

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 03-021871- -00008-0000

Fecha: 2009-06-18 16:40:21 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11: PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 21

Re: Expediente No. 03.021.871

Solicitud de patente de invención titulada:

“VACUNA DE ANTICUERPOS POLISACARIDOS BACTERIANOS”.

Solicitante: SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.

Nuestra Ref.: P2003/000023

RESPUESTA AL OFICIO No. 3457 NOTIFICADO POR FIJACIÓN EN LISTA No. 77,
DE FECHA 20 DE MARZO DE 2009
(SEGUNDO EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, 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. En primer lugar y con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad al Capítulo Reivindicatorio presentado en respuesta al primer examen de fondo.

En el **Capítulo Reivindicatorio Modificado** se realizaron las siguientes modificaciones:

- Se modifica la redacción de la Reivindicación 9. El soporte para tal modificación se encuentra en la Reivindicación 1 y en la página 5, líneas 11-24.

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486 de la CAN, ya que éstas de ninguna

manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

2. a- El Examinador argumenta que la Reivindicación 9 es inaceptablemente amplia, puesto que el método reclamado contempla una mayor cantidad de antígenos que aquellos definidos en la Reivindicación 1.

b- Con el ánimo de superar la anterior objeción la Reivindicación 9 ha sido modificada, de tal forma que ahora se lee:

“Un método para fabricar una composición inmunogénica, que comprende los pasos de:

- a) seleccionar antígenos polisacáridos de *Streptococcus pneumoniae* derivados de al menos cuatro de los siguientes serotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, y 33F;
 - b) seleccionar un antígeno proteico neumocócico del grupo que consiste en PhtA, PhtB, PhtD y PhtE; y
 - c) mezclar dichos antígenos proteicos y polisacáridos con un excipiente adecuado.
3. a- El Examinador establece que las patentes WO90/06951 (D1) y WO00/37105 (D2) afectan el nivel inventivo de la presente invención.

El Examinador argumenta que D1 revela composiciones de vacuna que comprenden polisacáridos capsulares de *S. pneumoniae* conjugados con una proteína Portadora (neumolisina modificada). El Examinador anota que la única diferencia entre la presente invención y D1 es la selección específica de la proteína antigénica del grupo de la triada de histidina. Sin embargo, con respecto a esta diferencia, el Examinador señala que D2 divulga una composición de vacuna que comprende fragmentos activos que incluyen residuos peptídicos del grupo de la triada de histidina.

El Examinador concluye que la combinación de las referencias D1 y D2 ilustran los elementos esenciales de la presente invención y sugiere su asociación. Es decir, una persona medianamente versada en la materia con conocimiento de D1 y D2 habría empleado los péptidos conjugados de D2 en las composiciones divulgadas en D1, esperando obtener una inmunogenicidad aumentada.

b- i) En cuanto a las referencias citadas, D1 puede ser considerado el arte previo más cercano, en tanto que divulga vacunas que comprenden antígenos polisacáridos (capsulares), conjugados con una proteína vehículo derivada de *S.pneumoniae* (neumolisina modificada).

Sin embargo, el problema técnico objetivo abordado por la presente invención es, ¿cómo adaptar la vacuna revelada en D1 para desarrollar una vacuna que use tanto la respuesta humoral, como la respuesta celular del sistema inmune, para generar una protección mejorada contra *S. pneumoniae*?

La presente solicitud enseña que mediante estimulación simultánea de la rama celular y de la rama humoral se presenta una sinergia que es capaz de aumentar la tasa de eliminación del neumococo fuera del huésped. Asimismo, se indica que los inventores encontraron que los dos brazos del sistema inmune (celular y humoral) pueden ser estimulados de manera sinérgica si se combina un antígeno polisacárido de *S. Pneumoniae* con una proteína seleccionada del grupo consistente en PhtA, PhtD, PhtB, PhtE, SpsA, LytB, LytC, LytA, Sp125, Sp101, Sp128, Sp130 y Sp133 (página 5, párrafos 2 y 3). Esta información no fue revelada o siquiera sugerida en D1.

Es decir, aún cuando D1 revela vacunas que comprenden antígenos polisacáridos (capsulares) derivados de diferentes serotipos de *S. pneumoniae*, conjugados con una proteína vehículo (neumolisina modificada), nada en el arte previo citado por el Examinador enseña que combinaciones que comprenden un antígeno de proteína de *S. pneumoniae* (PhtA, PhtD, PhtB o PhtE) y al menos cuatro antígenos polisacáridos de *S. pneumoniae* (derivados de los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, y 33F) proporcionarían protección completa frente a infecciones por *S. pneumoniae*, debida a la activación conjunta de las respuestas humoral y celular, tal como se demuestra en el Anexo 1 presentado en respuesta al primer Examen de Fondo. Adjunto de nuevo este Anexo 1 al presente para inmediata referencia.

En dicho anexo se muestran los resultados de dos experimentos que compararon el efecto de inmunización en ratones con PhtD, inmunización pasiva con anticuerpos anti-polisacáridos, y la combinación de la inmunización con PhtD e inmunización pasiva a polisacáridos. En ambos experimentos, los anticuerpos contra PhtD o polisacáridos, condujeron a una protección leve contra el desafío letal del ataque con una cepa apropiada de *S. pneumoniae*.

