

BT

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063984-00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 49



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PCT
SOLICITUD

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE N°

11-63984

54. TÍTULO NUEVAS VACUNAS COMBINADAS CON CÉLULAS COMPLETAS DE PERTUSSIS Y MÉTODO DE FABRICACIÓN DE LAS MISMAS.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 39/05

71. SOLICITANTE PANACEA BIOTEC LTD.

DOMICILIO Mathura Road, New Delhi, India

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. _____

24-05-2011



No. 11-063984- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 49

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: PANACEA BIOTEC LTD.
Dirección: B-1 Extn./ A-27, Mohan
Co-operative Industrial Estate, Mathura Road,
New Delhi-110044, India
Nacionalidad o domicilio: New Delhi, India
Lugar de Constitución:
Teléfono: **Fax:**
E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN
Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6
Teléfono: 6 181088 **Fax:** 6350824
E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Número 41.654.882
TP 20824 CSJ

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER HOJA ANEXA
Dirección:
Nacionalidad o domicilio:

5 **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/IN2009/000599 Fecha 23 de octubre de 2009

Publicación Internacional No. WO 2010/046934 A1 Fecha 29 de abril de 2010

6 **TÍTULO (54)** NUEVAS VACUNAS COMBINADAS CON CÉLULAS COMPLETAS DE
PERTUSSIS Y MÉTODO DE FABRICACIÓN DE LAS MISMAS.

7 **Clasificación Internacional (51)** A61K 39/05

8 **Prioridad**

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen
India

(32) Fecha
24 de octubre de 2008

(31) Número de Solicitud
2437/Del/2008

9 **Comprobante de pago No.** 11-36000 // 11-36023 // 11-36246 // 11-36047

Fecha 15 de abril de 2011

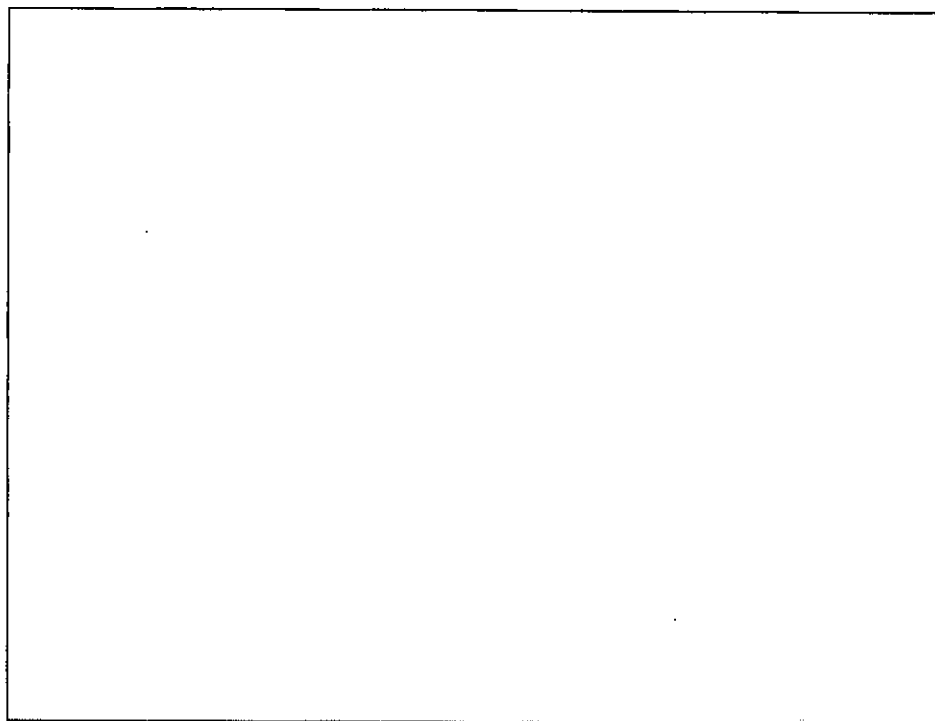
*Revisado
2011-04-15
12h50*

10

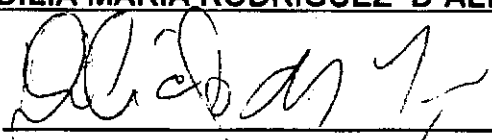
ANEXOS

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMANFIRMA: 

C.C. 41.654.882

T.P. 20824

ANEXOS

INVENTORES

1.) **JAIN, Rajesh**

(B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044, India);

2.) **SINGH, Sukhjeet**

(B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044, India);

3.) **JAMBU, Lavit**

(B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044, India);

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0036000

Bogotá D.C., Abril 15 de 2011 - 18:03:59

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431342063	15/04/2011	108.185.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-063984- -00000-0000

 Fecha: 2011-05-24 14:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI

 Act. 411 PRESENTACION Folios: 49

3

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 15 de 2011 - 18:06:29

P-288

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0036023

Bogotá D.C., Abril 15 de 2011 - 18:03:59

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431342063	15/04/2011	108.185.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063984- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 49

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 15 de 2011 - 18:06:30

4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0036246

Bogotá D.C., Abril 15 de 2011 - 18:03:59

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431342063	15/04/2011	108.185.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	20.000.00	20.000.00
				\$20.000.00

SON: **VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063984- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 49

5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 15 de 2011 - 18:06:36

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0036247

Bogotá D.C., Abril 15 de 2011 - 18:03:59

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431342063	15/04/2011	108.185.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	20.000.00	20.000.00
				\$20.000.00

SON: **VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-063984-00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 49

6

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 15 de 2011 - 18:06:36

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

P-4-105

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de PANACEA BIOTEC LTD.

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

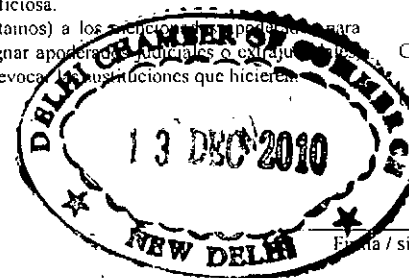
y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-India.

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra de (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los señores (señoras) para recibir notificaciones y designar apoderados de judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hiciera.

Dado y firmado en

a los días de



POWER OF ATTORNEY

I, the undersigned Prem Singh Panwar

legal representative(s) of PANACEA BIOTEC LTD.

an organization existing under the laws of India

and in present execution of its business activity, domiciled B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-IN.

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

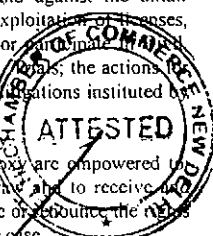
- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or defend in Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Courts; the actions writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or negotiations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named party are empowered to conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at New Delhi, India, on 13 December 2010

by this day of December 2010

Nelson J. Sainz
For Panacea Biotec Ltd.

PREM SINGH PANWAR
Sr. Manager
Intellectual Property & Legal Affairs
B-1 Extn. A-27, Mohan Co-operative Indl. Estate,
Mathura Road, New Delhi - 110 044



(JASPREM SINGH)
Asstt. Secretary
Delhi Chamber of Commerce
New Delhi

4 DEC 2010

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE US\$ 10
 PAGADOS DERECHOS CONSULARES US\$ 20

**CONSULADO DE COLOMBIA
 NUEVA DELHI**

No. 2120/10

El suscrito Cónsul de Colombia CERTIFICA
 que el señor R. P. MORDHUWAT
 que autoriza el presente documento, ejerce/a
 legalmente en la fecha allí expresada las
 funciones de Minister of External
 Affairs (C.I.D.) New Delhi
 y que la firma y sello que en el documento
 aparecen como suyos son los que usa y
 acostumbra en sus actos oficiales.

El Cónsul no asume responsabilidad alguna
 por el contenido del documento.

Lina María Fajardo.
LINA FAJARDO
 Counsellor

NO SE ASUME
 RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
 2010 DIC 20 6:13
 JEFE DE LEGALIZACIONES
 BOGOTÁ D.C.

MINISTERIO DE
 RELACIONES EXTERIORES

630233

En Orden
 MA APARECEN EN EL
 DOCUMENTO DESEMPLEA
 LAS SEÑALES INDICADAS

Como Notario (E) del C.
 Bogotá, el pago consta que
 FOTOCOPIA coincide con su
 que he tenido a la vista
 01-8 ABR 2011
 del Sr. J. Sánchez García
 MARIO ONCE (E)
 BOGOTÁ D.C.

No. 295150
 दिनांक
 Date
 वाणिज्य मण्डल में सहस्रक सचिव/उप सचिव
 सचिव के हस्ताक्षर सत्यापित किये जाते हैं।
 The Signature of Asstt. Secretary/
 Deputy Secretary/Secretary of Chamber
 of Commerce Attested

14 DEC 2010



(Signature)
 (R. P. MORDHUWAT)
 (R. P. MORDHUWAT)
 (R. P. MORDHUWAT)
 (R. P. MORDHUWAT)
 Ministry of External Affairs
 New Delhi

CERTIFICADO NOTARIAL

(Cuando el solicitante es SOCIEDAD)

(Poderes otorgados en: El Salvador, Estados Unidos, México y Venezuela)

A los _____ días del mes de _____ de _____, el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado _____
firmó de su puño
y letra el documento que antecede.

2. Conoce al (a la) otorgante y que este (a) está legalmente capacitado para el otorgamiento.

3. El otorgante ha firmado el referido documento en su carácter de _____

de la persona jurídica PANACEA BIOTEC LTD.

4. La citada persona jurídica con sede en B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-India, está legalmente constituida, que tiene actualmente existencia legal y que el acto para el cual se ha otorgado este poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

5. El otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, que esta es legítima y que está facultado para otorgar este poder.

6. las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5, me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____ de _____, el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado en _____
firmó en su presencia

el documento que antecede, conoce al otorgante y que este está legalmente capacitado para el otorgamiento.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

Para todos los demás países el Señor Cónsul de Colombia o ante quien se otorgue, debe expedir una certificación dejando constancia 1) de la existencia legal de la sociedad, 2) de que esta ejerce actualmente su objeto social, y 3) de que la persona o personas que otorgan el poder están facultadas para hacerlo, dejando constancia así mismo de que tuvo a la vista las pruebas que acrediten tales circunstancias.

LEGALIZACIÓN POR EL CONSUL DE COLOMBIA O POR APOSTILLA

NOTARIAL CERTIFICATE

(When the applicant is a CORPORATION)

(Powers of attorney granted in: El Salvador, Mexico, U.S.A. and Venezuela)

This 1st day of December, 2010
the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. _____ Prem Singh Panwar
(name of the person who signs the power of attorney)

of _____ legal age and _____ domiciled
in India _____ set his hand on
the foregoing document.

2. The grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

3. The grantor has executed the foregoing document in his capacity of _____ Senior Manager - Intellectual Property & Legal Affairs

of the juridical PANACEA BIOTEC LTD.

4. The mentioned juridical person with place of B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-IN, is duly organized, has actual legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. The grantor has in fact the referred quality and that his/her representation is legal and that he/she is empowered to grant this power of attorney.

6. I have based the above certifications 3, 4 and 5, on the authentic documents which for each purpose were exhibited to me.

Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

NOTARIAL CERTIFICATE (When the applicant is an INDIVIDUALS)

On this _____ day of December, 2010
the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. _____ Prem Singh Panwar
(name of the person who signs the Power of Attorney)

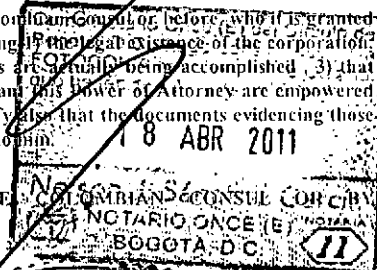
of legal age and domiciled at _____ India
signed in his presence the foregoing
document, the grantor is to him personally known and that he/she has legal
capacity to execute the document.

Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

For all other countries the Colombian Consul or before whom it is granted must issue a certification stating 1) the legal existence of the corporation, 2) that the corporate purposes are actually being accomplished, 3) that the person or persons who grant this Power of Attorney are empowered to do it. The Consul will certify also that the documents evidencing those circumstances were exhibited to him.

LEGALIZATION BY THE CONSUL OF COLOMBIA OR BY APOSTILLE



9 DEC 2010

Traducción oficial de un documento cuyo original está en inglés

El Documento de Poder adjunto lleva los siguientes sellos:

Sello redondo pequeño: "Certificado - Cámara de Comercio de Nueva Delhi"

Sello pequeño bajo la firma: "Jaspren Singh, Subsecretario Cámara de Comercio de Nueva Delhi"

Sello Rectangular: "Por Panacea Biotec Ltd. (firmado) Prem Singh Panwar. Gerente. Propiedad Intelectual y Asuntos Legales. B-1 Extn. A-27, Mohan Co-operative Indl. Estate. Mathura Road, New Delhi - 110 044"

Sello ovalado (2): "Cámara de Comercio de Nueva Delhi - DIC. 13, 2010. Nueva Delhi"

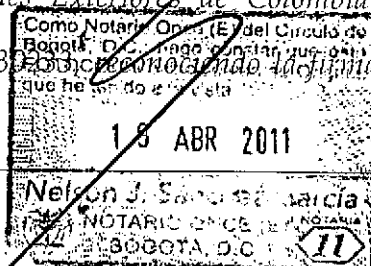
Sello redondo (2): "Notario Público. Nombre: Sra. Rani Ridla. L. No. 1471. Gobierno de la India"

"Certificado (Firmado) Notario Público. Nueva Delhi - DIC. 9, 2010".

Al reverso de la página hay un sello del Consulado de Colombia en Nueva Delhi, con No. 2120/10 fechado el 21 de diciembre de 2010 y firmado por Lina Fajardo, Consejera.

Hay un sello con número 29515 fechado el 14 de diciembre de 2010 y firmado, con caracteres de la India, del Ministerio de Relaciones Exteriores en Nueva Delhi.

Los sellos de legalización del Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia están fechados el 29 de diciembre de 2010; su número es "630" y se reconocen la firma de la Cónsul Lina Fajardo.



Traductor Oficial

JORGE E. SIERRA REYES

Licencia 376 - 1993 Minjusticia

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

630270

Dora Sierra
LATA FIRMADA POR ELLE EN EL
DOCUMENTO DESEMPESA
LAS FUNCIONES INDIAGITAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2010 DIC 11: 57
JEFE DE VEDACIONES
BOGOTA D.C.

Como Notario Once (E) del Circuito de
Bogotá, D.C., hago constar que esta
FOTOCOPIA coincide con su Original
que he tenido a la vista

18 ABR 2011

Nelson J. Sánchez García
NOTARIO ONCE (E)
BOGOTÁ D.C.

BOGOTÁ D.C. 11 DE DICIEMBRE DE 2010
ACIRO LEGALIZACION
101230094031317

Certificación:

Certifico que la presente es una traducción auténtica y completa del inglés al español del documento adjunto, la cual he elaborado según mi leal saber y entender.

Documento: "Panacea Biotech Ltd. - Sellos."

Fecha: 29 de diciembre de 2010.

Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes (Sello y firma digital debidamente registrados ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.)

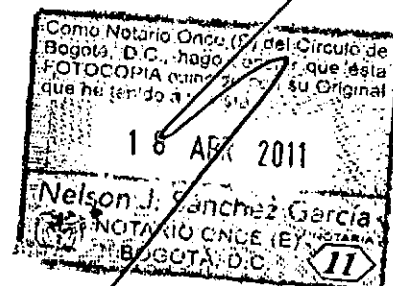
Licencia # 376 de 1993, expedida por el Ministerio de Justicia.

Dirección: Carrera 15 # 99-13 Of. 411, Bogotá, D.C.

Teléfonos: (571) 218 2308, (571) 623 2925.

E-mail: teseser1@yahoo.com

Traducción # 15-817



10

Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES-
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

RESUMEN

La presente invención se relaciona con una vacuna combinada que comprende una mezcla de antígenos para protección contra enfermedades tales como difteria, tétanos, tos ferina (coqueluche) con células completas y polio. La presente invención también se relaciona con la inclusión de uno o más antígenos en dicha vacuna combinada, para protección contra infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*, virus de la hepatitis, y otros patógenos, tal que la administración de la vacuna puede inmunizar simultáneamente al sujeto contra más de un patógeno. La invención en particular se relaciona con una vacuna combinada completamente líquida y estable que comprende los antígenos indicados más arriba y con los métodos para fabricar dicha vacuna.

NUEVAS VACUNAS COMBINADAS CON CÉLULAS COMPLETAS DE PERTUSSIS Y MÉTODO DE FABRICACIÓN DE LAS MISMAS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con una vacuna combinada que comprende una mezcla de antígenos para protección contra enfermedades tales como difteria, tétanos, tos ferina (coqueluche) y polio. La presente invención también se relaciona con la inclusión de uno o más antígenos en dicha vacuna combinada, para protección contra infecciones causadas por *Haemophilus influenzae*, virus de la hepatitis, y otros patógenos, tal que la administración de la vacuna puede inmunizar simultáneamente al sujeto contra más de un patógeno. La invención en particular se relaciona con una vacuna combinada completamente líquida y estable que comprende los antígenos indicados más arriba y con los métodos para fabricar dicha vacuna.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Antígenos de la vacuna

Antígenos de la Difteria y el Tétanos

La difteria y el tétanos son infecciones agudas causadas por *Corynebacterium diphtheriae* y *Clostridium tetani*, respectivamente. Las toxinas de estas bacterias son la causa principal de las respectivas enfermedades. Las vacunas que otorgan protección contra estas bacterias contienen estas toxinas que se han convertido en toxoides para hacerlas perder su infectividad. Las toxinas son tratadas usando productos químicos tales como formaldehído o glutaraldehído para hacer toxoides [toxoides diftérico (TD) y toxoides tetánico (TT)]. También se usa CRM 197, una toxina diftérica mutante, en algunas vacunas.

Antígenos de tos ferina

La tos ferina o coqueluche es causada por *Bordetella pertussis*. Ésta es una enfermedad debilitante y seria que incluso puede conducir a la muerte. Las vacunas iniciales contra la enfermedad estaban basadas en células completas que eran tratadas con productos químicos tales como formaldehído para matar las células e inactivar los materiales tóxicos. Los esfuerzos para desarrollar una vacuna anti-tos ferina de células completas comenzó poco después de que se hiciera crecer *B. pertussis* en un cultivo puro en 1906. En la década de 1920, el Dr. Louis W. Sauer desarrolló una vacuna para la tos ferina. En 1925, el médico danés Thorvald Madsen fue el primero en probar una vacuna anti-tos ferina de células completas a gran escala. En 1942, el científico estadounidense Pearl Kendrick combinó la vacuna anti-tos ferina de células completas con toxoides diftérico y tetánico para generar la primera combinación de vacuna DTP (difteria-tétanos-pertussis). Estas vacunas, llamadas "vacunas de células completas (wP, del inglés "whole Pertussis", "Pertussis completas")", fueron altamente eficaces.

12

Esta última vacuna, llamada “vacuna de componentes” comprendió un menor número de antígenos altamente purificados. Se ha sugerido incluir muchos factores asociados de virulencia en una “vacuna acelular”, la que es menos definida en comparación con una vacuna de componentes. Las vacunas que comprenden sólo TP fueron sólo parcialmente protectoras, mientras que las vacunas que comprendieron la combinación de TP/HAF fueron más eficaces, pero aún así tienen menos inmunogenicidad que las vacunas wP.

Antígenos de poliomiелitis

Hay disponibles dos tipos de vacuna:

- Una vacuna contra la polio oral (VPO) viva atenuada (debilitada) desarrollada por el Dr. Albert Sabin en 1961. La VPO, conteniendo las cepas Sabin, se administra oralmente.
- Una vacuna contra la polio inactivada (muerta) (VPI) desarrollada en 1955 por el Dr. Jonas Salk. La VPI, conteniendo las cepas Salk, se administra como una inyección.

Tanto la vacuna anti-polio atenuada (VPO) como la inactivada (VPI) han sido efectivas para controlar la enfermedad de la polio en todo el mundo. La vacuna contra la polio puede contener las cepas Salk o Sabin. Las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 son las cepas Salk que más se han usado en la vacuna contra la poliomiелitis. Las cepas Sabin incluyen las cepas Sabin 1 y Sabin 2.

Antígenos de *Haemophilus influenzae* (Hib)

El *Haemophilus influenzae* es un cocobacilo Gram-negativo que forma parte normal de la flora del tracto respiratorio superior. El *Haemophilus influenzae* de tipo b (Hib b) es una causa importante de infecciones de meningitis invasiva de transmisión sanguínea en niños jóvenes y una causa principal de meningitis en los primeros 2 años de vida. La inmunización contra *Haemophilus influenzae* comenzó en Canadá en 1987 con una vacuna de polisacáridos [PRP, del inglés polyribose ribitol phosphate, polirribosa ribitol fosfato]. La cápsula de poli-ribosil-ribitol fosfato (PRP) del Hib es un factor de virulencia importante para el organismo. El anticuerpo contra el PRP es el contribuyente primario para la actividad bactericida sérica, y los niveles altos del anticuerpo están asociados con un menor riesgo de enfermedad invasiva. El PRP es un antígeno independiente de células T y, por ende, está caracterizado por a) inducción de una respuesta de anticuerpos pobre en infantes y niños menores de 18 meses, b) una respuesta de anticuerpos variable y cuantitativamente menor que la que se ve con antígenos dependientes de células T, c) producción de una mayor proporción de inmunoglobulina M (IgM), y d) inhabilidad para inducir una respuesta de reforzamiento.

Las vacunas iniciales basadas sólo en el componente PRP probaron ser inefectivas en infantes. Se

han dirigido esfuerzos adicionales hacia la vacuna contra PRP conjugado, en donde el PRP se conjuga con proteínas llamadas proteínas portadoras, tales como la proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis*, el toxoide diftérico, el toxoide tetánico y CRM 197.

Antígenos de hepatitis (Hep)

Existen varias cepas de virus de la hepatitis. La hepatitis B es una enfermedad causada por el virus de la hepatitis B (VHB) que infecta el hígado de los homínidos, incluyendo los humanos, y causa una inflamación llamada hepatitis. La infección varía en severidad desde una enfermedad suave que dura unas pocas semanas (aguda) hasta una enfermedad seria a largo plazo (crónica) que puede llevar a enfermedad hepática o cáncer hepático. La vacuna contra la enfermedad contiene una de las proteínas de la cápside viral, el antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg). Las vacunas que protegen contra hepatitis B aprobadas por la FDA [N.d.T.: Food and Drug Administration, Administración de Alimentos y Drogas de los E.E.U.U.] son Recombivax HB® y Comvax®, de Merck, Engerix-B® y Pediarix®, de GlaxoSmithKline Biologicals.

