esplénicas después de 96 horas de reestimulación in vitro con antígeno gD.

15

No se observó un claro efecto del intervalo de dosis comparando las dosis de 10 y 1 μ g de Ag para reestimulación.

20

La IFN- γ se produce en concentración mucho mayor que en comparación con IL-5 (Tabla 3), indicando un claro perfil TH-1 de la respuesta inmune en todos los grupos evaluados (monovalente frente a combinación).

5

Tabla 3: Proporción IFN- γ /IL-5 después de reestimulación in vitro con gD.

	Proporción IFN/IL-5	Grupo A	Grupo B	Grupo C
5	10 μ g/ml gD	6,2	7,2	3,1
	1 μ g/ml gD	6,2	11,2	2,3

c) Reestimulación in vitro con HBs

10 La Figura 8 muestra la producción de citocina medida en células esplénicas después de 96 horas de reestimulación in vitro con HBs.

Se observó un nivel significativo de IFN- γ pero ninguna
15 producción de IL-5 para el grupo B. Como se mostró en la Tabla 2, se observó una mayor producción de IFN- γ en el grupo E comparada con el grupo B. Sin embargo se observó un alto valor de fondo de IFN- γ en el grupo E (HBs monovalente) para el control sin antígeno para reestimulación. Se observó una
20 proporción IFN- γ /IL-5 muy alta con la vacuna monovalente, indicando que se induce una fuerte respuesta TH1. De forma similar, se midió una alta proporción IFN- γ /IL-5 con la vacuna combinada, confirmado la capacidad de esta formulación de inducir también una respuesta TH-1.

5

Tabla 4: Proporción IFN- γ /IL-5 después de reestimulación in vitro con HBs.

	Proporción IFN/IL-5	Grupo B	Grupo E
5	10 μ g/ml HBs	15,8	65,3
	1 μ g/ml HBs	7,6	67,6

CONCLUSIONES

Se evaluó el efecto de la combinación de Ag de VLP/gD o
 10 VLP/gD/HBs formulados en AS04 sobre la inmunogenicidad en ratones Balb/C:

Respecto del análisis serológico, no se observaron
interferencias en la combinación de Ag sobre la serología de
 15 anti-VLP, anti-gD y anti-HBs.

La combinación de VLP y gD o VLP, gD y Hbs no interfirió con el perfil isotípico de la respuesta de anticuerpos mostrada por las vacunas monovalentes gD y HBs.

20

En la evaluación de citocinas, el perfil TH-1 (proporción IFN- γ /IL-5) observado con cada vacuna monovalente fue confirmado con los grupos de vacunas de combinación.

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

5

1. Una composición de vacuna que comprende:
(a) un antígeno de virus del herpes simple (HSV), y
(b) un antígeno de virus del papiloma humano (HPV)
en combinación con un coadyuvante que es un estimulador
10 preferente de la respuesta celular TH1.
2. Una composición de vacuna según la reivindicación 1, que comprende además un vehículo.
- 15 3. Una composición de vacuna según las reivindicaciones 1 o 2, en la que el estimulador preferencial de la respuesta celular TH1 se selecciona del grupo de coadyuvantes que comprende: 3D-MPL, 3D-MPL, siendo el tamaño de partícula de 3D-MPL preferiblemente de aproximadamente igual o inferior
20 a 100 nm, QS21, una mezcla de QS21 y colesterol y un oligonucleótido CpG.
4. Una composición de vacuna según la reivindicación 3, en la que el estimulador preferencial de repuesta celular TH-1
25 es 3D-MPL.

3

5. Una composición de vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el antígeno HSV es gD de HSV-2 o un truncamiento de ésta.

5 6. Una composición de vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende al menos un antígeno de HPV seleccionado del grupo constituido por L1, L2, E6 y E7, opcionalmente en forma de una proteína de fusión o un truncamiento.

10

7. Una composición de vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que está presente además un antígeno de EBV.

15 8. Una composición de vacuna como se define en la reivindicación 7, en la que el antígeno de EBV es gp350.

9. Una composición de vacuna según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que está presente además un
20 antígeno de la hepatitis A.

10. Una composición de vacuna como se define en la reivindicación 9, en la que el antígeno de HAV deriva de la cepa HM-175.

25

11. Una composición de vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que está presente además un antígeno del virus de la hepatitis B (HBV).
- 5 12. Una composición de vacuna como se define en la reivindicación 11, en la que el antígeno de HBV es el antígeno de superficie de hepatitis B.
13. Una composición de vacuna según una cualquiera de las
10 reivindicaciones 1 a 12, en la que el vehículo se selecciona del grupo constituido por hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio y tocoferol y una emulsión de aceite en agua.
14. Una composición de vacuna según una cualquiera de las
15 reivindicaciones 1 a 13, que comprende además un antígeno de VZV.
15. Una composición de vacuna según la reivindicación 14, en la que el antígeno de VZV es gpI.
- 20 16. Una composición de vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, que comprende además un antígeno de HCMV.
- 25 17. Una composición de vacuna según la reivindicación 16,

en la que el antígeno de HCMV es gB685" o pp65

18. Una composición de vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, que comprende además un antígeno de
5 *Toxoplasma gondii*.