Por el contrario, la combinación de anticuerpos contra PhtD y contra polisacáridos resultó proporcionar una protección completa. En efecto, los resultados mostrados en el Anexo 1

demuestran que la combinación de PhtD y un polisacárido neumocócico, ciertamente proporciona un efecto sinérgico en la respuesta inmune, resultando en una protección completa. Esto, causado por la estimulación simultánea del sistema inmune mediado por actividad celular (por ejemplo, la inmunidad mediada por células T) en adición a la actividad humoral del sistema inmune (mediada por células B).¹

ii) Adicionalmente, de la lectura de D1, una persona medianamente versada en la materia estaría motivada a usar pneumolisina alterada en conjugación con polisacárido capsular de *S. pneumoniae* en una vacuna. Sin embargo, en D1 no existe sugerencia alguna acerca de qué otra proteína antigénica de *S. pneumoniae* podría ser útil para la formulación de una vacuna mejorada, así como tampoco, acerca de las características que debería tener dicha otra proteína. Por lo tanto, la vacuna de la Reivindicación 1 no resulta derivada de D1, en particular, teniendo en cuenta los excelentes resultados de protección contra infecciones de *S. pneumoniae*, alcanzados mediante la inmunización polisacáridos-Pht como se enseña en el Anexo 1.

Es decir, aun si la persona medianamente versada en el arte, siguiendo las enseñanzas de D1, se hubiese visto motivada a usar antígenos polisacáridos de *S. pneumoniae*, necesariamente hubiese considerado como esencial el empleo de la proteína de pneumolisina modificada, la cual no se contempla en la presente invención. Igualmente, a partir de D1 no hubiera podido esperar que, al emplear una proteína diferente, se lograría estimular tanto la respuesta humoral como la celular.

iii) Por otra parte y en relación con D2, aún cuando dicho documento se refiere a composiciones de vacunas que contienen residuos de la triada de histidina, nada en D2 enseña o sugiere la combinación de dichos antígenos de proteína de *S. pneumoniae* con antígenos polisacáridos de *S. pneumoniae*, tal como se reivindica en la presente invención. Es decir, el Examinador no ha demostrado por qué, más allá del simple azar, una persona versada en el arte hubiese combinado D1 y D2.

En D2 no se proporciona información acerca de las ventajas de combinar las proteínas de la triada de histidina con polisacáridos, como lo son lograr estimular los dos brazos de la respuesta inmune. De hecho, en dicha referencia se indica que proteínas que contienen la triada de histidina son suficientes para proteger a un individuo vacunado frente a la infección (página 1, líneas 15 a 20). Adicionalmente, en el Ejemplo 6 y en la Figura 8 de D2 se ilustra la protección

¹ Ver final de la página 3 del Anexo 1.

alcanzada en ratones expuestos a 3 cepas de *S. pneumoniae*, sugiriendo que no es necesario el empleo de algún antígeno adicional, aparte de Pht.

iv) En gracia de discusión, si una persona medianamente versada en la materia por pura suerte hubiese combinado las enseñanzas de D1 y D2, y llegase a formular combinaciones de antígenos de proteínas de *S. pneumoniae* y de polisacáridos de *S. pneumoniae*, necesariamente hubiese empleado neumolisina modificada como proteína vehículo, pues ninguna de dichas referencias sugiere omitir su empleo en formulaciones inmunogénicamente efectivas. Dicho de otra manera, ¿qué motivación existía para omitir el uso de este elemento contemplado por el estado de la técnica?

v) Como aspecto fundamental, deseo resaltar que la presente invención enseña claramente que la combinación de un polisacárido capsular con una proteína de la familia Pht es capaz de generar una respuesta tanto celular como humoral en el sistema inmune, con el fin de generar una protección casi completa frente a una dosis letal de *S. pneumoiae*. Esta enseñanza no estaba en ningún momento presente o sugerida en D1 o D2, o en la combinación de estas referencias.

Nuevamente, llamo la atención del Examinador al hecho que el Anexo 1 demuestra claramente la respuesta sinérgica lograda cuando se combinan polisacáridos neumocócicos y proteínas antigénicas del tipo Pht en una sola vacuna.

vi) El Anexo 2, a la respuesta al primer examen de fondo enseña resultados adicionales que demuestran que el mismo concepto puede aplicarse en el desarrollo de vacunas más complejas que contienen múltiples polisacáridos neumocócicos y múltiples proteínas. Para referencia inmediata adjunto este Anexo 2 al presente memorial.

Los ensayos experimentales del Anexo 1 usaron PhtD como proteína libre y los ensayos del Anexo 2 muestran que la PhtD resulta igualmente efectiva cuando se utiliza como una proteína conjugada. Asimismo, los experimentos en el Anexo 1 se realizaron usando un solo polisacárido; sin embargo, las vacunas de la invención también son efectivas cuando se utilizan múltiples polisacáridos. Así, el Ejemplo 4 utiliza conjugados de 11 polisacáridos y 13 polisacáridos en vacunas que contienen Pht, mientras que los Ejemplos 5, 6 y 8 utilizan vacunas con 13 polisacáridos.

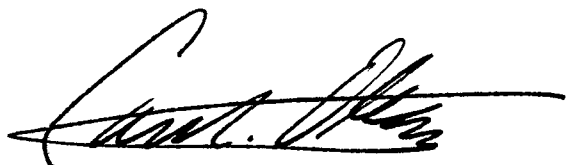
De esta forma, queda claro que la materia reivindicada en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto no se deriva evidentemente de D1 o D2, independientemente o en combinación.

4. Para terminar, si bien es cierto que las concesiones de patentes en oficinas de otros países no son vinculantes en el sentido que obliguen a la SIC a tomar una decisión en el mismo sentido, sí considero que dichas concesiones sugieren el cumplimiento de los requisitos de patentabilidad de la materia reivindicada, ya que los criterios de evaluación y estudio aplicados para determinar la novedad y nivel inventivo resultan equivalentes a los que la Superintendencia debe emplear. Tan cierto es lo anterior, que el Manual Andino de Patentes, al comentar el Artículo 46 de la Decisión 486, establece que una Oficina nacional competente podrá reconocer los resultados de exámenes de novedad o de patentabilidad efectuados respecto a la solicitud extranjera equivalente, como suficientes para acreditar el cumplimiento de las condiciones de patentabilidad.²

Así las cosas, deseo poner bajo su conocimiento el hecho de que en relación con la presente solicitud, además de Australia, China y Nueva Zelanda, han sido otorgados privilegios de patente en Singapur y Sudáfrica. De nuevo, aunque dichas patentes no son vinculantes para la oficina nacional, sí corresponden a un fuerte indicio sobre el cumplimiento de los requisitos de patentabilidad de la invención reivindicada, puesto que los requisitos de novedad y nivel inventivo son requisitos universales y objetivos.

5. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por el Examinador han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que se proceda a otorgar el privilegio de patente a la presente invención.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

² Manual Andino de Patentes. Sección 7.3.

Anexos:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado
- Anexo 1: Sinergia entre las respuestas inmunes dirigidas contra la PhtD y el polisacárido capsular neumocócico en el *S. pneumoniae* en el modelo letal de ratón.
- Anexo 2: Ejemplos 3 a 8 relacionados con la presente invención.

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

(Segundo Examen de Fondo)

- 5 1. Una composición inmunogénica que comprende:
- antígenos polisacáridos de *Streptococcus pneumoniae* derivados de al menos cuatro de los siguientes serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F; y
 - un antígeno proteico de *Streptococcus pneumoniae* seleccionada del grupo que
- 10 consiste en PhtA, PhtB, PhtD y PhtE.
2. La composición inmunogénica de la Reivindicación 1, donde los antígenos polisacáridos se presentan en la forma de un conjugado polisacárido-proteína portadora.
- 15 3. La composición inmunogénica de la Reivindicación 2, donde la proteína portadora se selecciona del grupo que consiste en: toxoide diftérico, toxoide tetánico, CRM197, hemocianina de *Megathura crenulata* -lapa californiana- (keyhole Limpet Haemocyanin (KLH)), proteína derivada de tuberculina (PPD), y proteína D de *H. influenzae*.
- 20 4. Una composición inmunogénica de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, donde la vacuna comprende al menos siete antígenos polisacáridos neumocócicos de diferentes serotipos.
- 25 5. Una composición inmunogénica de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, que comprende un adyuvante que comprende una sal de aluminio, por ejemplo gel de hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio.
- 30 6. Una composición inmunogénica de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, que comprende un adyuvante que es preferiblemente un inductor de una respuesta TH1 y comprende uno, dos o tres de los siguientes: 3D-MPL, una saponina immunoestimulante; o un oligonucleótido CpG immunoestimulante.
- 35 7. Una composición inmunogénica de la Reivindicación 6, donde el adyuvante comprende un vehículo seleccionado del grupo que comprende: una emulsión aceite en agua, liposomas, y una sal de aluminio.
8. Una vacuna que comprende la composición inmunogénica de las Reivindicaciones 1-7.

9. Un método para fabricar una composición inmunogénica, que comprende los pasos de:

- 5 a) seleccionar antigénicos polisacáridos de *Streptococcus pneumoniae* derivados de al menos cuatro de los siguientes serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, y 33F;
- b) seleccionar un antígeno proteico neumocócico del grupo que consiste en PhtA, PhtB, PhtD y PhtE; y
- 10 c) mezclar dichos antígenos proteicos y polisacáridos con un excipiente adecuado.

10
P3

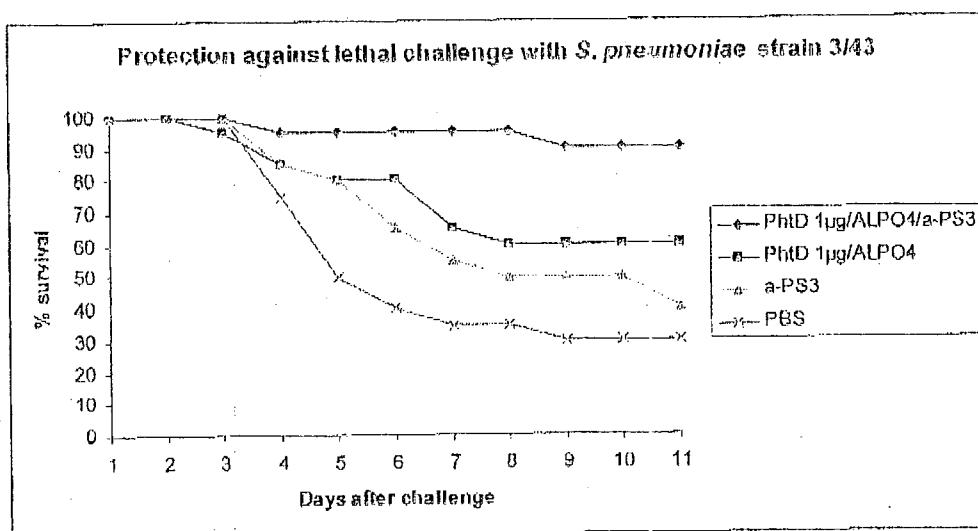
ANNEX 1

1) Synergy between immune responses directed against PhtD and pneumococcal capsular polysaccharide in the *S. pneumoniae* lethality mouse model.

The potential synergy between immune responses directed against PhtD and capsular polysaccharides was evaluated in the mouse lethal *S. pneumoniae* challenge model. Mice were intramuscularly immunized three times (D0, 14 and 28) with PhtD. One hour before the bacterial challenge, anti-polysaccharides antibodies were passively transferred to mice (IP, 200 μ l). Lethality induced by *S. pneumoniae* was followed up to 8 or 11 days after challenge. The synergy of protection is presented here for two *S. pneumoniae* strains (serotype 3 and serotype 1).