Otros antígenos

Los otros antígenos que conciernen a la raza humana incluyen *Haemophilus influenzae* (serotipos a, c, d, e, f y cepas no encapsuladas), hepatitis (cepas A, C, D, E, F y G), meningitis A, B o C, influenza, neumococos, estreptococos, ántrax, dengue, malaria, sarampión, parotiditis (paperas), rubéola, BCG, encefalitis japonesa, rotavirus, viruela, fiebre amarilla, fiebre tifoidea, herpes zoster, virus de la varicela, y otros.

Vacunas combinadas

A pesar de largas décadas de investigación en el campo de las vacunas, las enfermedades infecciosas siguen siendo una amenaza para los humanos. Las vacunas combinadas que protegen contra varias enfermedades son muy deseables, dado que reducen el número de inyecciones administradas, reducen los costos de administración y producción y también mejoran el cumplimiento de los pacientes. Tales vacunas combinadas generalmente son mejor aceptadas.

Sin embargo, el fenómeno bien documentado de la competencia antigénica ha complicado e impedido el desarrollo de las vacunas multivalentes. Este fenómeno se refiere a la observación de que la administración de múltiples antígenos juntos a menudo da como resultado una respuesta disminuida hacia ciertos antígenos en relación con la respuesta inmune hacia estos antígenos cuando son administrados de forma separada.

La investigación temprana se ha enfocado en el desarrollo de las vacunas con múltiples valencias dirigidas contra diferentes enfermedades e infecciones. Una de tales combinaciones que es bien

14

conocida comprende antígenos de difteria (D), tétanos (T) y células completas de pertussis o tos ferina (wP) para dar una vacuna DTwP.

Es deseable agregar otros antígenos a tal vacuna combinada que pueda entregar protección contra enfermedades causadas por virus de la hepatitis (Hep), *Haemophilus influenzae* (Hib) y poliovirus (VPI). También es deseable tener antígenos que proporcionen protección contra otras enfermedades agregados a las vacunas combinadas mencionadas más arriba.

Quintanrix, producida por GlaxoSmithKline Biologicals es una vacuna combinada que comprende antígenos DTwP, Hib y Hep B, y comprende thiomersal como conservante. Esta vacuna fue retirada antes de ser comercializada. Zilbrix™, producida por GlaxoSmithKline Biologicals contiene DTwP y Hep B. Zilbrix Hib™, producida por GlaxoSmithKline Biologicals contiene DTwP y Hep B y Hib, en donde el Hib se comercializa en una ampolla separada, que no contiene los otros componentes antigénicos.

La solicitud PCT WO2002005846 de Green Cross Vaccine proporciona una vacuna combinada tetravalente que incluye toxoide diftérico, toxoide tetánico, células completas de pertussis (tos ferina) y antígeno de superficie de hepatitis B. Dicha invención se relaciona con una preparación de vacuna que combina Hep B con DTwP, pero no se refiere a la inclusión de otros antígenos tales como Hib o VPI.

La Solicitud PCT WO2008028957 de GlaxoSmithKline Biologicals se relaciona con un proceso para hacer una vacuna que comprende una dosis de VPI. Sin embargo, no divulga la preparación de una vacuna completamente líquida que comprende antígenos D, T, wP, VPI, Hib y Hep juntos en una misma ampolla, en forma completamente líquida, en donde el Hib no está sustancialmente adsorbido en ningún adyuvante.

La Patente de los Estados Unidos N° 6.013.264 de SmithKline Beecham Biologicals se relaciona con una vacuna multivalente que comprende HBsAg. Dicha invención se relaciona con una vacuna combinada en la que el HBsAg se adsorbe sobre fosfato de aluminio. Sin embargo, no existe una divulgación específica de una vacuna combinada que comprenda DTwP-VPI junto con otros antígenos tales como Hib y Hep en una forma completamente líquida.

La Solicitud PCT WO1998000167A1 de Connaught Lab proporciona una composición inmunogénica multivalente para conferir protección en un huésped contra enfermedades causadas por *Bordetella pertussis*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae*, poliovirus y/o *Haemophilus influenzae*. El componente Hib b de la vacuna, de acuerdo a la especificación, es un

componente liofilizado que tiene que ser reconstituido antes de ser mezclado con los otros componentes de la vacuna. Así, no existe una divulgación en la especificación relacionada con una vacuna combinada completamente líquida que comprenda todos los antígenos mencionados.

La liofilización, también llamada secado por congelamiento, es un proceso intensivo en costo que también causa mucho estrés en las proteínas. Cuando se liofiliza cualquier componente de la vacuna, en el momento de la administración de la vacuna se requiere mezclar el liofilizado con otro líquido o con el componente líquido de la vacuna combinada. Esto representa una restricción suplementaria para el profesional y presenta un riesgo de ser llevado a cabo de mala manera. Se propone entonces tener una jeringa con múltiples compartimientos que contendría el componente liofilizado en un compartimiento y el componente líquido de la vacuna en el otro. Sin embargo, tal jeringa cuyo contenido puede ser mezclado en el momento de la administración de la vacuna no tiene un comportamiento satisfactorio en el nivel de reducir los costos de producción, así como en el nivel de las operaciones que tienen que ser llevadas a cabo por el profesional.

Por ende, es deseable evitar este paso de liofilización y proporcionar una vacuna combinada que tenga todos los componentes juntos en una forma completamente líquida. Esto facilitaría la administración de la vacuna, haciendo que el paciente cumpla y también reduciendo los costos de producción. Por lo tanto, es deseable tener el antígeno Hib ya agregado al componente líquido de la vacuna y así tener una vacuna multivalente completamente líquida.

La Solicitud PCT WO2004110480 de Glaxo SmithKline Biologicals se relaciona con una vacuna que comprende el polisacárido Hib b. La solicitud declara que la mezcla simple de los componentes de una vacuna combinada es complicada por el hecho de que no todos los antígenos pueden mezclarse efectivamente entre sí. Declara también que hay interferencia entre el hidróxido de aluminio de la vacuna DTP y el PRP. La invención en el documento WO2004110480 está dirigida a minimizar esta interferencia en tal vacuna combinada preparada extemporáneamente cuando el PRP es preadsorbido sobre fosfato de aluminio. La invención proporciona adicionalmente composiciones inmunogénicas, vacunas y vacunas combinadas que comprenden PRP que está protegido en algún grado de la interferencia inmune. Los inventores encontraron que lo anterior puede lograrse incorporando un excipiente polimérico aniónico en la vacuna que comprende PRP.

Sin embargo, el uso del polímero polianiónico en la formulación de la vacuna puede no ser deseable, debido a que podría aumentar el costo de formular la vacuna. Además, dado que una vacuna está finalmente concebida para ser usada en humanos, debería tener idealmente la menos cantidad posible de componentes. El uso de ingredientes adicionales significa la adición de sustancias a la formulación contra las que el cuerpo podría reaccionar y producir anticuerpos. Tal

respuesta del cuerpo cuando se pone en contacto con tales componentes de la preparación inmunológica podría ser indeseable.

La Patente de los Estados Unidos N° 6.333.036 de Pasteur Merieux Serums se relaciona con composiciones de vacunas que comprenden polisacárido capsular de *Haemophilus influenzae* de tipo b o poli-ribosil-ribitol fosfato (PRP) de alto peso molecular acoplado con anatoxina tetánica, así como un adyuvante en base a aluminio. Los adyuvantes basados en aluminio usados en la invención tienen un punto de carga cero menor que aproximadamente 7,2. La patente, sin embargo, no divulga particularmente la preparación de una vacuna combinada que comprenda DTwP-VPI junto con otros antígenos tales como Hib y Hep en una forma completamente líquida.

Aunque la investigación sigue en camino para hacer una vacuna multivalente que comprenda varios antígenos que entregarían protección contra un número de enfermedades, no se ha dirigido a la necesidad de proporcionar una vacuna combinada estable que comprenda DTwP y antígenos de VPI junto con otros antígenos tales como Hib y Hep en una formulación completamente líquida. Existen reportes contradictorios con respecto a las respuestas de anticuerpos contra antígenos particulares en niños inmunizados por administración separada y coadministración de las vacunas combinadas y la vacuna Hib. Puede haber varias razones para tales resultados, incluyendo que las vacunas no sean idénticas en su contenido antigénico, en el método de toxoidización, en los adyuvantes o en el conservante utilizado.

Las vacunas combinadas conocidas y disponibles actualmente pueden no contener formulaciones apropiadas de antígenos apropiados en formas inmunogénicas apropiadas para lograr los niveles deseados de eficacia e inmunogenicidad en la población humana susceptible, para un número de enfermedades en una única inyección. Existe la necesidad de una vacuna multicomponente que entregue protección contra varias infecciones y esté en forma líquida de manera de ser fácilmente administrable y confortable, de forma costo-efectiva. Sería deseable proporcionar una vacuna multivalente estable y eficaz contra enfermedades causadas por la infección por *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Bordetella pertussis*, poliovirus, virus de la hepatitis y *Haemophilus influenzae*. Para que dicha vacuna sea efectiva, debe cumplirse el criterio de seroprotección para cada uno de los antígenos de la vacuna. Por esto, existe la necesidad de superar los impedimentos y desafíos impuestos por la competencia e interferencia antigénica. La presente invención supera las limitaciones del arte previo y soluciona los problemas relacionados al proporcionar una formulación de vacuna combinada completamente líquida que protege contra una pluralidad de enfermedades.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con una vacuna combinada estable y completamente líquida que comprende antígeno diftérico (D), tetánico (T), pertúsico de células completas (wP) y VPI, y opcionalmente uno o más antígenos seleccionados a partir del grupo consistente en *Haemophilus influenzae* (Hib) y hepatitis (Hep), de manera que la administración de la vacuna pueda inmunizar simultáneamente a un sujeto contra más de un patógeno. La invención en particular se relaciona con una vacuna combinada completamente líquida y estable que comprende los antígenos indicados más arriba y con los métodos para fabricar dicha vacuna.

La presente invención está dirigida adicionalmente hacia una vacuna combinada que comprende una pluralidad de componentes de vacuna que son adecuados para la prevención, mejora y tratamiento de múltiples estados de enfermedad, que cumple con el criterio para la seroprotección para cada uno de dichos componentes de vacuna.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención está dirigida hacia una vacuna combinada estable y completamente líquida que comprende una pluralidad de componentes de vacuna que son adecuados para la prevención, mejora y tratamiento de múltiples estados de enfermedad, que cumple con el criterio para la seroprotección para cada uno de dichos componentes de vacuna.

Las ventajas de la presente invención incluyen una vacuna multivalente que puede conferir protección contra un amplio rango de enfermedades e infecciones de manera segura y eficaz. La vacuna de la invención proporciona inmunogenicidad contra varias enfermedades e infecciones sin ninguna interferencia de cualquiera de los antígenos que están presentes en la vacuna. Así, una única inyección conferiría inmunogenicidad contra varias enfermedades e infecciones, haciendo que los pacientes cumplan más con la vacunación. Dado que una sola inyección conferiría inmunidad contra un número de infecciones y enfermedades, se reduciría el costo de vacunación. La vacuna de la presente invención sería beneficiosa en el sentido de que reduciría el número de visitas al centro de vacunación y también el número de inyecciones que deben administrarse para cierto número de diferentes enfermedades e infecciones. Este aspecto de la invención la haría más útil y ventajosa especialmente con la población más joven que necesita ser vacunada para conferirle inmunidad contra un gran número de infecciones y enfermedades. Así, la presente invención proporciona una vacuna que es más aceptable.

Definiciones

El término “completamente líquido”, como se usa en este documento para describir la vacuna de la invención, se refiere al estado de la vacuna en donde todos los componentes de la vacuna están

en estado líquido y no hay componentes de la vacuna que se proporcionen en forma liofilizada o en cualquier otra forma de manera que tengan que ser mezclados con los otros componentes de la vacuna antes de ser administrada a un sujeto.