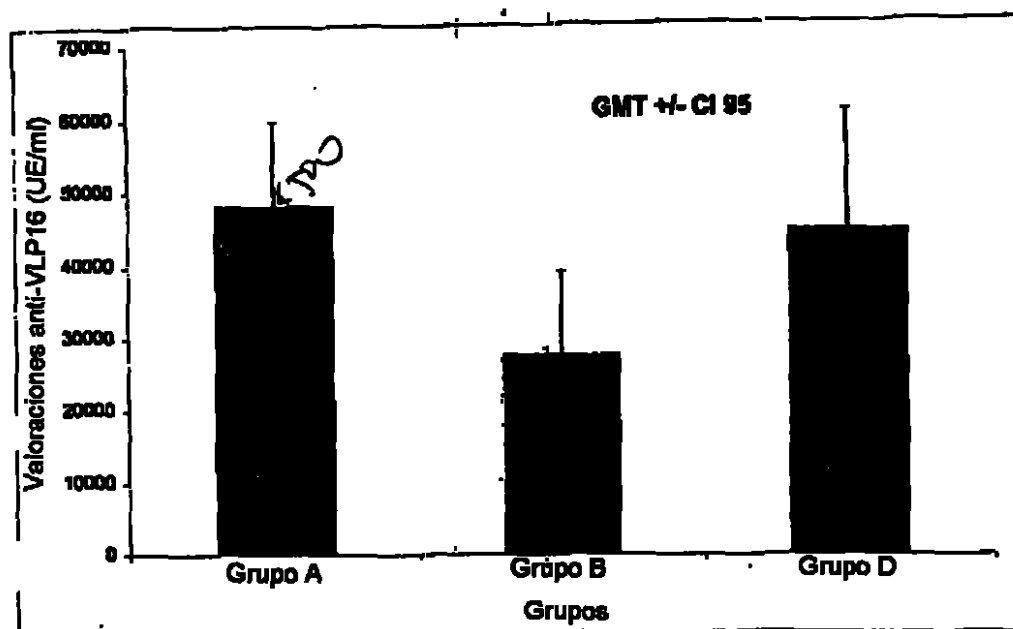
19. Una composición de vacuna según la reivindicación 18, en la que el antígeno de *Toxoplasma gondii* es SAG1 o TG34.

10 20. Una composición de vacuna según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende el antígeno gDt de HSV-
. 2 y un antígeno de HPV elegido del grupo constituido por L1, L2, E6, E7, proteína D-E6, proteína D-E7 o L2-E7 de HPV y opcionalmente además uno o más antígenos S de HBsAg, gp 350
15 de EBV, gpI de VZV, cepa inactivada HM-175 de HAV, gB685" o pp65 de HCMV y los antígenos SAG1 o TG34 de *Toxoplasma gondii*.

RESUMEN

Se proporcionan nuevas composiciones de vacuna que comprenden un antígeno de virus del herpes simple (HSV) y un antígeno de HPV y opcionalmente además uno o más de los siguientes: un antígeno de EBV, un antígeno de hepatitis A o virus atenuado inactivado, un antígeno vírico de hepatitis B, un antígeno de VZV, un antígeno de HCMV, un antígeno de *Toxoplasma gondii*. Las composiciones de vacuna se formulan con un coadyuvante que es un estimulador preferencial de la respuesta celular TH1, como 3D-MPL y QS21.

FIGURA 1: Respuesta anti VLP16 el día 14 después de II
Resultados en sueros individuales (UE/ml)



58

FIGURA 2: Respuesta anti VLP18 el día 14 después de II
Resultados en sueros individuales (UE/ml)