S. pneumoniae strain 3/43 challenge model:

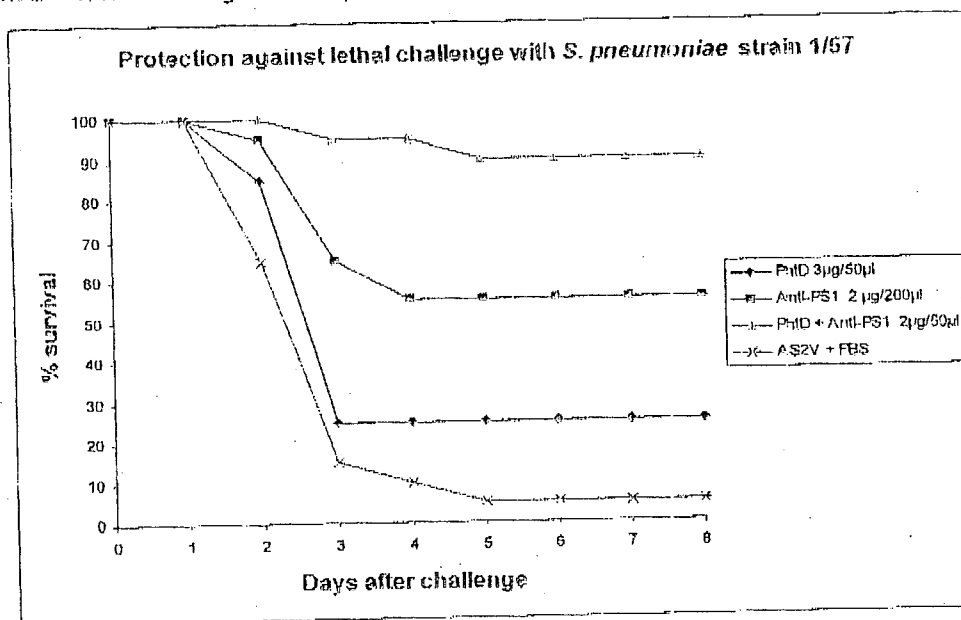
In this experiment (LIMS 20040402), OF1 mice were immunized with PhtD adsorbed onto ALPO4 and 1.25 μ g of anti-P53 guinea pig antibodies were passively transferred 1 hour before challenge with *S. pneumoniae* serotype 3 (Spn 3/43).



70% lethality was observed in mice having received PBS only. A moderate protection was observed in group of mice that received anti-PS3 antibodies or mice immunized with PhtD. A synergy, leading to an almost complete protection, was obtained in mice that combined active and passive immunization against PhtD and PS3, respectively.

S. pneumoniae serotype 1/57 challenge model:

In this experiment (LIMS 20070331), OF1 mice were immunized with PhtD adjuvanted with a TH1 adjuvant and anti-PS1 guinea pig antibodies were passively transferred one hour before challenge with *S. pneumoniae* serotype 1 (Spn 1/57).



A high lethality was observed in the control group in which mice received TH1 adjuvant (active immunization) and PBS only (passive immunization). A moderate protection was observed in group of mice that received anti-PS1 antibodies (55% survival) or mice immunized with PhtD (25% survival). A synergy, leading to an almost complete protection, was obtained in mice that combined active and passive immunization against PhtD and PS1, respectively.

Those data support the synergistic effect of the immune responses directed against a pneumococcal protein (i. e. PhtD) and capsular polysaccharides in the mechanism of protection against *S. pneumoniae* infection.

12
175Annex 2**Example 3, Effectiveness of Pneumococcal Histidine Triad Protein D (PhtD) as a protein carrier to enhance the immunogenicity of PS 22F in young Balb/c mice**

5

Groups of 40 female Balb/c mice (4-weeks old) were immunized IM at days 0, 14 and 28 with 50 µl of either 4-valent plain PS or 4-valent PhtD-conjugated PS, both admixed with Adjuvant C.

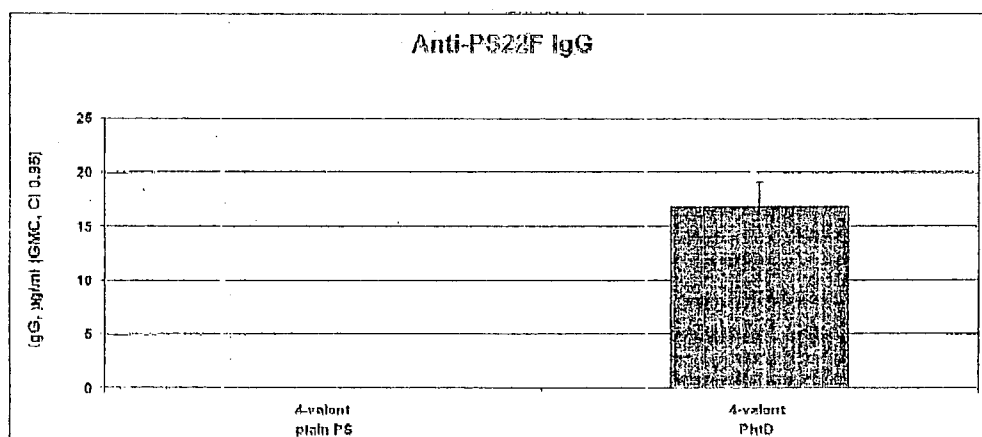
Both vaccine formulations were composed of 0.1 µg (quantity of saccharide) of each of the following PS: PS8, PS12F, PS19F and PS22F.

10

Anti-PS ELISA IgG levels were dosed in sera collected at day 42.

15

The anti-PS22F response, shown as an example in Figure 4, was strongly enhanced in mice given 4-valent PhtD conjugates compared to mice immunized with the plain PS. The same improvement was observed for the anti-PS8, 12F and 19F IgG responses (data not shown).