El término “proteína portadora”, cuando se usa en este documento, describe el componente proteico con el cual se conjuga el polisacárido capsular (Hib) usado en la vacuna de manera de convertir el polisacárido independiente de células T en un antígeno dependiente de células T.

El término “adyuvante”, cuando se usa en este documento, describe el componente no antigénico de la vacuna que mejora la respuesta inmune de los antígenos de la vacuna facilitando el contacto entre el antígeno y el sistema inmune influenciando el tipo y calidad de la respuesta inmune generada contra un antígeno. El adyuvante causa respuestas inmunes prolongadas contra los antígenos y también puede servir para disminuir la toxicidad de ciertos antígenos o proporcionar solubilidad a ciertos antígenos.

El término “estable” cuando se usa en este documento para describir la vacuna de la invención, significa que cada uno de los antígenos de la composición de la vacuna tiene una potencia/inmunogenicidad mayor que la fijada como límite normal de aceptación, después de la incubación de la vacuna a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante al menos 1 mes, preferiblemente 12 meses, y más preferiblemente 24 meses.

El término “sustancialmente” usado en este documento para describir la cantidad de adsorción o acoplamiento del Hib sobre cualquier adyuvante, en la expresión “el Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante”, significa que la adsorción de Hib sobre cualquier adyuvante es menos de un 15%, y preferiblemente menos de un 10%. El antígeno Hib no se somete a ningún paso de manera de adsorberlo intencionalmente sobre cualquier adyuvante; la cantidad de adsorción que pueda ocurrir puede deberse al contacto entre el antígeno y el adyuvante y no es deliberada.

El término “de alrededor de” usado en este documento para describir la cantidad de cualquiera de los componentes presentes en la vacuna de la invención, significa una cantidad de dicho componente de la vacuna que está presente en cantidades de preferiblemente $\pm 20\%$, más preferiblemente $\pm 10\%$, y ante todo preferiblemente $\pm 5\%$ de la cantidad declarada para dicho componente particular.

El término “alrededor de” cuando se usa en este documento para describir el tiempo de agitación de los componentes de la mezcla durante el proceso de preparación de la vacuna de la invención, es preferiblemente $\pm 20\%$, más preferiblemente $\pm 10\%$ y ante todo preferiblemente $\pm 5\%$ del valor declarado.

El término “inmunológicamente activo” usado en este documento en referencia a la vacuna combinada de la invención significa que la vacuna, cuando se administra al sujeto, es capaz de provocar la producción de anticuerpos contra cada uno de los antígenos de dicha combinación, de manera de proteger al sujeto vacunado contra las respectivas enfermedades o infecciones.

El término “acoplamiento o adsorción” usado en este documento en referencia a los antígenos de la vacuna combinada, se refieren a cualquier forma de unión física entre el antígeno y el adyuvante.

La vacuna de la invención

La presente invención proporciona una vacuna combinada estable y completamente líquida que comprende antígeno diftérico (D), tetánico (T), pertúsico de células completas (wP) y anti-poliovirus (VPI), y opcionalmente uno o más antígenos seleccionados a partir del grupo consistente en *Haemophilus influenzae* (Hib) y hepatitis (Hep).

Un aspecto de la invención proporciona una composición de vacuna combinada en la que todos los componentes de la vacuna están presentes en conjunto en forma líquida en una única ampolla.

Un aspecto adicional de la invención se relaciona con una vacuna pentavalente estable completamente líquida que comprende antígenos DTwP, Hib y VPI.

Otro aspecto de la invención proporciona una vacuna hexavalente estable completamente líquida que comprende antígenos DTwP, Hib, Hep y VPI.

La invención también considera que los antígenos diftérico (D) y tetánico (T) estén adsorbidos en fosfato de aluminio.

De acuerdo a un aspecto de la invención, las cepas de VPI son una o más cepas Salk, que pueden ser seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3, o una o más cepas Sabin seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Sabin de tipo 1 y 2.

De acuerdo a un aspecto adicional de la invención, el antígeno Hib es conjugado con una proteína portadora seleccionada a partir de un grupo que comprende el toxoide tetánico (TT), el toxoide diftérico (TD), CRM 197 y la proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis*, o cualquier equivalente de los mismos, o cualquier otro portador conocido.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, el antígeno Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.

20

De acuerdo a otro aspecto de la invención, el antígeno Hib en la vacuna de la invención es derivado del polisacárido capsular de la cepa Hib b.

Un aspecto de la invención considera que el antígeno Hep esté absorbido sobre fosfato de aluminio.

Un aspecto adicional de la invención se relaciona con que el antígeno Hep sea derivado del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg); es decir, el antígeno de superficie de la cepa Hep B.

Otro aspecto de la invención considera que la vacuna de la invención comprenda 2-fenoxietanol como conservante en la formulación.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, la vacuna comprende antígenos D, T, wP, Hib b y Hep B para entregar una vacuna pentavalente, y se usa 2-fenoxietanol como conservante en la formulación, siempre que la vacuna no comprenda antígenos VPI.

Además, otro aspecto de la invención se relaciona con el proceso de fabricación de las vacunas combinadas de la invención.

Otro aspecto adicional de la invención se relaciona con la composición de las vacunas combinadas de la invención de manera que cada uno de los antígenos esté presente en una cantidad en la vacuna tal que provoque una respuesta inmune contra dicho antígeno.

Antígenos de la vacuna de la invención

La difteria es causada por *Corynebacterium diphtheriae*, una bacteria aeróbica Gram-positiva no esporulante. Este organismo expresa una exotoxina ribosilante de ADP codificada por un profago ("toxina diftérica"), que puede ser tratada (por ejemplo, usando formaldehído) para producir un toxoide. Este toxoide no sigue siendo tóxico, pero aún es antigénico y es capaz de estimular la producción de anticuerpos específicos anti-toxina después de ser inyectado. La preparación de antígeno diftérico usada en la vacuna de la invención preferiblemente comprende toxoide diftérico.

El tétanos es causado por *Clostridium tetani*, un bacilo Gram-positivo esporulante. Este organismo expresa una endopeptidasa ("toxina tetánica") que puede ser tratada para producir un toxoide que no sigue siendo tóxico. Sin embargo, aún sigue siendo antigénico y es capaz de estimular la producción de anticuerpos específicos anti-toxina después de ser inyectado. La preparación de antígeno tetánico usada en la vacuna de la invención preferiblemente comprende toxoide tetánico.

La tos ferina o coqueluche es causada por *Bordetella pertussis*. El antígeno de la tos ferina de células completas (wP) de la invención puede prepararse a partir de cepas de *Bordetella pertussis* que son capaces de provocar infección. El antígeno wP de la invención puede ser inactivado mediante un número de maneras, tal como el uso de un producto químico. Sin embargo, la *B. pertussis* inactivada (wP) usada en la composición de vacuna de la invención se inactiva preferiblemente mediante calor a $56 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 minutos. La preparación de antígeno wP usado en la vacuna de la invención está hecho preferiblemente de *Bordetella pertussis* 134, 509 y 10536. Los cultivos simples de las cepas 10536, 509 y 134 se mezclan preferiblemente en una razón de 1:1:1 en base a su opacidad.

El *Haemophilus influenzae* es un cocobacilo Gram-negativo que causa infecciones invasivas transmisibles por vía sanguínea y meningitis. De acuerdo a una implementación de la invención, el antígeno Hib, que se deriva del polisacárido capsular, puede ser conjugado o acoplado con proteínas portadoras. Las proteínas portadoras usadas para la conjugación del antígeno Hib pueden ser seleccionadas a partir del grupo que comprende toxoide tetánico (TT), toxoide diftérico (TD), CRM 197 y proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis* o cualquier equivalente de los mismos. Otras proteínas portadoras apropiadas incluyen péptidos sintéticos, proteínas de shock térmico, proteínas de tos ferina, citocinas, linfocinas, hormonas, factores de crecimiento, proteínas artificiales que comprenden epítopos múltiples de células T CD4+ humanas de varios antígenos derivados de patógenos, tales como N19, proteína D de *H. influenzae*, proteína de superficie neumocócica PspA, neumolisina, proteínas de captación de hierro, toxina A o B de *C. difficile* y proteínas de *S. agalactiae*, pero no están limitadas a las mismas. La preparación de antígeno Hib usada en la vacuna de la invención comprende antígeno Hib preferiblemente conjugado o acoplado con toxoide tetánico.

El conjugado de polisacárido puede prepararse mediante cualquier técnica de acoplamiento conocida. Por ejemplo, el polisacárido puede acoplarse a través de un enlace tioéter. Este método de conjugación se basa en la activación del polisacárido con tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetilamino-piridinio (CDAP) para formar un éster de cianato. Así, el polisacárido activado puede ser acoplado directamente o a través de un grupo espaciador a un grupo amino de la proteína portadora. Los conjugados también pueden prepararse mediante métodos de aminación reductiva directa. Otro método involucra el acoplamiento directo de un polisacárido activado con bromuro de cianógeno (CNBr) y derivatizado con hidrazida de ácido adípico (ADH), con la proteína portadora mediante condensación con carbodiimida. Cualquier otro método conocido puede ser utilizado para preparar el polisacárido conjugado usado en la vacuna de la invención.

De acuerdo a una implementación de la invención, el antígeno Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante; preferiblemente, el grado de adsorción del antígeno Hib sobre

un adyuvante no es mayor a un 15%; más preferiblemente, el grado de adsorción del antígeno Hib sobre un adyuvante no es mayor a un 10%.

De acuerdo a otra implementación de la invención, el antígeno Hib no se somete deliberada o intencionalmente a adsorción sobre ningún adyuvante.

De acuerdo a otra implementación preferida de la invención, el antígeno Hib es derivado del polisacárido capsular de la cepa Hib b.

La hepatitis es causada por varias cepas de hepatitis, tales como la A, B, C, D, E, F o G. El virus de la hepatitis B (VHB) es uno de los agentes más importantes que causan hepatitis viral. El virión VHB consiste en un núcleo interno rodeado por una cubierta externa de proteínas o cápside. El componente principal de la cápside es una proteína conocida como antígeno de superficie de VHB o, más comúnmente, "HBsAg" [N.d.T., del inglés, Hepatitis B surface antigen]. Cuando se administra el antígeno en una vacuna, éste estimula la producción de anticuerpos anti-HBsAg, los cuales protegen contra la infección por VHB. De acuerdo a un aspecto preferido de la invención, la preparación de antígeno de la hepatitis (Hep) usado en la vacuna de la invención comprende antígenos Hep derivados del antígeno de superficie de la cepa de la hepatitis B (HBsAg).

Para la fabricación de vacunas, el HBsAg puede fabricarse ya sea por purificación del antígeno en forma particulada a partir del plasma de portadores crónicos de hepatitis B, dado que se sintetiza grandes cantidades de HBsAg en el hígado que se liberan en el torrente sanguíneo durante una infección por VHB, o expresando la proteína mediante métodos de ADN recombinante. El HBsAg para ser usado en la vacuna de la invención puede ser preparado de cualquiera de las dos maneras.