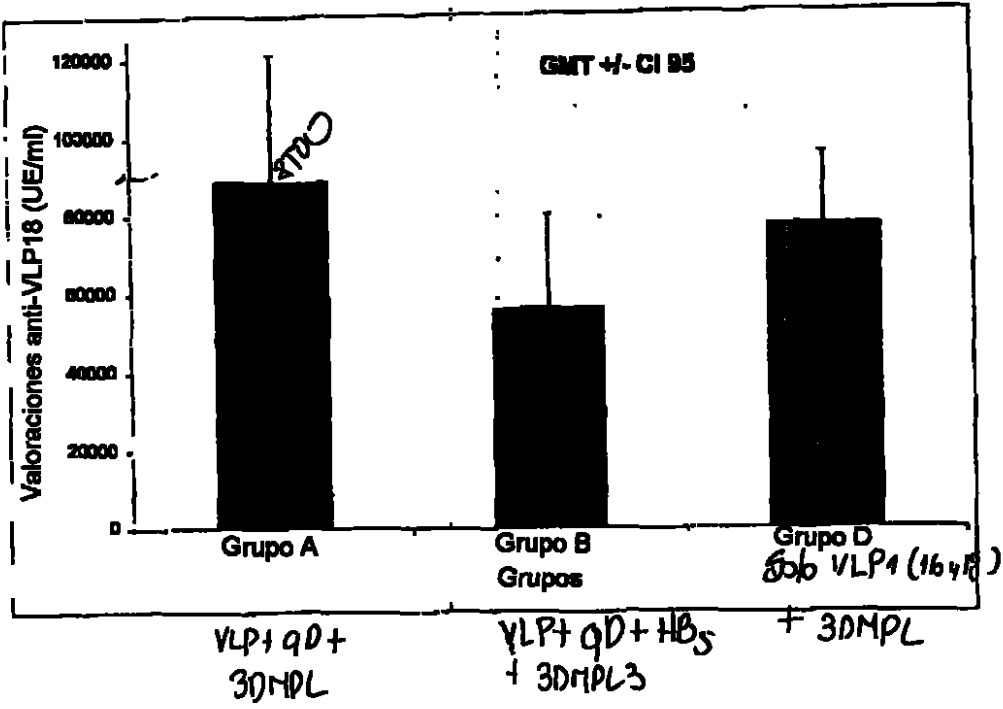
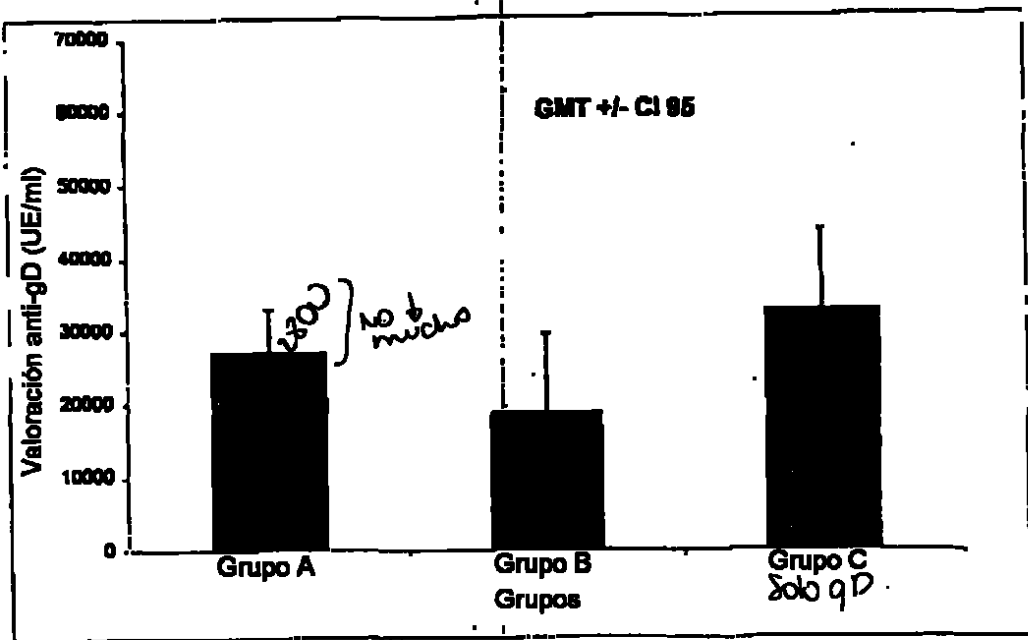


FIGURA 3: Respuesta anti gD el día 14 después de II
Resultados en sueros individuales (UE/ml)



60

FIGURA 4: Respuesta anti HBs el día 14 después de II
Resultados en sueros individuales (UE/ml)