20

Figure 1 PS22F immunogenicity in Balb/c mice (post-III IgG levels)

25

30

13
176

Example 4, Immunogenicity in elderly C57Bl mice of 13-valent PS conjugates containing 19A-dPly and 22F-PhtD

Groups of 30 old C57Bl mice (>69-weeks old) were immunized IM at days 0, 14 and 28 with 50 µl of either 11-valent PS conjugates or 13-valent PS conjugates, both admixed with Adjuvant C (see below).

The 11-valent vaccine formulation was composed of 0.1 µg saccharide of each of the following conjugates: PS1-PD, PS3-PD, PS4-PD, PS5-PD, PS6B-PD, PS7F-PD, PS9V-PD, PS14-PD, PS18C-TT, PS19F-DT and PS23F-PD. The 13-valent vaccine formulation contained in addition 0.1 µg of PS19A-dPly and PS22F-PhtD conjugates. In group 2 and 4 the pneumolysin carrier was detoxified with GMBS treatment, in group 3 and 5 it was done with formaldehyde. In groups 2 and 3 PhtD was used to conjugate PS 22F, in Groups 4 and 5 a PhtD_E fusion (the construct VP147 from WO 03/054007) was used. In group 6 19A was conjugated to diphtheria toxoid and 22F to protein D.

Anti-PS19A and 22F ELISA IgG levels were dosed in individual sera collected at day 42. The ELISA IgG response generated to the other PS was measured in pooled sera.

19A-dPly and 22F-PhtD administered within the 13-valent conjugate vaccine formulation were shown immunogenic in old C57Bl mice (Table 15). The immune response induced against the other PS was not negatively impacted in mice given the 13-valent formulation compared to those immunized with the 11-valent formulation.

Table 1 PS immunogenicity in old C57Bl mice (post-III IgG levels)

Old C57 Black mice						
ELISA	GROUP 1	GROUP 2	GROUP 3	GROUP 4	GROUP 5	GROUP 6
	11V	11V 19A-dPly gmbs 22F-PhtD	11V 19A-dPly formol 22F-PhtD	11V 19A-dPly gmbs 22F-PhtD-E	11V 19A-dPly formol 22F-PhtD-E	11V 19A-DT 22F-PD
	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C
1 average Pool	19.30	20.20	24.40	12.80	12.10	13.60
3 average Pool	6.32	4.84	5.21	6.74	2.38	2.54
4 average Pool	60.9	67.1	51.4	47.4	45.5	41.1

177

5	average Pool	1.34	3.81	3.06	2.75	1.26	1.23
6B	average Pool	4.41	4.12	5.88	1.58	2.31	5.64
7F	average Pool	0.83	0.81	1.65	1.98	0.89	0.99
9V	average Pool	13.8	23.7	20.0	13.1	15.5	9.6
14	average Pool	25.73	42.96	34.12	32.53	23.97	15.60
18C	average Pool	13.4	20.1	11.9	9.1	8.3	8.4
19F	average Pool	57.5	90.0	63.8	36.5	47.0	69.1
23F	average Pool	NR	NR	NR	NR	NR	NR
19A	GMC	0.06	0.09	0.25	0.08	0.23	0.19
	IC	0.04-0.1	0.05-0.14	0.15-0.41	0.06-0.12	0.14-0.38	0.09-0.3
	%sero	33%	47%	83%	53%	80%	73%
22F	GMC	NR	5.81	3.76	0.54	0.85	2.02
	IC		3.2-10.6	1.8-7.9	0.3-1.1	0.4-1.7	1.2-3.4
	%sero	0%	97%	90%	77%	87%	97%

Example 5, Immunogenicity in young Balb/c mice of 13-valent PS conjugates containing 19A-dPly and 22F-PhtD

5

Groups of 30 young Balb/c mice (4-weeks old) were immunized IM at days 0, 14 and 28 with 50 µl of either 11-valent PS conjugates or 13-valent PS conjugates, both admixed with Adjuvant C (see below).

10

The 11-valent vaccine formulation was composed of 0.1 µg saccharide of each of the following conjugates: PS1-PD, PS3-PD, PS4-PD, PS5-PD, PS6B-PD, PS7F-PD, PS9V-PD, PS14-PD, PS18C-TT, PS19F-DT and PS23F-PD (see Table 1 and comment on 11 valent vaccine discussed under Table 2). The 13-valent vaccine formulation contained in addition 0.1 µg of PS19A-dPly and PS22F-PhtD conjugates (see Table 1 and comment on 13 valent vaccine discussed under Table 2 [using directly-conjugated 22F]). In group 2

15

and 4 the pneumolysin carrier was detoxified with GMBS treatment, in group 3 and 5 it

15
178

was done with formaldehyde. In groups 2 and 3 PhtD was used to conjugate PS 22F, in Groups 4 and 5 a PhtD_E fusion (the construct VP147 from WO 03/054007) was used. In group 6 19A was conjugated to diphtheria toxoid and 22F to protein D.

Anti-PS19A and 22F ELISA IgG levels were dosed in individual sera collected at day 42.

- 5 The ELISA IgG response generated to the other PS was measured in pooled sera.

19A-dPly and 22F-PhtD administered within the 13-valent conjugate vaccine formulation were shown immunogenic in young Balb/c mice (Table 16). The immune response induced against the other PS was not negatively impacted in mice given the 13-valent formulation compared to those immunized with the 11-valent formulation.