La poliomiелitis es causada por los virus de la polio. La vacuna de la invención puede comprender cepas Sabin (Sabin 1 y/o Sabin 2) o cepas Salk de poliovirus. De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la vacuna de la invención comprende cepas Salk. Existen 3 tipos de cepas Salk que pueden causar poliomiелitis. Los tres tipos son similares y causan síntomas idénticos, pero son antigénicamente muy diferentes y la infección por un tipo no protege contra la infección por otros. Los poliovirus Salk incluyen 3 cepas – poliovirus de Tipo 1 (por ejemplo, la cepa Mahoney), poliovirus de Tipo 2 (por ejemplo, la cepa MEF-I) y poliovirus de Tipo 3 (por ejemplo, la cepa Saukett). De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la vacuna de la invención puede comprender una o más de dichas cepas Salk.

Los poliovirus pueden hacerse crecer en cultivo celular. La línea celular Vero, que es una línea celular continua derivada de riñón de mono, puede usarse para hacer crecer los poliovirus. Después del crecimiento, los viriones pueden ser purificados usando técnicas ya conocidas. Los

virus pueden ser inactivados. Las cantidades de poliovirus se expresan típicamente en la unidad DU (la “unidad de antígeno-D”). La preparación de antígeno VPI usada en la manufactura de la vacuna de la invención se prepara preferiblemente de manera de comprender una o más cepas que se usan en la manufactura de la vacuna. Esta preparación en masa se usa a continuación para formular la vacuna de la invención.

Componentes no antigénicos de la vacuna

Junto con los componentes antigénicos, la vacuna puede comprender un número de componentes no antigénicos que son excipientes farmacéuticamente aceptables. Éstos incluyen modificadores de pH, amortiguadores, adyuvantes, conservantes, portadores y agentes modificadores de la tonicidad, pero no están restringidos a ellos.

Adyuvantes

Los antígenos de la formulación final pueden o no estar adsorbidos sobre un adyuvante. Un adyuvante funciona estimulando la producción de inmunidad contra los ingredientes de la vacuna, haciendo la vacuna más efectiva.

Los adyuvantes pueden servir para:

- Poner el antígeno en contacto con el sistema inmune e influenciar el tipo de inmunidad producida, así como la calidad de la respuesta inmune (magnitud o duración);
- Disminuir la toxicidad de ciertos antígenos; y
- Proporcionar solubilidad a algunos componentes de la vacuna.

Los estudios han mostrado que muchas vacunas que contienen aluminio provocan respuestas de anticuerpos más altas y más prolongadas que las vacunas comparables sin el adyuvante. El beneficio de los adyuvantes se ha observado usualmente durante la serie inicial de inmunizaciones, en lugar de en las dosis de reforzamiento.

Los adyuvantes basados en aluminio son los adyuvantes más comúnmente usados. Estos adyuvantes también han sido aprobados por la FDA para su uso en vacunas. Existen tres tipos generales de adyuvantes que contienen aluminio:

- Hidróxido de aluminio
- Fosfato de aluminio
- Sulfato de potasio y aluminio (frecuentemente llamado “alumbre”)

24

Una implementación de la invención se relaciona con que ciertos antígenos de la vacuna estén adsorbidos sobre fosfato de aluminio y ciertos antígenos de la vacuna estén adsorbidos sobre hidróxido de aluminio. Ciertos antígenos de la invención pueden no estar adsorbidos o sustancialmente adsorbidos sobre ningún adyuvante. La preferencia del adyuvante para la adsorción de dichos antígenos entrega a la vacuna de la invención sus características. La preferencia de adsorción se describe con mayor detalle en la sección sobre el “Proceso para fabricar la vacuna de la invención”, más adelante.

Conservantes

Las vacunas son propensas a contaminarse con bacterias. Así, para evitar la contaminación con microorganismos dañinos potencialmente peligrosa para la vida que puede ser introducida en una vacuna y ser incorporada durante el evento de contaminación accidental, puede incluirse un conservante en la composición de la vacuna cuando se la formula. Los conservantes que se han usado incluyen cloruro de bencetonio (Phemerol), thiomersal, fenol y 2-fenoxietanol (2-POE).

El thiomersal o timerosal es un compuesto orgánico que contiene mercurio (un organomercúrico) que se ha usado en muchas vacunas como conservante. Ha habido reportes relacionados con ciertas reacciones alérgicas del thiomersal, primariamente en la forma de reacciones de hipersensibilidad local de tipo retardado, incluyendo enrojecimiento e hinchazón en el sitio de la inyección. También existen reportes contradictorios que vinculan el autismo con el mercurio.

El 2-fenoxietanol (2-POE) también se conoce como “1-hidroxi-2-fenoxietano”, “2-hidroxietil fenil éter”, “etilenglicol fenil éter”, etc. El perfil de seguridad del 2-fenoxietanol es mejor que el de conservantes mercuriales (por ejemplo, thiomersal). Por ende, existe la necesidad de evitar el uso de thiomersal y usar 2-fenoxietanol en las vacunas.

Así, otra implementación preferida de la invención se relaciona con el uso de 2-fenoxietanol como conservante en la composición de la vacuna. De acuerdo a otra implementación preferida de la invención, la concentración de 2-fenoxietanol es de 5 mg/ml de vacuna.

Agentes modificadores de la tonicidad

Para controlar la tonicidad de la composición de vacuna, se prefiere incluir un agente modificador de tonicidad en la formulación de la vacuna. Estos agentes incluyen sales (ejemplos: NaCl, MgCl₂, KCl, CaCl₂), azúcares (ejemplos: dextrosa, manitol, lactosa), aminoácidos (ejemplos: arginina, glicina, histidina) y polioles (ejemplos: sacarosa, glicerol, sorbitol), pero no están limitados a los mismos. En una implementación más preferida, se usa una sal fisiológica, tal como una sal de sodio, en la formulación de la vacuna. Ante todo, es preferible incluir cloruro de sodio (NaCl) en la composición de la vacuna de la invención.

Modificadores de pH y/o amortiguadores

Puede usarse varios modificadores de pH conocidos por personas versadas en el arte para ajustar el pH de la composición de vacuna como se desee, tal como hidróxido de sodio o ácido clorhídrico. Puede usarse varios amortiguadores, tales como fosfato de sodio, fosfato de potasio y amortiguadores de citrato, en la formulación de la vacuna.

Composición de la vacuna de la invención

La composición de la vacuna de la invención es tal que la vacuna de la invención se vuelve inmunogénica en virtud de las cantidades de cada uno de los antígenos contenidos en la vacuna. Cada uno de los antígenos en la vacuna de la invención se encuentra preferiblemente en cantidades que, cuando la vacuna combinada se administra a un sujeto, provoca una respuesta inmune en el sujeto contra dichos antígenos de la composición. La vacuna combinada de la invención comprende antígeno diftérico (D), tetánico (T), pertúsico de células completas (wP) y anti-polio (VPI), y opcionalmente otros antígenos seleccionados a partir del grupo consistente en *Haemophilus influenzae* (Hib) y hepatitis (Hep).

De acuerdo a una implementación de la invención, la vacuna comprende D, T, wP, Hib b y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 30 IOU por cada 0,5 ml e Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml, para formar una vacuna pentavalente que debe ser estable, inmunogénica y en forma de una formulación completamente líquida.

De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la vacuna pentavalente de la invención comprende D, T, wP, Hib b y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 20 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 7,5 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 16 IOU por cada 0,5 ml e Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml. Tal vacuna se formula para dar una vacuna combinada completamente líquida, estable e inmunogénica cuando se administra a un sujeto.

De acuerdo a otra implementación de la invención, la vacuna hexavalente comprende D, T, wP, Hib b, Hep B y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor

de 1 – 25 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 30 IOU por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml, para formar una vacuna combinada estable y completamente líquida pentavalente que debe ser inmunogénica cuando se administra a un sujeto.

De acuerdo a otra implementación preferida de la invención, la vacuna hexavalente de la invención comprende D, T, wP, Hib b, Hep B y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 20 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 7,5 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 16 IOU por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml. Tal vacuna debería ser una vacuna estable capaz de provocar una respuesta inmune protectora contra todos los antígenos de la composición, cuando es administrada a un sujeto.

Otro aspecto adicional de la invención se relaciona con una vacuna pentavalente que comprende DTwP, Hib b y Hep B, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1–25 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 30 IOU, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 2 – 20 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, para dar una vacuna combinada completamente líquida, estable e inmunogénica.

De acuerdo a un aspecto preferido de la invención, la vacuna pentavalente comprende DTwP, Hib b y Hep B, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 20 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 7,5 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 16 IOU, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml. Tal vacuna es estable y se presenta en forma de una formulación completamente líquida. Tal vacuna debería ser una vacuna estable capaz de provocar una respuesta inmune protectora contra todos los antígenos de la composición, cuando es administrada a un sujeto.

La invención se relaciona adicionalmente con un método para inducir una respuesta inmunológica contra cualquiera de los antígenos seleccionados entre D, T, P, Hib, Hep o VPI, que comprende administrar una cantidad inmunológicamente activa de la vacuna de la invención.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, el contenido de aluminio (Al^{3+}) en la vacuna de la invención no puede ser más de, preferiblemente, 2 mg por cada 0,5 ml, más preferiblemente 1 mg por cada 0,5 ml y ante todo preferiblemente 0,6 mg por cada 0,5 ml.

De acuerdo a otro aspecto de la invención, la cantidad preferida de 2-fenoxietanol en la vacuna combinada de la invención puede ser de 5 mg/ml.

Proceso para fabricar la vacuna de la invención

Uno de los aspectos de la invención se relaciona con el proceso para fabricar la vacuna de la invención. La inmunogenicidad, la estabilidad y el mantenimiento de la forma correcta de los antígenos en la composición inmunogénica pueden depender de la forma en que se formula la composición. Esto puede incluir la secuencia de adición de los antígenos, el uso de los adyuvantes específicos para ciertos antígenos, el uso de varios parámetros, incluyendo agitación, temperatura y pH.

Una de las implementaciones de la invención se relaciona con el proceso de fabricación de la vacuna combinada completamente líquida que comprende antígeno diftérico (D), tetánico (T), pertúsico de células completas (wP) y VPI, y opcionalmente uno o más antígenos seleccionados a partir del grupo consistente en *Haemophilus influenzae* (Hib) y hepatitis (Hep), que comprende los pasos de:

- a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico de células completas (wP),
- b) opcionalmente, preparar un componente II que comprende Hep adsorbido sobre sales de aluminio,
- c) opcionalmente, mezclar el componente II con el componente I para obtener una mezcla,
- d) agregar la mezcla anterior [como se obtiene en a) o en c)] al HIB, seguido de la adición de los antígenos VPI.

De acuerdo a una de las implementaciones preferidas de la invención, los antígenos diftérico (D) y tetánico (T) están adsorbidos sobre fosfato de aluminio.

Otras implementaciones preferidas de la invención se relacionan con la preparación del componente I, que comprende las siguientes etapas:

- a) transferir un gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente,
- b) transferir una preparación de antígeno tetánico al recipiente anterior,

- c) transferir una preparación de antígeno diftérico con agitación hacia dicho recipiente,
- d) transferir 2-fenoxietanol hacia dicho recipiente,
- e) transferir una solución de cloruro de sodio hacia dicho recipiente con agitación constante,
- f) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,0-6,5,
- g) transferir una preparación de antígeno wP con agitación hacia el mismo recipiente,
- h) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

El proceso comprende adicionalmente la preparación del componente II que comprende los siguientes pasos:

- a) transferir un gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente,
- b) transferir una preparación de antígeno de hepatitis con agitación hacia el recipiente anterior,
- c) transferir una solución de cloruro de sodio con agitación hacia el mismo recipiente,
- d) transferir una preparación de 2-fenoxietanol hacia el recipiente mencionado anteriormente,
- e) chequear el pH y ajustarlo para dejarlo en el rango entre 6,0-7,0.