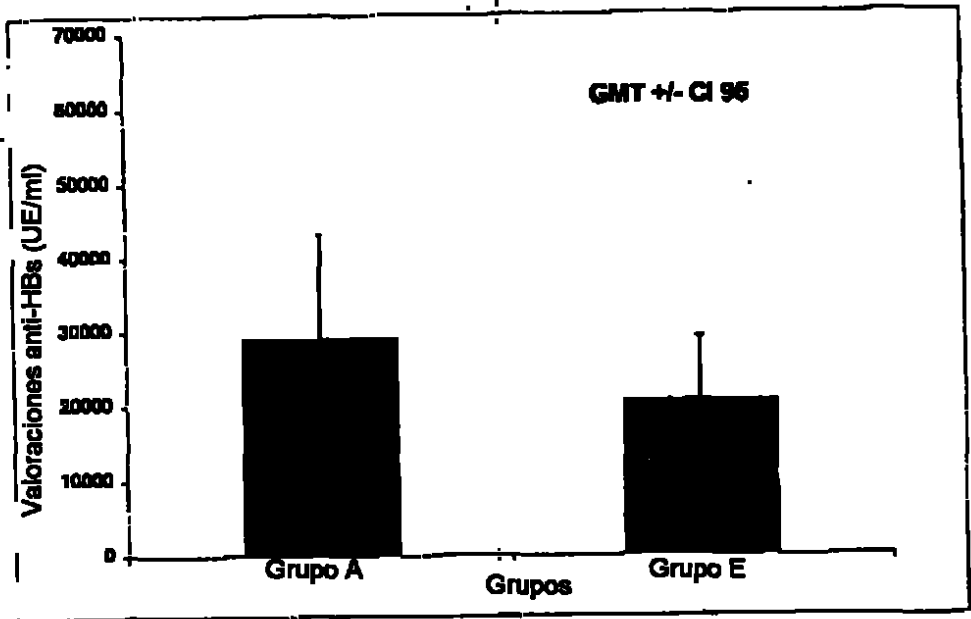
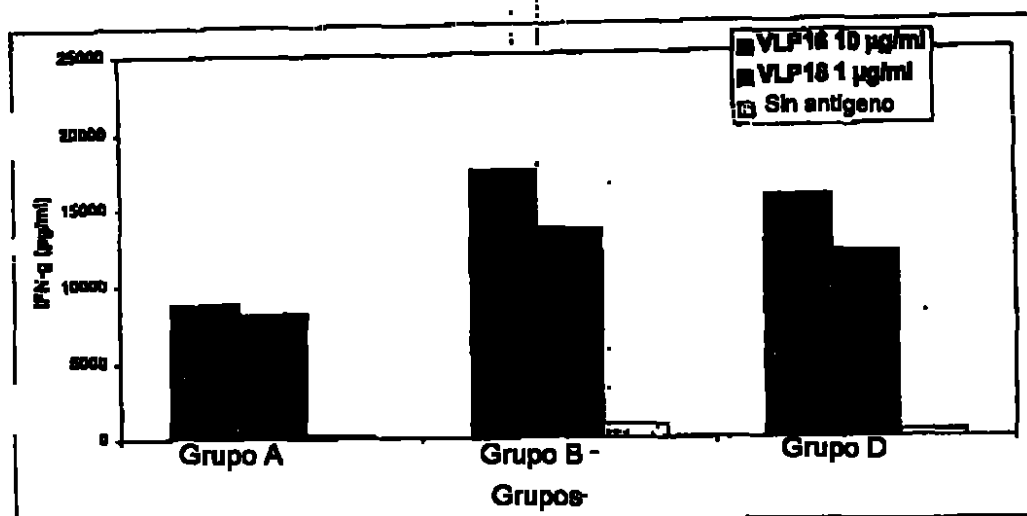


FIGURA 5: RESULTADOS DE CITOCINAS. DIA 14 después de II
Producción de IFN- γ después de estimulación in vitro con
VLP16



Producción de IL-5 después de estimulación in vitro con VLP16

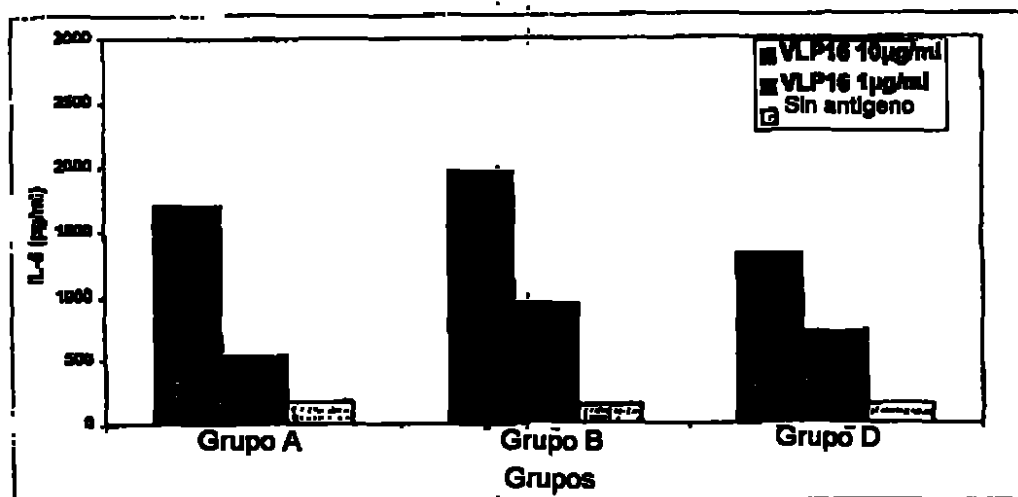
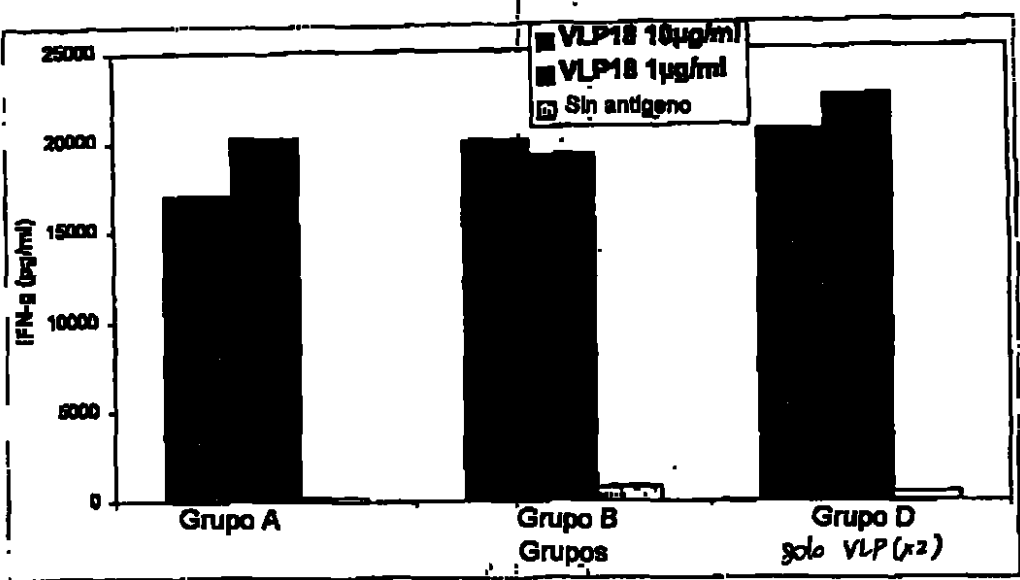