10

Table 2, PS immunogenicity in young Balb/c mice (post-III IgG levels)

BalbC mice						
ELISA	GROUP 1	GROUP 2	GROUP 3	GROUP 4	GROUP 5	GROUP 6
	11V	11V 19A-dPly gmbs 22F-PhtD	11V 19A-dPly formol 22F-PhtD	11V 19A-dPly gmbs 22F-PhtD-E	11V 19A-dPly formol 22F-PhtD-E	11V 19A-DT 22F-PD
	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C	0.1µg/50µl Adj C
1 average Pool	131.70	101.20	83.00	82.40	67.90	85.50
3 average Pool	21.85	10.38	12.53	8.83	8.73	14.98
4 average Pool	147.4	127.0	104.4	95.0	113.6	114.2
5 average Pool	21.38	20.29	18.26	18.95	18.02	23.04
6B average Pool	1.97	4.76	3.72	2.35	1.43	1.05
7F average Pool	7.69	4.58	4.77	4.24	3.92	3.94
9V average Pool	30.1	30.7	26.5	21.4	23.4	28.3
14 average	28.78	27.67	26.23	21.54	24.34	13.73

Pool							
18C	average Pool	53.4	52.37	46.5	57.8	47.8	75.8
19F	average Pool	186.6	157.7	169.3	178.9	181.9	223.2
23F	average Pool	4.98	3.9	5.11	0.57	3.13	4.57
19A	GMC	0.4	32.8	25.1	21.6	18.9	23.5
	IC	0.2-0.6	26.4-40.7	20.6-30.6	17.5-26.7	15.1-23.5	19.5-28.5
	%sero	93%	100%	100%	100%	100%	100%
22F	GMC	NR	3.99	3.76	6.27	8.70	18.76
	IC		1.9-8.42	1.8-8	3.8-10.4	5.4-13.9	15.2-23.1
	%sero	0%	93%	100%	100%	100%	100%

Example 6, Immunogenicity in Guinea Pigs of 13-valent PS conjugates containing 19A-dPIy and 22F-PhtD

- 5
- Groups of 20 young Guinea Pigs (Hartley Strain; 5 weeks old) were immunized IM at days 0, 14 and 28 with 125 µl of either 11-valent PS conjugates or 13-valent PS conjugates, both admixed with Adjuvant C (see below).
- The 11-valent vaccine formulation was composed of 0.25 µg saccharide of each of the following conjugates: PS1-PD, PS3-PD, PS4-PD, PS5-PD, PS6B-PD, PS7F-PD, PS9V-PD, PS14-PD, PS18C-TT, PS19F-DT and PS23F-PD (see Table 1 and comment on 11
- 10
- valent vaccine discussed under Table 2). The 13-valent vaccine formulation contained in addition 0.1 µg of PS19A-dPIy and PS22F-PhtD conjugates (see Table 1 and comment on 13 valent vaccine discussed under Table 2 [using directly-conjugated 22F]). In group 2 and 4 the pneumolysin carrier was detoxified with GMBIS treatment, in group 3 and 5 it
- 15
- was done with formaldehyde. In groups 2 and 3 PhtD was used to conjugate PS 22F, in Groups 4 and 5 a PhtD_E fusion (the construct VP147 from WO 03/054007) was used. In group 6 19A was conjugated to diphtheria toxoid and 22F to protein D.
- Anti-PS19A and 22F ELISA IgG levels were dosed in individual sera collected at day 42. The ELISA IgG response generated to the other PS was measured in pooled sera.

Table 3, PS immunogenicity in young Balb/c mice (post-III IgG levels)

Guinea pigs						
ELISA	GROUP 1	GROUP 2	GROUP 3	GROUP 4	GROUP 5	GROUP 6
	11V	11V	11V	11V	11V	11V

A
180

		0.1µg/50µl Adj C	19A-dPly gmb 22F-PhD 0.1µg/50µl Adj C	19A-dPly formol 22F-PhD 0.1µg/50µl Adj C	19A-dPly gmb 22F-PhD-E 0.1µg/50µl Adj C	19A-dPly formol 22F-PhD-E 0.1µg/50µl Adj C	19A-DT 22F-PD 0.1µg/50µl Adj C
1	average Pool	78.00	77.21	76.15	68.77	68.59	81.04
3	average Pool	7.75	9.31	12.73	7.94	4.75	9.59
4	average Pool	130.7	94.4	132.6	166.8	85.0	101.3
5	average Pool	109.10	117.10	110.70	158.40	74.10	100.40
6B	average Pool	3.14	4.26	14.4	7.63	6.3	7.52
7F	average Pool	154.2	216.0	240.0	181.0	142.0	179.1
9V	average Pool	90.69	105.45	98.20	93.45	54.12	73.05
14	average Pool	71.19	77.18	46.53	59.67	38.47	53.69
18C	average Pool	109.4	122.3	137.1	79.9	73.7	83.1
19F	average Pool	73.9	102.5	112.2	75.5	62.3	72.1
23F	average Pool	19.19	30.74	29.44	31.52	19.13	24.94
19A	GMC IC %sero	0.4 0.24-0.68 75%	25.68 12-54.5 100%	41.49 24.4-70.5 100%	14.25 5.9-34.6 100%	27.49 16.6-45.4 100%	6.74 4-11.3 100%
22F	GMC IC %sero	0.12 0.09-0.16 10%	2.51 0.94-6.73 95%	3.67 1.59-8.42 95%	45.74 29.3-71.4 100%	30.63 17-53.3 100%	96.38 73.5-126.4 100%

18
181

Example 7: Formulations being made and tested

- 5 a) The following formulations are made (using the 13 valent vaccine from table 1 and serotype 3 from table 5 – see comment on 14 valent vaccine discussed under Table 2 [using directly-conjugated 22F or through an ADH linker]). The saccharides are formulated with aluminium phosphate and 3D-MPL as shown below.