El proceso involucra además la mezcla del componente I y el componente II, que comprende el paso de transferir el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

El proceso involucra adicionalmente la mezcla de la mezcla anterior con antígenos Hib y VPI, que comprende los siguientes pasos:

- a) transferir la mezcla anterior hacia la preparación de antígeno Hib con agitación para obtener otra mezcla,
- b) transferir la mezcla anterior al antígeno VPI, seguido por una solución salina,
- c) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

Otra implementación preferida de la invención se relaciona con la adición del componente I a los antígenos Hib y VPI, que comprende los siguientes pasos:

- a) transferir el Componente I hacia la preparación de antígeno Hib con agitación para obtener una mezcla,

b) transferir la mezcla anterior a la preparación de antígeno VPI, seguido por una solución salina,

c) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

Otro aspecto preferido de la invención se relaciona con la preparación de la vacuna, que comprende los siguientes pasos:

a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico de células completas (wP),

b) preparar un componente II que comprende Hep adsorbido sobre sales de aluminio,

c) mezclar el componente II con el componente I para obtener una mezcla,

d) agregar la mezcla anterior al antígeno Hib.

El proceso comprende adicionalmente la preparación del componente I que comprende los siguientes pasos:

a) transferir un gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente,

b) transferir una preparación de antígeno tetánico con agitación hacia el recipiente anterior,

c) transferir una preparación de antígeno diftérico hacia dicho recipiente,

d) transferir 2-fenoxietanol hacia dicho recipiente,

e) transferir una solución de cloruro de sodio hacia dicho recipiente con agitación,

f) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,0-6,5,

g) transferir una preparación de antígeno wP hacia el mismo recipiente,

h) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

El proceso se relaciona adicionalmente con la preparación del componente II que comprende los siguientes pasos:

a) transferir un gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente,

b) transferir una preparación de antígeno de hepatitis al recipiente anterior,

c) transferir una solución de cloruro de sodio hacia el mismo recipiente,

- d) transferir una preparación de 2-fenoxietanol con agitación hacia el recipiente mencionado anteriormente,
- e) chequear el pH y ajustarlo para dejarlo en el rango entre 6,0-7,0.

El proceso se relaciona además con la mezcla del componente I y el componente II, que comprende el paso de transferir el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

Al proceso comprende además los siguientes pasos:

- a) transferir la mezcla anterior hacia la preparación de antígeno Hib,
- b) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

De acuerdo a una implementación preferida de la invención, la agitación mencionada en cualquiera de los pasos anteriores se realiza a 150 rpm a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por entre alrededor de 30 minutos a 2 horas.

Los siguientes ejemplos se usan para ilustrar adicionalmente la presente invención y las ventajas de la misma. Los siguientes ejemplos específicos se entregan bajo el entendimiento de que están concebidos a modo ilustrativo sin servir de limitación del alcance de la presente invención.

EJEMPLO I

Este ejemplo entrega la composición y el proceso de fabricación de una vacuna hexavalente como un aspecto de la invención.

A) Composición de la vacuna hexavalente según la invención, como sigue:

Cada 0,5 ml de vacuna comprende lo siguiente:

Tabla 1:

COMPONENTES	CANTIDAD
Toxoide diftérico (TD)	20 Lf
Toxoide tetánico (TT)	7,5 Lf
Antígeno de <i>B. pertussis</i> inactivado (wP)	16 IOU
Antígeno de <i>Haemophilus influenzae</i> (Hib) b (polisacárido capsular)	10 µg
Antígeno de superficie de hepatitis (Hep) B (HBsAg)	10 µg

31

Poliovirus inactivado (VPI)	
Tipo 1	40 unidades D (DU)
Tipo 2	8 unidades D (DU)
Tipo 3	32 unidades D (DU)
Otros ingredientes:	
Contenido de aluminio (como fosfato de aluminio)	*NMD 0,6 mg de Al^{3+}
2-fenoxietanol	2,5 mg

*NMD: no más de.

B) Proceso para fabricar la vacuna hexavalente según la invención, como sigue:

Procedimiento para la formulación del Componente I

Se transfirió el gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente, seguido por el antígeno tetánico y el antígeno diftérico con agitación, para obtener una mezcla. Luego se agregó 2-fenoxietanol a la mezcla anterior en dicho recipiente. Luego se agregó una solución de cloruro de sodio a lo anterior. Se chequeó el pH de la mezcla y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,0-6,5. Luego se transfirió el antígeno wP hacia el mismo recipiente. A continuación se chequeó el pH de la mezcla y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,5-7,5.

Procedimiento para la formulación del Componente II

Se transfirió el gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente, seguido por el antígeno de la Hepatitis B. Luego se transfirió la solución de cloruro de sodio hacia el mismo recipiente, seguida por 2-fenoxietanol. Se chequeó el pH de la mezcla y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,0-7,0.

Mezcla del Componente I con el Componente II

Este paso se llevó a cabo transfiriendo el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

Adición de Hib b y VPI en masa

Además, la mezcla anterior de los componentes I y II se combinó con la preparación de antígeno Hib b para obtener una mezcla. Ésta se agregó adicionalmente al antígeno VPI para obtener una mezcla y se le agregó solución salina a la mezcla anterior para obtener

32

una vacuna hexavalente, se chequeó el pH y se lo ajustó para dejarlo en el rango entre 6,5-7,5.

EJEMPLO II

Este ejemplo entrega la composición y el proceso de fabricación de una vacuna pentavalente como un aspecto de la invención.

A] Composición de la vacuna pentavalente según la invención, como sigue:

Cada 0,5 ml de vacuna comprende lo siguiente:

Tabla 2:

COMPONENTES	CANTIDAD
Toxoide diftérico (TD)	20 Lf
Toxoide tetánico (TT)	7,5 Lf
Antígeno de <i>B. pertussis</i> inactivado (wP)	16 IOU
Antígeno de <i>Haemophilus influenzae</i> (Hib) b (polisacárido capsular)	10 µg
Poliovirus inactivado (VPI)	
Tipo 1	40 unidades D (DU)
Tipo 2	8 unidades D (DU)
Tipo 3	32 unidades D (DU)
Otros ingredientes:	
Contenido de aluminio (como fosfato de aluminio)	*NMD 0,6 mg de Al ³⁺
2-fenoxietanol	2,5 mg

*NMD: no más de

B] Proceso para fabricar la vacuna pentavalente según la invención, como sigue:

Procedimiento para la formulación del Componente I

33

Se transfirió el gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente, seguido por el antígeno tetánico y el antígeno diftérico con agitación, para obtener una mezcla. Luego se mezcló 2-fenoxietanol con la mezcla anterior en dicho recipiente. Luego se agregó una solución de cloruro de sodio a lo anterior. Se chequeó el pH de la mezcla y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,0-6,5. Luego se transfirió el antígeno wP hacia el mismo recipiente. A continuación se chequeó el pH de la mezcla y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,5-7,5.

Adición de Hib b y VPI en masa

El componente I se agregó al antígeno Hib b para obtener una mezcla, la cual luego se mezcló con la preparación de antígeno VPI y solución salina para obtener una vacuna pentavalente. Se ajustó el pH de la mezcla y se lo dejó en el rango entre 6,5-7,5.

EJEMPLO III

Este ejemplo entrega la composición y el proceso de fabricación de una vacuna pentavalente como un aspecto de la invención.

A) Composición de la vacuna pentavalente según la invención, como sigue:

Cada 0,5 ml de vacuna comprende lo siguiente:

Tabla 3:

COMPONENTES	CANTIDAD
Toxoide diftérico (D)	20 Lf
Toxoide tetánico (T)	7,5 Lf
Antígeno de <i>B. pertussis</i> inactivado (wP)	16 IOU
Antígeno de <i>Haemophilus influenzae</i> (Hib) b (polisacárido capsular)	10 µg
Antígeno de superficie de hepatitis (Hep) B (HBsAg)	10 µg
Otros ingredientes:	
Contenido de aluminio (como fosfato de aluminio)	*NMD 0,6 mg de Al ³⁺
2-fenoxietanol	2,5 mg

34

*NMD: no más de.

B) Proceso para fabricar la vacuna pentavalente según la invención, como sigue:

Procedimiento para la formulación del Componente I

Se transfirió el gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente, seguido por el antígeno tetánico y el antígeno diftérico con agitación, para obtener una mezcla. Luego se mezcló 2-fenoxietanol con la mezcla anterior en dicho recipiente. Luego se agregó una solución de cloruro de sodio a lo anterior. Se chequeó el pH de la mezcla y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,0-6,5. Luego se transfirió el antígeno wP hacia el mismo recipiente. A continuación se chequeó el pH de la mezcla y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,5-7,5.

Procedimiento para la formulación del Componente II

Se transfirió el gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente, seguido por la preparación de antígeno Hep B. Luego se transfirió la solución de cloruro de sodio hacia el mismo recipiente, seguida por la preparación de 2-fenoxietanol para obtener una mezcla. Se ajustó el pH para dejarlo en el rango entre 6,0-7,0.

Mezcla del Componente I con el Componente II

Este paso involucró la transferencia del contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

Adición de Hib b en masa

La mezcla anterior de los componentes I y II se combinó luego con la preparación de antígeno Hib b para obtener una vacuna pentavalente. Se chequeó el pH de la mezcla obtenida y se ajustó para dejarlo en el rango entre 6,5-7,5.

EJEMPLO IV

Este ejemplo entrega un informe de la prueba de potencia *in vivo* llevada a cabo para los antígenos diftérico, tetánico, pertúsico de células completas, *Haemophilus influenzae* (Hib) de tipo b, hepatitis B y poliovirus inactivado, y los datos de estabilidad de la potencia para los mismos.

A) Prueba de potencia *in vivo* llevada a cabo para los antígenos diftérico, tetánico, pertúsico de células completas, *Haemophilus influenzae* (Hib) de tipo b, hepatitis B y poliovirus inactivado

1. Toxoide Diftérico

35

Especie animal requerida : Conejillo de Indias

Número de animales requeridos para 1 lote : 116 (48 para la prueba, 48 de referencia y 20 para la DL₅₀)

Ruta de administración de la vacuna : Subcutánea

Volumen de inyección : 1,0 ml

Nº de días de guarda de los animales : 28

La potencia del toxoide diftérico fue determinada en conejillos de Indias mediante el método de desafío letal. En este método, se preparó tres diluciones para cada prueba y se preparó la vacuna de referencia de manera que la dilución media contenía la dosis DE₅₀ que salva al menos a un 50% de los animales de prueba. Se inoculó dieciséis conejillos de Indias para cada dilución de la vacuna de prueba y de la vacuna de referencia y después de 28 días se desafió a los animales de prueba con toxina diftérica conteniendo 100 DL₅₀. Un grupo de veinte conejillos de Indias se dejaron sin inmunizar para la titulación de la toxina diftérica y este grupo de conejillos de Indias fue inoculado con diferentes diluciones de toxina diftérica, 5 conejillos de Indias para cada dilución. La prueba se completó en 33 días. Se realizó cálculos adicionales usando PROBIT. La muestra pasa la prueba de potencia diftérica si contiene ≥ 30 UI/Dosis Humana Única.

- La vacuna de prueba debería ser lineal y paralela con la vacuna de referencia.
- El límite de confianza de la potencia estimada debería estar entre 50 y 200%.
- La potencia estimada no debería ser menor que 30 U.I. por dosis humana única.
- El límite del intervalo de confianza del 95% del estimado de potencia debería estar entre 50-200%, a menos que el límite inferior del intervalo de confianza del 95% de la potencia estimada deba ser mayor que 30 U.I. por dosis.