FIGURA 6: RESULTADOS DE CITOCINAS. DIA 14 después de II
Producción de IFN- γ después de estimulación in vitro con
VLP18



Producción de IL-5 después de estimulación in vitro con VLP18

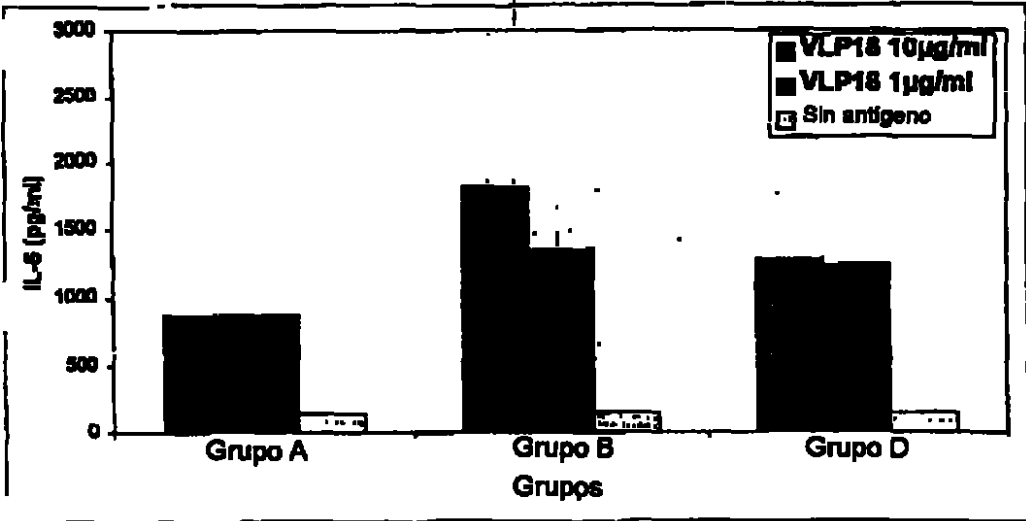
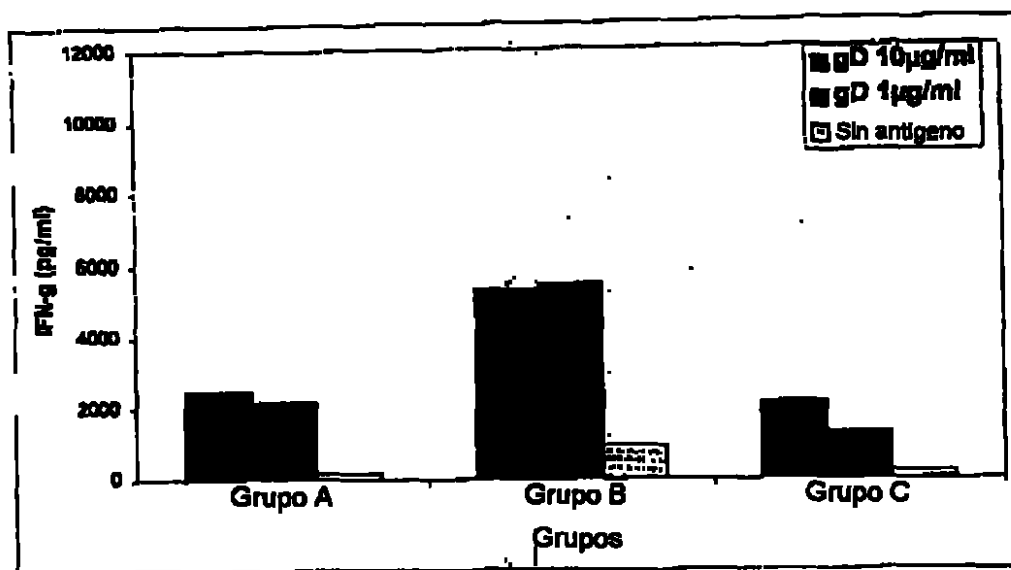