14V 25µg MPL Sum of BAC Aluminium content -> FF Per Dose:						14V 10µg MPL Sum of BAC Aluminium content -> FF Per Dose:					
PS	carrier	µg PS	µg MPL	ratio PS/Al 1/x	µg Al	PS	carrier	µg PS	µg MPL	ratio PS/Al 1/x	µg Al
1	PD	1		10	10	1	PD	1		10	10
3	PD	1		10	10	3	PD	1		10	10
4	PD	3		10	30	4	PD	3		10	30
5	PD	1		10	10	5	PD	1		10	10
6A	PD	1		10	10	6A	PD	1		10	10
6B	PD	1		10	10	6B	PD	1		10	10
7F	PD	1		10	10	7F	PD	1		10	10
9V	PD	1		10	10	9V	PD	1		10	10
14	PD	1		10	10	14	PD	1		10	10
18C	TT _{Ad}	3		15	45	18C	TT _{Ad}	3		15	45
19A	dPly	3		10	30	19A	dPly	3		10	30
19F	DT	3		10	30	19F	DT	3		10	30
22F	PhD	3		10	30	22F	PhD	3		10	30
23F	PD	1		10	10	23F	PD	1		10	10
BAC MPL 50/200			25	4	100	BAC MPL 50/200			10	4	40
FF Aluminium content				Sum =	355	FF Aluminium content				Sum =	295

10

- b) The same saccharide formulation is adjuvanted with each of the following adjuvants:

- 15 - In the table herebelow the concentration of the emulsion components per 500µl dose is shown.

Ingredients	Adjuvant A1 250µl o/w emulsion	Adjuvant A2 125µl o/w emulsion	Adjuvant A3 50µl o/w emulsion
alpha	11.88mg	5.94mg	2.38mg
Tocopherol			
Squalene	10.7mg	5.35mg	2.14mg
Tween 80	4.85mg	2.43mg	0.97mg

Ingredients	Adjuvant A4 250µl o/w emulsion	Adjuvant A5 250µl o/w emulsion	Adjuvant A6 125µl o/w emulsion	Adjuvant A7 50µl o/w emulsion
alpha	11.88mg	11.88mg	5.94mg	2.38mg
Tocopherol				
Squalene	10.7mg	10.7mg	5.35mg	2.14mg
Tween 80	4.85mg	4.85mg	2.43mg	0.97mg
3D-MPL	50µg	25µg	25µg	10µg

20

189
182

c) The saccharides are also formulated with two liposome based adjuvants:

Composition of Adjuvant B1

5 Qualitative Quantitative (per 0.5 mL dose)

Liposomes:

- DOPC 1 mg

- cholesterol 0.25 mg

3DMPL 50 µg

10 QS21 50 µg

KH₂PO₄ 3.124 mg Buffer

Na₂HPO₄ 0.290 mg Buffer

NaCl 2.922 mg

(100 mM)

15 WFI q.s. ad 0.5 ml Solvent

pH 6.1

1. Total PO₄ concentration = 50 mM

Composition of Adjuvant B2

20 Qualitative Quantitative (per 0.5 mL dose)

Liposomes:

- DOPC 0.5 mg

- cholesterol 0.125 mg

3DMPL 25 µg

25 QS21 25 µg

KH₂PO₄ 3.124 mg Buffer

Na₂HPO₄ 0.290 mg Buffer

NaCl 2.922 mg

(100 mM)

30 WFI q.s. ad 0.5 ml Solvent

pH 6.1

d) The saccharides are also formulated with Adjuvant C (see above for other compositions where this adjuvant has been used):

35

Qualitative Quantitative (per 0.5 mL dose)

Oil in water emulsion: 50 µl

- squalene 2.136 mg

- α-tocopherol 2.372 mg

40 - Tween 80 0.97 mg

- cholesterol 0.1 mg

3DMPL 50 µg

QS21 50 µg

KH₂PO₄ 0.470 mg Buffer

45 Na₂HPO₄ 0.219 mg Buffer

NaCl 4.003 mg

(137 mM)

20
183

KCl 0.101 mg
(2.7 mM)
WFI q.s. ad 0.5 ml Solvent
pH 6.8

5

Example 8, impact of new adjuvants on immunogenicity of *Streptococcus pneumoniae* capsule PS conjugates

- 10 Groups of 40 female Balb/c mice were immunised by the IM route at days 0, 14 and 28 with 13-valent PS formulations containing PS 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 22F and 23F (dose: 0.3 µg / conjugate for PS 4, 18C, 19A, 19F and 22F and 0.1 µg / conjugate for the other PS).

- 15 PS 18C was conjugated to Tetanus Toxoid, 19F to Diphtheria Toxoid, 19A to formol-detoxified Ply, 22F to PhtD and the other PS to PD.

Four formulations, supplemented with either AlPO₄, adjuvant A1, adjuvant A4 or adjuvant A5, were compared.

- 20 Anti-PS, Ply, PhtD and PD ELISA IgG levels were measured in sera collected at day 42 and pooled per group. The following ratio was calculated for each antigen: IgG level induced with the new adjuvant tested / IgG level induced with AlPO₄.

All the new adjuvants tested improved at least 2-fold the immune responses to 13-valent conjugates compared to the classical AlPO₄ formulation (figure 2).