2. Toxoide Tetánico

Especie animal requerida : Ratón suizo albino

Número de animales requeridos para 1 lote : 116 (48 para la prueba, 48 de referencia y 20 para la DL₅₀)

Ruta de administración de la vacuna : Subcutánea

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 28

La potencia del toxoide tetánico fue determinada en ratones suizos mediante el método de desafío letal. En la prueba, se preparó tres diluciones para cada prueba y se preparó la vacuna de referencia de manera que la dilución media contenía la dosis DE_{50} que salva al menos a un 50% de los animales de prueba. Se inoculó un grupo de dieciséis ratones suizos para cada dilución de la vacuna de prueba así como para la vacuna de referencia y después de 28 días de guarda se desafió a los animales de prueba con toxina tetánica conteniendo 100 DL_{50} . Un grupo de veinte ratones suizos se mantuvo sin inmunizar para la titulación de la toxina tetánica y se inoculó 5 ratones por cada una de las 4 diluciones de la titulación de DL_{50} . La prueba se completó en 33 días. Se llevó a cabo cálculos adicionales usando PROBIT. La muestra de potencia pasa la prueba de potencia tetánica si contiene ≥ 60 UI/Dosis Humana Única.

- La vacuna de prueba debería ser lineal y paralela con la vacuna de referencia.
- El límite de confianza de la potencia estimada debería estar entre 50 y 200%.
- La potencia estimada no debería ser menor que 60 U.I. por dosis humana única.

El límite del intervalo de confianza del 95% del estimado de potencia debería estar entre 50-200%, a menos que el límite inferior del intervalo de confianza del 95% de la potencia estimada debiera ser mayor que 60 U.I. por dosis.

3. Antígeno pertúsico de células completas

Especie animal requerida : Ratón suizo

Número de animales requeridos para 1 lote : 194 (72 para la prueba, 72 de referencia y 50 para la DL_{50})

Ruta de administración de la vacuna : intraperitoneal

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 14

La prueba de potencia del antígeno pertúsico se llevó a cabo en ratones suizos mediante la prueba de protección en ratones. En este método, se preparó tres diluciones para cada prueba y se preparó la vacuna de referencia en medio salino de manera que la dilución media contenía la dosis DE_{50} que salva al menos a un 50% de los animales de prueba. Se inmunizó un grupo de 24 ratones suizos por dilución y luego se desafió a todos los animales inmunizados de forma intracerebral con 0,03 ml de la dosis de desafío (aproximadamente 100.000 microorganismos por cada 0,03 ml) en el día 14. Después del desafío, se observó a los animales de prueba durante 14 días y se registró la muerte y supervivencia de los animales de prueba. Las muertes que ocurrieron durante los primeros tres días después del desafío se tomaron como no específicas. Se realizó cálculos adicionales usando PROBIT. La muestra pasa la prueba de potencia pertúsica si

72

contiene ≥ 4 UI/Dosis Humana Única (DHU) y el límite de confianza inferior no es menor que 2 UI/DHU.

4. Antígeno de *Haemophilus influenzae* (Hib) de tipo b

Especie animal requerida : Ratón suizo

Número de animales requeridos para 1 lote : 16 (8 para inmunización, 8 como control)

Ruta de administración de la vacuna : Subcutánea

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 35

La prueba de potencia del antígeno Hib b se llevó a cabo en ratones suizos mediante el método ELISA. En esta prueba, se seleccionó dos grupos (grupos de prueba y control), cada uno con 8 ratones. A cada ratón del grupo de prueba se le inyectó por vía subcutánea 0,5 ml de vacunas diluidas 1:4 y el grupo de control se dejó sin inocular. Se entregó una dosis de refuerzo en los días 10 y 20 y se hizo la recolección final de la sangre el día 35. Las muestras de suero fueron ensayadas para determinar su contenido de anticuerpos contra Hib usando el método ELISA. La muestra pasa la prueba de potencia de Hib si $\geq 50\%$ de los ratones en el grupo control son seroconvertidos.

5. Antígeno de superficie de hepatitis B

Especie animal requerida : Ratones Balb C

Número de animales requeridos para 1 lote : 110 (50 para la muestra, 50 como referencia, 10 para placebo)

Ruta de administración de la vacuna : intraperitoneal

Volumen de inyección : 1,0 ml

Nº de días de guarda de los animales : 28

La prueba de potencia del antígeno de superficie de la hepatitis B se llevó a cabo en ratones Balb/C. En esta prueba, se preparó cinco diluciones a la mitad de la referencia y de la vacuna de prueba y se inoculó diez ratones por vía intraperitoneal por dilución. Se inoculó diez ratones con diluyente, los que sirvieron como placebo. Los ratones inoculados fueron desangrados el día 28 después de la inoculación y se separó el suero sin dejar que hubiera hemólisis. Se ensayó los títulos de anticuerpos contra hepatitis B de las muestras de suero mediante ELISA. La muestra pasa la prueba de potencia de hepatitis B si el límite superior de su potencia relativa es ≥ 1 .

6. Vacuna de polio inactivada (VPI)

Especie animal requerida : Ratas Wistar

Número de animales requeridos para 1 lote : 100 (50 para la vacuna de prueba, 50 para la vacuna de referencia)

Ruta de administración de la vacuna : intramuscular

Volumen de inyección : 0,5 ml

Nº de días de guarda de los animales : 21

La prueba de potencia de VPI se llevó a cabo en ratas RIVM TOX. Se preparó cinco diluciones en tres de la referencia y de la vacuna de prueba y se inyectó por vía intramuscular 0,5 ml de cada dilución a 10 ratas. Se desangró a los animales de prueba 21 días después de la inmunización y se colectó muestras de suero cuidadosamente para evitar la lisis de los glóbulos rojos. Se ensayó cada muestra de suero de acuerdo a sus títulos de anticuerpos contra los serotipos de poliovirus de tipo 1, tipo 2 y tipo 3 mediante una prueba de neutralización de suero.

La prueba no es válida, a menos que:

- la dosis efectiva media (DE_{50}) para la vacuna de prueba y la vacuna de referencia caiga entre la dosis menor y la dosis mayor entregada a los animales;
- el análisis estadístico no muestre una desviación significativa de la linealidad o el paralelismo;
- los límites de confianza de la potencia relativa estimada caigan entre un 25% y un 400% de la potencia estimada.

B] Datos de estabilidad de la potencia de los antígenos en la vacuna de la invención

1) Se llevó a cabo las pruebas como se explica en el Ejemplo IV A] para todos los antígenos de la vacuna hexavalente del Ejemplo I. Los resultados se tabulan en la tabla que sigue.

Tabla 4:

Componentes	Límites de Aceptación	Estudio de Largo Plazo (5°C ± 3°C)	
		6 meses	12 meses
Toxoides diftérico (TD) (Potencia)	≥ 60 UI/ml	157,28	--
Toxoides tetánico (TT) (Potencia)	≥ 120 UI/ml	209,57	--
B. pertussis inactivado	≥ 8 UI/ml	9,44	9,69

39

(wP) (Potencia)				
Antígeno de polisacárido capsular (Hib b) (Potencia)		$\geq 50 \%$	62,5	75
Antígeno de superficie de hepatitis (Hep) B (HBsAg) (Potencia)		$\geq 1,0$	1,56	1,50
Poliovirus inactivado (VPI) (Potencia)	Tipo 1	La potencia de la vacuna de prueba no debe ser menor que la de la vacuna de referencia	--	Pasa
	Tipo 2		--	Pasa
	Tipo 3		--	Pasa

Así, puede verse que incluso después del almacenamiento a largo plazo de la vacuna a $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$, los antígenos de la vacuna tienen aún potencia/inmunogenicidad por encima de los límites de aceptación.

2) Se llevó a cabo las pruebas como se explica en el Ejemplo IV A] para todos los antígenos de la vacuna pentavalente del Ejemplo II. Los resultados se tabulan en la tabla que sigue.

Tabla 5:

Componentes	Límites de Aceptación	Estudio de Largo Plazo ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$)	
		6 meses	12 meses
Toxoide diftérico (TD) (Potencia)	$\geq 60 \text{ UI/ml}$	166,22	--
Toxoide tetánico (TT) (Potencia)	$\geq 120 \text{ UI/ml}$	208,77	--
<i>B. pertussis</i> inactivado (wP) (Potencia)	$\geq 8 \text{ UI/ml}$	9,37	10,5
Antígeno de polisacárido capsular (Hib b) (Potencia)	$\geq 50 \%$	87,5	75

40

Poliovirus inactivado (VPI) (Potencia)	Tipo 1	La potencia de la vacuna de prueba no debe ser menor que la de la vacuna de referencia	--	Pasa
	Tipo 2		--	Pasa
	Tipo 3		--	Pasa

Así, puede verse que incluso después del almacenamiento a largo plazo de la vacuna a $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$, los antígenos de la vacuna tienen aún potencia/inmunogenicidad por encima de los límites de aceptación.

51

Reivindicaciones:

1. Una vacuna combinada estable y completamente líquida que comprende antígeno diftérico (D), tetánico (T), pertúsico de células completas (wP) y VPI, y opcionalmente uno o más antígenos seleccionados a partir del grupo consistente en *Haemophilus influenzae* (Hib) y hepatitis (Hep).
2. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde los antígenos D y T están adsorbidos sobre fosfato de aluminio.
3. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde los antígenos VPI son cepas Salk seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3, o cepas Sabin seleccionadas a partir del grupo consistente en las cepas Sabin 1 o 2.
4. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde Hib está conjugado con una proteína portadora seleccionada a partir de un grupo que comprende el toxoide tetánico, el toxoide diftérico, CRM 197 y la proteína de membrana externa de *Neisseria meningitidis*, o cualquier equivalente de los mismos, o cualquier otro portador conocido.
5. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde el antígeno Hib no está sustancialmente adsorbido sobre ningún adyuvante.
6. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde el antígeno Hib se deriva del polisacárido capsular de la cepa Hib b.
7. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde el antígeno Hep está adsorbido sobre fosfato de aluminio.
8. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde el antígeno Hep se deriva del antígeno de superficie de la cepa Hep B.
9. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde la vacuna comprende adicionalmente 2-fenoxietanol (2-POE) como conservante en la composición.
10. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde la vacuna comprende D, T, wP, Hib b y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 30 IOU por cada 0,5 ml e Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes

u2

en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.

11. La vacuna reivindicada en la reivindicación 10, en donde la vacuna comprende D, T, wP, Hib b y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 20 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 7,5 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 16 IOU por cada 0,5 ml e Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.

12. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde la vacuna comprende D, T, wP, Hib b, Hep B y VPI (Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2, y Saukett de tipo 3), en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 30 IOU por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg, y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 1 – 50 DU, 1 – 15 DU y 1 – 50 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.

13. La vacuna reivindicada en la reivindicación 12, en donde la vacuna comprende D, T, wP, Hib b, Hep B y VPI, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 20 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 7,5 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 16 IOU por cada 0,5 ml, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml, y las cepas Mahoney de tipo 1, MEF de tipo 2 y Saukett de tipo 3 están presentes en una cantidad de alrededor de 40 DU, 8 DU y 32 DU, respectivamente, por cada 0,5 ml.

14. Un método para inducir una respuesta inmunológica contra cualquiera de los antígenos seleccionados entre D, T, P, Hib, Hep o VPI, que comprende administrar a un sujeto una cantidad inmunológicamente activa de la vacuna combinada que se reivindica en la reivindicación 1.

15. La vacuna reivindicada en la reivindicación 1, en donde la vacuna comprende antígenos D, T, wP, Hib b y Hep B, y 2-fenoxietanol como conservante, con la condición de que la vacuna no comprenda antígenos VPI.

16. La vacuna reivindicada en la reivindicación 15, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 40 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 25

43

Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 30 IOU, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 2 – 20 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 1 – 20 µg por cada 0,5 ml.

17. La vacuna reivindicada en la reivindicación 16, en donde D está presente en una cantidad de alrededor de 20 Lf, T está presente en una cantidad de alrededor de 7,5 Lf, wP está presente en una cantidad de alrededor de 16 IOU, Hib b está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg y Hep B está presente en una cantidad de alrededor de 10 µg por cada 0,5 ml.

18. Un proceso para fabricar una vacuna combinada estable completamente líquida como la reivindicada en la reivindicación 1, que comprende los pasos de:

- a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico de células completas (wP) en un recipiente de reacción,
- b) opcionalmente, preparar un componente II que comprende Hep adsorbido sobre sales de aluminio,
- c) opcionalmente, mezclar el componente II con el componente I para obtener una mezcla,
- d) agregar la mezcla anterior [como se obtiene en a) o en c)] al HIB, seguido de la adición de los antígenos VPI.

19. El proceso reivindicado en la reivindicación 18, en donde los antígenos D y T están adsorbidos sobre fosfato de aluminio.

20. El proceso reivindicado en la reivindicación 18, en donde el proceso comprende adicionalmente el paso de agregar 2-fenoxietanol (2-POE) como conservante en el componente I.

21. El proceso reivindicado en la reivindicación 18, en donde la preparación del componente I comprende los siguientes pasos:

- a) transferir gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente,
- b) transferir una preparación de antígeno tetánico con agitación hacia el recipiente anterior,
- c) transferir una preparación de antígeno diftérico hacia dicho recipiente,
- d) transferir 2-fenoxietanol hacia dicho recipiente con agitación,

44

- e) transferir una solución de cloruro de sodio hacia dicho recipiente,
- f) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,0-6,5
- g) transferir una preparación de antígeno wP con agitación,
- h) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

22. El proceso reivindicado en la reivindicación 18, en donde la preparación del componente II comprende los siguientes pasos:

- a) transferir un gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente,
- b) transferir una preparación de antígeno de hepatitis (Hep) con agitación hacia el recipiente anterior,
- c) transferir una solución de cloruro de sodio hacia el mismo recipiente,
- d) transferir una preparación de 2-fenoxietanol hacia el recipiente mencionado anteriormente,
- e) chequear el pH y ajustarlo para dejarlo en el rango entre 6,0-7,0.

23. El proceso reivindicado en la reivindicación 18, en donde la mezcla del componente I y el componente II comprende el paso de transferir el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla en un recipiente de reacción.

24. El proceso reivindicado en la reivindicación 18, en donde la adición de los antígenos Hib y VPI comprende los siguientes pasos:

- a) transferir a la preparación del antígeno Hib la mezcla obtenida en el paso a) o en el paso c) de la reivindicación 18, para obtener una mezcla,
- b) transferir la mezcla anterior a la preparación de antígeno VPI, seguido por una solución salina,
- c) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

25. Un proceso para fabricar una vacuna combinada estable completamente líquida como la reivindicada en la reivindicación 15, que comprende los pasos de:

- a) preparar un componente I que comprende una mezcla de i) antígeno diftérico (D), ii) antígeno tetánico (T) y iii) antígeno pertúsico de células completas (wP),
- b) preparar un componente II que comprende Hep B adsorbido sobre sales de aluminio,

45

- c) mezclar el componente II con el componente I para obtener una mezcla,
- d) agregar la mezcla anterior al antígeno Hib.

26. El proceso reivindicado en la reivindicación 25, en donde los antígenos D y T están adsorbidos sobre fosfato de aluminio.

27. El proceso reivindicado en la reivindicación 25, en donde la preparación del componente I comprende los siguientes pasos:

- a) transferir gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente,
- b) transferir una preparación de antígeno tetánico con agitación hacia el recipiente anterior,
- c) transferir una preparación de antígeno diftérico hacia dicho recipiente,
- d) transferir 2-fenoxietanol,
- e) transferir una solución de cloruro de sodio hacia dicho recipiente,
- f) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,0-6,5,
- g) transferir una preparación de antígeno wP hacia el mismo recipiente
- h) chequear el pH y ajustarlo en el rango entre 6,5-7,5.

28. El proceso reivindicado en la reivindicación 25, en donde la preparación del componente II comprende los siguientes pasos:

- a) transferir un gel de fosfato de aluminio hacia un recipiente.
- b) transferir una preparación de antígeno Hep B al recipiente anterior,
- c) transferir una solución de cloruro de sodio hacia el mismo recipiente,
- d) transferir una preparación de 2-fenoxietanol hacia el recipiente mencionado anteriormente,
- e) chequear el pH y ajustarlo para dejarlo en el rango entre 6,0-7,0.

29. El proceso reivindicado en la reivindicación 25, en donde la mezcla del componente I y el componente II comprende el paso de transferir el contenido del componente II hacia el componente I para obtener una mezcla.

30. El proceso reivindicado en la reivindicación 29, comprendiendo adicionalmente los siguientes pasos:

46



PCT

(51) International Patent Classification:

A61K 39/05 (2006.01) A61K 39/102 (2006.01)
A61K 39/08 (2006.01) A61K 39/13 (2006.01)
A61K 39/10 (2006.01) A61K 39/29 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/IN2009/000599

(22) International Filing Date:

23 October 2009 (23.10.2009)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

2437/Del/2008 24 October 2008 (24.10.2008) IN.

(71) Applicant (for all designated States except US):
PANACEA BIOTEC LTD. [IN/IN]; B-1 Extn. / A-27,
Mohan Co-operative, Industrial Estate, Mathura Road,
New Delhi 110 044 (IN).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): JAIN, Rajesh
[IN/IN]; B-1 Extn. / A-27, Mohan Co-operative, Industrial
Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN). SINGH,
Sukhjeet [IN/IN]; B-1 Extn. A-27, Mohan Co-operative,
Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044
(IN). JAMBU, Lavit [IN/IN]; B-1 Extn. A-27, Mohan
Co-operative, Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi
110 044 (IN).

(74) Common Representative: PANACEA BIOTEC LTD.;
B-1 Extn. A-27, Mohan Co-operative, Industrial Estate,
Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to the identity of the inventor (Rule 4.17(i))
- as to applicant's entitlement to apply for and be granted
a patent (Rule 4.17(ii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments (Rule 48.2(h))

(54) Title: COMBINATION VACCINE WITH WHOLE CELL PERTUSSIS

(57) Abstract: The present invention relates to a combination vaccine comprising a mixture of antigens for protection against diseases such as diphtheria, tetanus, whole cell pertussis and polio. The present invention also relates to inclusion of one or more antigens in the said combination vaccine, for protection against infections caused by *Haemophilus influenzae*, Hepatitis virus, and other pathogens, such that administration of the vaccine can simultaneously immunize a subject against more than one pathogen. The invention in particular relates to a fully liquid stable combination vaccine comprising the antigens as indicated above and the methods for manufacturing the same.

WO 2010/046934 A1

CESION

ASSIGNMENT

El (la) abajo firmante (En adelante EL CEDENTE)

The undersigned (Hereinafter THE ASSIGNOR)

1. JAIN, Rajesh
2. SINGH, Sukhjeet
3. JAMBU, Lavit

1. JAIN, Rajesh
2. SINGH, Sukhjeet
3. JAMBU, Lavit

en su carácter de inventor/diseñador con domicilio en:

Inventor /designor of domiciled at

- 1.
- 2.
- 3.

- 1.
- 2.
- 3.

por el presente documento declara que cede todos y cada uno de los derechos que le corresponden o puedan corresponderle sobre la siguiente invención, modelo de utilidad, diseño industrial No. PCT/IN2009/000599

do hereby declares that it assigns all and each of his rights and privileges on the following invention, industrial design, utility model No. PCT/IN2009/000599

a: PANACEA BIOTEC LTD.

to PANACEA BIOTEC LTD.

con domicilio en B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-India.

with domicile in B-1 Extn./ A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110044-IN.

En prueba de la mutua aceptación de esta cesión ambas partes CEDENTE y CESIONARIO firman el presente documento.

As a proof of the mutual acceptance of this assignment, both parties ASSIGNOR and ASSIGNEE sign the present document.

Dado y firmado en
A los Días de De

Granted and signed at
on this 20th day of April of 2011

1. JAIN, Rajesh

1. JAIN, Rajesh

El Cedente /The Assignor

El Cedente /The Assignor

2. SINGH, Sukhjeet

2. SINGH, Sukhjeet

El Cedente /The Assignor

El Cedente /The Assignor

3. JAMBU, Lavit

3. JAMBU, Lavit

El Cedente /The Assignor

El Cedente /The Assignor

For Panacea Biotec Ltd.

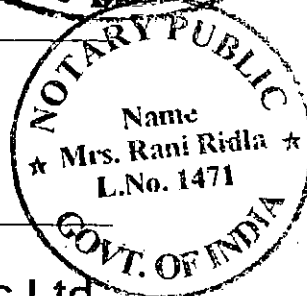
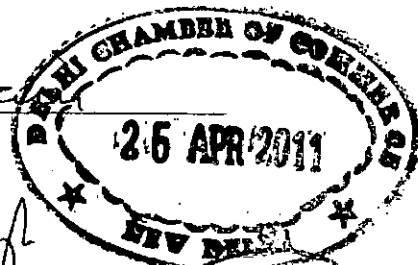
El Cesionario/The Assignee

PREM SINGH PANWAR
Senior Manager

Intellectual Property & Legal Affairs
B-1 Extn. A-27, Mohan Co-operative Indl. Estate,
Mathura Road, New Delhi-110 044

(JASPREM SINGH)
Asstt. Secretary
Delhi Chamber of Commerce
New Delhi

25 APR 2011



49

PAGADOS DERECHOS CONSULARES US\$ 20

NUEVA DELHI

409/2011

El Cónsul de Colombia CERTIFICA

señor. R. P. MORON WAS.....

za el presente documento, ejercía

... en la fecha allí expresada las

Section Offices (v.i)

Ministry of External Affairs

la forma y sello que en el documento

... como suyos son los que usa y

en sus actos oficiales.

no asume responsabilidad alguna

Estado del documento.



Counsellor

सं. 74974 दिनांक _____
 No. _____ Date _____
 अधिकारी/मार्गदर्शक सचिव/उप सचिव
 सचिव, निर्यात प्रमोशन बोर्ड, नई दिल्ली
 The Secretary, Export Promotion Board,
 New Delhi
 Director, Export Promotion, Chamber
 of Commerce Attached

11072
APR 26



(आर. पी. मोरधवाज)
(R. P. MORDHWAJ)
अनुसंधान अधिकारी (ओ.आई.)
Inspection Officer (O.I.)
मिनिस्ट्री ऑफ़ एक्सटर्नल अफ़ेयर्स
Ministry of External Affairs
New Delhi



No. 11-063984- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 14:59:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 49

PATENTE DE INVENCION ☐MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D' ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
PANACEA BIOTEC LTD.

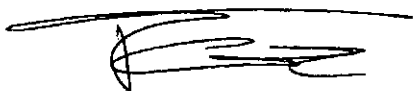
REFERENCIA	Radicación No.	11 063984
	Solicitud internacional	PCT/IN2009/000599
	Fecha inicio fase nacional	24/05/2011
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	15044

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.



JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (C)

23 SET. 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____
adpa11