FIGURA 7: RESULTADOS DE CITOCINAS. DIA 14 después de II
Producción de IFN- γ después de estimulación in vitro con gD



Producción de IL-5 después de estimulación in vitro con gD

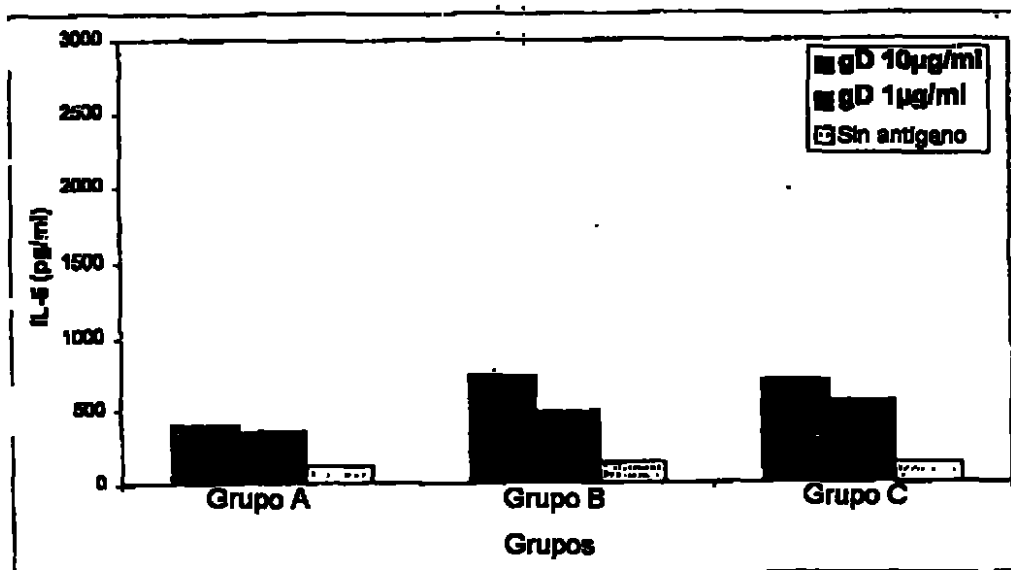
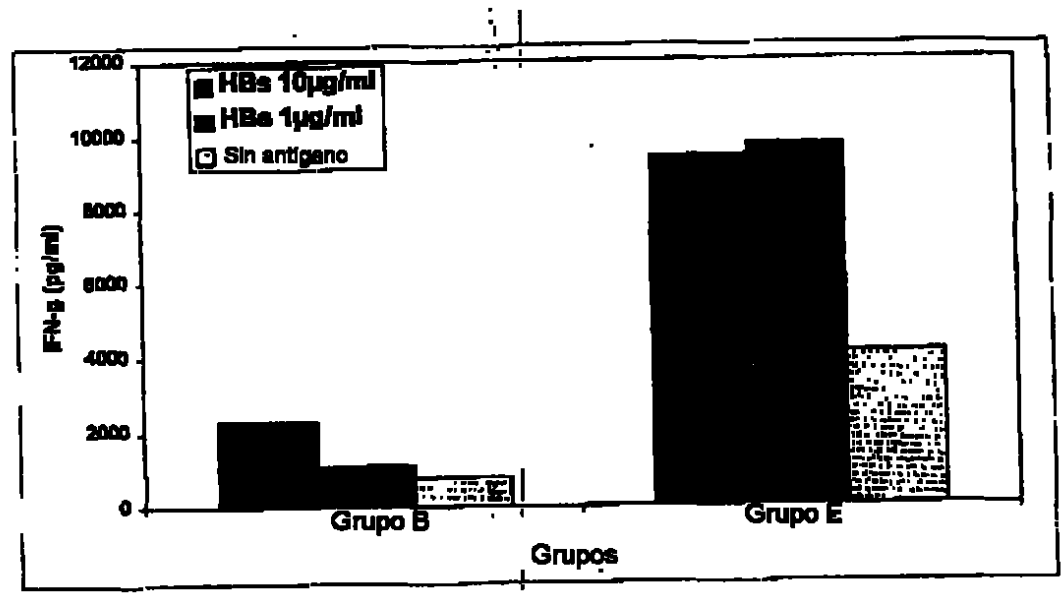
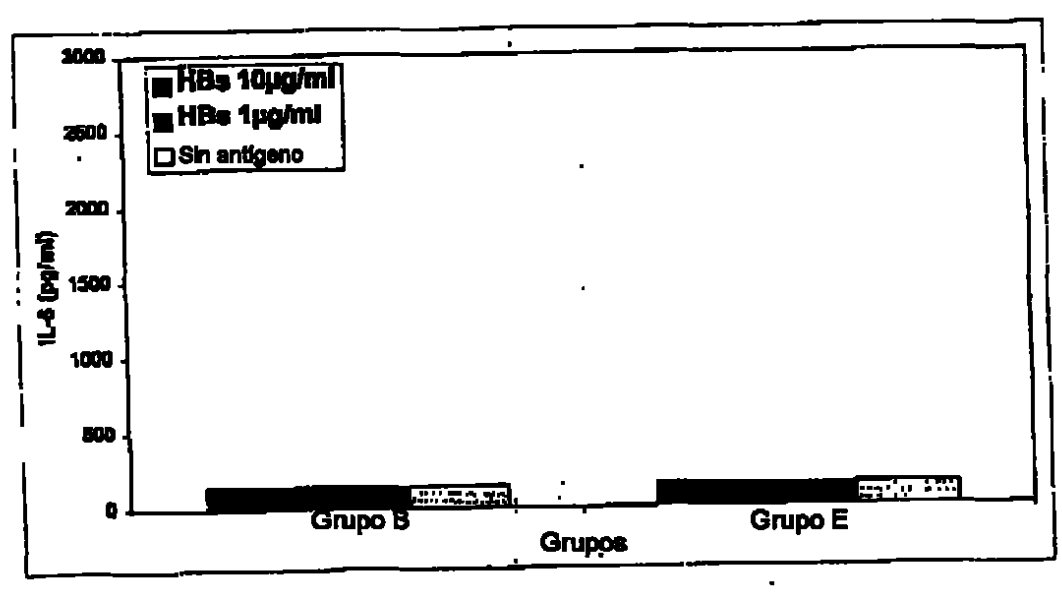