25

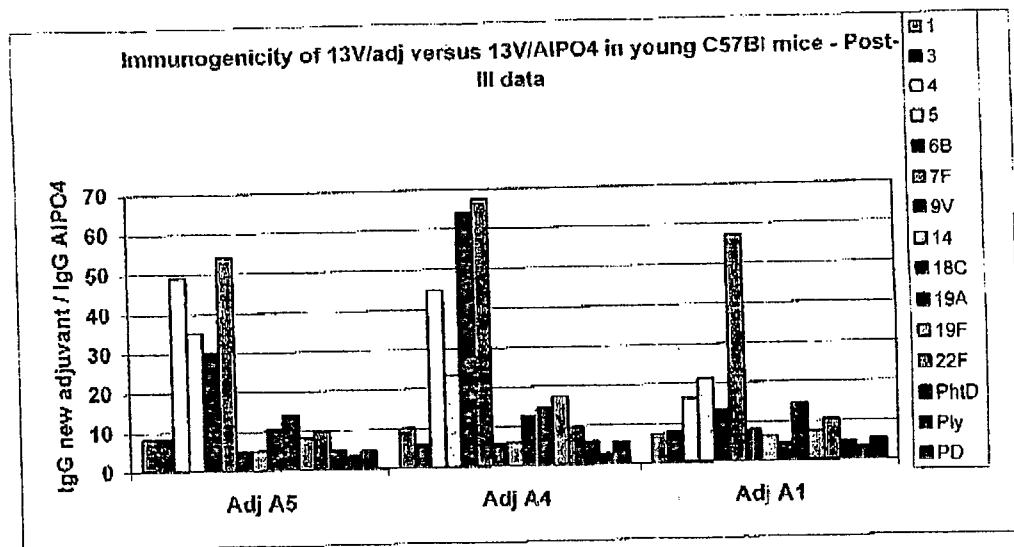
21
184

Figure 2, comparison of IgG responses induced with new adjuvants to the response elicited with AIPO₄

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES**

Radicación No. 03-21871

Clasificación Internacional (IPC): A61K39/09

Concepto Técnico No. 1998

Patente de Invención ☒ Patente de Modelo de Utilidad ☐

Vía Nacional ☐

Vía PCT (fase nacional) ☒ Cap. I ☐ Cap. II ☒

No. Sol. Internacional

PCT/EP01/10568

Fecha de Presentación Internacional

12/09/2001

Como resultado del examen definitivo, realizado con fundamento en el artículo 48 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

1. Documentos estudiados

<u>Descripción:</u>	Folios: 29 a 82 Folios: 129 a 140	tal como se radicó inicialmente tal como se radicó el 02/10/2000
<u>Reivindicaciones:</u>	Folios 83 a 85 Folios 127_a 128 Folios 171_a 172	tal como se radicó inicialmente tal como se modificó el 02/10/2007 tal como se modificó el 18/06/2009
<u>Prioridad:</u>	Folios: 1	Fecha 15/09/2000 País GB Número 0022742.1
<u>Argumentos del solicitante:</u> Folios: 164 a 170		

2. Modificaciones (artículo 34 D.486 y art. 22 Tratado PCT)

Se aceptan las modificaciones realizadas por el solicitante toda vez que no amplían el objeto inicial de la solicitud.

3. Objeto de la invención

- Título de la solicitud (folio 1): “Vacuna de antígenos polisacáridos bacterianos”
- La presente solicitud se refiere a una composición inmunogénica que comprende derivados polisacárido antigénicos de *Streptococcus pneumoniae* de por lo menos cuatro serotipos seleccionados y una proteína antigénica de *Streptococcus pneumoniae* seleccionada del grupo que consiste en PhtA, PhtB, PhtD y PhtE. El antígeno polisacárido es presentado en forma de portador polisacárido-proteína en donde la proteína se selecciona entre toxoide de tetano, toxoide de difteria, hemocianina KLH, proteína tuberculina PPD, proteína de D de *H. influenzae*.
- La Clasificación Internacional de Patentes (IPC) para esta solicitud es A61K39/09.

4. De la solicitud de Patente

Reivindicaciones (artículo 30 D 486)

Realizadas las modificaciones al capítulo reivindicatorio, este define, es claro y conciso y además está lo suficientemente sustentado por la descripción. Por lo anterior, las reivindicaciones sí cumplen con el art. 30 de la Decisión 486.

5. Determinación del Estado de la Técnica

- La fecha que se ha tenido en cuenta para determinar el estado de la técnica es 15/09/2000.
- Consultadas las bases de datos con que cuenta la oficina y las otras fuentes utilizadas para determinar el estado de la técnica y habiéndose subsanado las objeciones realizadas en el anterior concepto técnico 429, no se encontró documento alguno que afecte el objeto de la solicitud.

6. Análisis de patentabilidad (artículo 14 D486)

6.1. Novedad (artículo 16 D486)

- Las reivindicaciones estudiadas corresponden de la número 1 a la 9 contenida en los folios 171 a 172
- De acuerdo con el numeral 5, no se encontró dentro del estado de la técnica, documento alguno que evidenciara la existencia de la invención.

Por consiguiente se concluye que la presente solicitud es novedosa de acuerdo a lo estipulado en el art. 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

6.2. Nivel inventivo

- Las reivindicaciones estudiadas corresponden de la número 1 a la 9 contenida en los folios 171 a 172

- No se encontró dentro del estado de la técnica, de acuerdo al numeral 5, documento alguno que afecte el nivel inventivo.

Por consiguiente se concluye que la presente solicitud tiene nivel inventivo de acuerdo a lo estipulado en el art. 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

6.3. Aplicación industrial (artículo 19 D 486)

- Las reivindicaciones estudiadas corresponden de la número 1 a la 9 contenida en los folios 171 a 172

La presente invención sí tiene Aplicación Industrial ya que su objeto puede ser aplicado en la industria de farmacéuticos

7. **Conclusión**

En consecuencia y por todo lo expuesto anteriormente, se recomienda **Conceder** las reivindicaciones: 1 a 9 (folios: 171 a 172) con el título modificado **“Vacuna conjugada de *Streptococcus pneumoniae* a base de polisacáridos antigénicos de *S. pneumoniae* y al menos una proteína del grupo triada de histidina”**.

Bogotá, D.C.,

CONCEPTO TECNICO No. 1998	EXAMINADOR TECNICO Código No. 202089
-------------------------------------	--