FIGURA 8: RESULTADOS DE CITOCINAS. DIA 14 después de II
Producción de IFN- γ después de estimulación in vitro con HBs

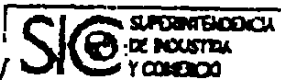


Producción de IL-5 después de estimulación in vitro con HBs



Se retiraron las folios 65 y 66
de tarjetas.

**EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION**



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

(21) No. SOLICITUD:

(51) INT. CL.:

(22) FECHA DE
PRESENTACIÓN:

(71) SOLICITANTE:

(30) PRIORIDAD:

SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.

(31) No. DE SOLICITUD: GB9921146.8

(72) INVENTORES:

(32) FECHA DE

PRESENTACIÓN: Septiembre 8/99

Martine Anne Cecile WETTENDORF

(33) PAÍS:

INGLESA

(74) APODERADO:

GERMAN CASTILLO GRAU

(54) TÍTULO: NUEVA COMPOSICION

(57) RESUMEN:

1. Una composición de vacuna que comprende:

(a) un antígeno de virus del herpes simple (HSV), y

(b) un antígeno de virus del papiloma humano (HPV)

en combinación con un coadyuvante que es un estimulador preferente de la respuesta celular TH1.

3. Una composición de vacuna según las reivindicaciones 1 o 2, en la que el estimulador preferencial de la respuesta celular TH1 se selecciona del grupo de coadyuvantes que comprende: 3D-MPL, 3D-MPL, siendo el tamaño de partícula de 3D-MPL preferiblemente de aproximadamente igual o inferior a 100 nm, QS21, una mezcla de QS21 y colesterol y un oligonucleótido CpG.



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- Nombre e identificación del Solicitante ☐
- Nombre e identificación del Inventor ☐
- Título o nombre de la Invención ☐
- Descripción ☐
- Reivindicaciones ☐
- Resumen ☐
- Comprobante de Pago ☐
- Poder, cuando proceda ☐
- Copia de la primera solicitud de patente, si reivindica prioridad, señalándola expresamente ☐
- Firma del solicitante o apoderado ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Nombre e identificación del peticionario ☐
- Nombre e identificación del inventor o diseñador ☐
- Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse ☐
- Representación gráfica ☐
- Comprobante de pago ☐
- Poder, cuando proceda ☐
- Firma del solicitante o apoderado ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha Radicación : 00066485 00000000 Folios: 67

Fecha (RMD): 2000-09-05 13:27:57

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRADO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10

Conmutador: 334 12 21-3-4

Fax: 281 31 25 e-mail: info@ic.gov.co

Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 00-66605.

Fecha: 6 de septiembre del 2000.

Se certifica que:

Desde fecha 12 de julio de 1996,
del folio 86.459 al folio 86.464 del
libro de Protocolo N^o 298, obra el poder
N^o 16.769 conferido por SMITHKLINE
BEECHAMAN BIOLOGICALS S.A.

domiciliado(a) en Rixensart - Bélgica

al doctor GERMAN CASTILLO GRAU y/o ADRIANA
CASTILLO GIBSONE y/o LUIS FELIPE CASTILLO
GIBSONE

Representante en Santafé de Bogotá D.C. Los
mismos

Facultad para desistir SI.

Revisado _____.

**DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
PRIMER EXAMEN DE FORMA**

EXPEDIENTE: 00-66605

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

SI [X] NO [] NO APLICABLE [] Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a).

SI [X] NO [] NO APLICABLE [] Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94).

SI [x] NO [] NO APLICABLE [] Presentó, en forma correcta, el comprobante de pago por la tasa de presentación (art. 13-f de la Decisión 344 y el Decreto 298 del 17 de febrero de 1999)

SI [X] NO [] EXTEMPORANEAMENTE [] Revindicó prioridad, de acuerdo con lo previsto en el art. 12 de la Decisión 344.

SI [] NO [X] NO APLICABLE [] Indicó fuente normativa de reciprocidad (Decisión 344, art. 12; Decreto 117/94, art. 4 literal f).

SI [] NO [X] NO APLICABLE [] Contiene la copia de la solicitud de la cual reclama prioridad (art. 14-b Decisión 344).

SI [] NO [X] NO APLICABLE [] Contiene la traducción oficial de las reivindicaciones de la primera solicitud de patente, avalada por el Ministerio de Relaciones Exteriores (arts. 14-c Decisión 344, 4-e) Decreto 117/94, Circular externa número 004 de 1997).

SI [] NO [X] CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS

OBSERVACIONES Y OTROS:

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

SI [] NO [X] Se ajusta a los aspectos **FORMALES** Indicados en la Decisión 344 y por tanto,

SI [] NO [X] Se recomienda **PUBLICAR** el extracto correspondiente.

Bogotá, D.C., 6 de septiembre del 2000

EXAMINADOR JURIDICO.
202022

Carrera 13 N° 27-00 Pisos 5° y 10°
Conmutador 334 1221-2-3-4
Fax 281 3125
Santafé de Bogotá, D.C. - Colombia

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO.
PRIMER EXAMEN DE FORMA.

Radicación No. 00-66605

Concepto Técnico No. 1702

Clasificación Internacional de Patentes: A61K 39/295, A61K 39/245.

Practicado el examen, de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344, se determinó que la presente solicitud de **Patente de Invención**:

- | | |
|--|--|
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del inventor (Art. 8, Art 13-a). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del solicitante (Art. 13-a) |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art. 13-e) |
| SI ☐ NO ☒ | Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art. 13-b) |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art. 13-c). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene los dibujos correctos (Art. 14-c junto con el literal d) del Art. 4 del (Dto. 117 del 94). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art. 14-c junto con el Dto. 3464 del 26 de diciembre de 1980) |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual solicita protección mediante la patente (Art. 13-d). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 de Dto 117 del 94. |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 del 94. |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la tarjeta de archivo temático (forma P-104) en forma correcta (Artc 14-c junto con el literal b) del 1rt. 4 del Dto. 117 del 94). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la tarjeta de archivo de propietarios (forma P-105) en forma correcta (Art. 14-c junto con el literal b) del Art. 4 del Dto. 117 del 94). |
| SI ☐ NO ☒ | CUMPLE CON LOS REQUISITOS TÉCNICOS DE FORMA. |

OBSERVACIONES DEL PRIMER EXAMEN TÉCNICO DE FORMA:

El título es muy general, no permite precisar cual es el objeto de la solicitud. Sírvase modificarlo de modo que corresponda con el objeto reclamado en las reivindicaciones y mencionado en el resumen y precise el objeto de la invención. Una opción para la modificación puede ser Vacunas polivalentes que comprenden antígenos de HSV y HPV.

EXAMINADOR TÉCNICO: 202016.

Bogotá, D.C., 27 de octubre de 2000

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

EXPEDIENTE 00-66605

AUTO 3187

LA JEFE DE DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE:

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería al doctor GERMAN CASTILLO GRAU como apoderado de la Sociedad solicitante, en los términos y para los efectos del poder conferido.

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérese al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complementé los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndole que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Bogotá D.C., a los _____

07 NOV. 2000

LA JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES,

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Bogotá D.C., **07 NOV 2000** notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI _____ NO _____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA