

CASTELLANOS M. & CO
ABOGADOS
Calle 94A No. 7A-09
Bogotá D.C.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 05-051950- -00007-0000

Fecha: 2008-06-11 14:39:25 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 10

Señora

JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Desarrollo Económico

E. S. D.

Re.: Expediente No. 05.051.950

Solicitud de Patente de Invención titulada: **"METODO DE OBTENCION DE ESTRUCTURAS COCLEARES, COMPOSICIONES VACUNALES Y ADYUVANTES BASADOS EN ESTRUCTURAS COCLEARES Y SUS INTERMEDIARIOS"**

Solicitante: **INSTITUTO FINLAY, CENTRO DE INVESTIGACION - PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS**

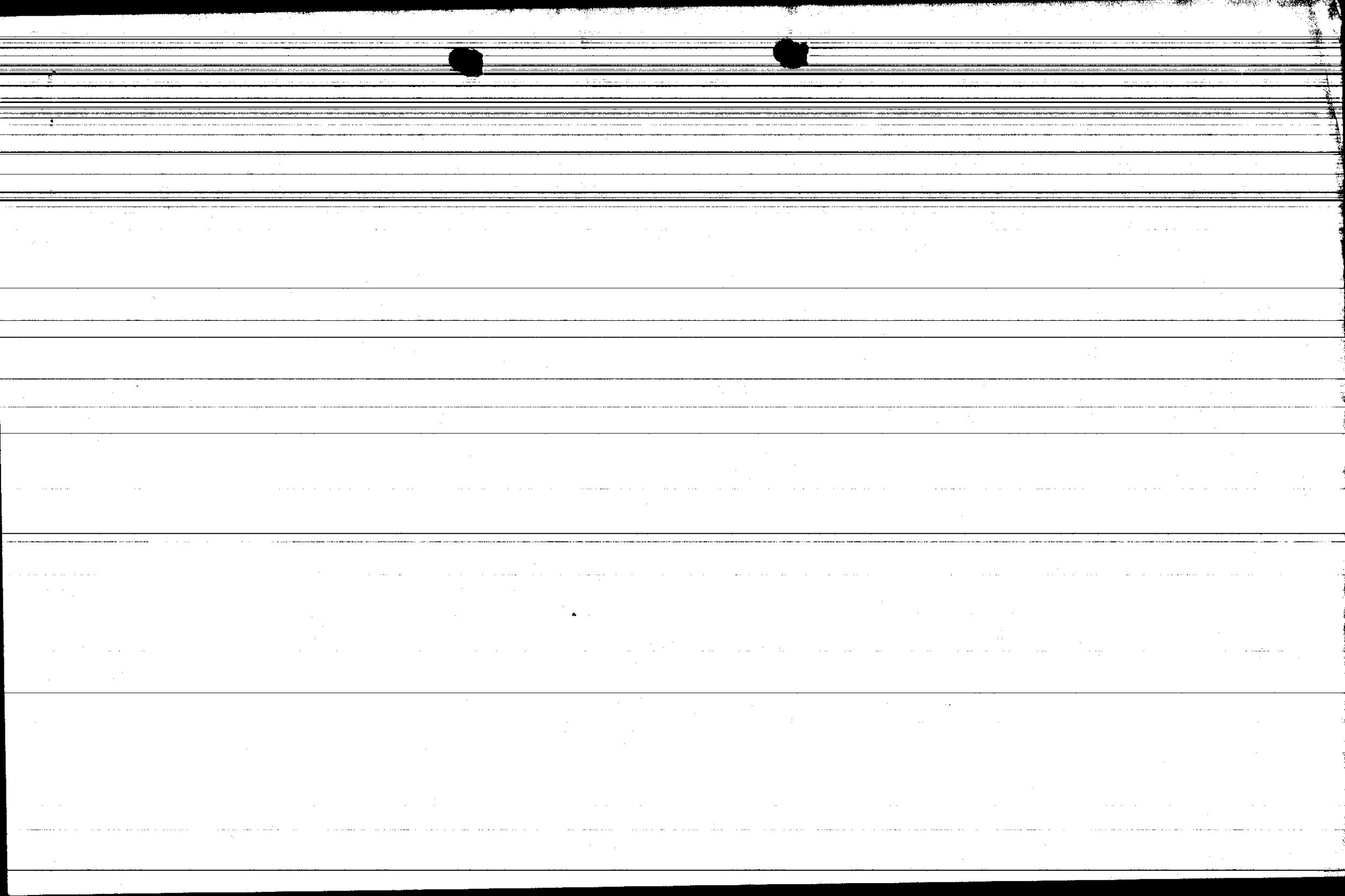
RESPUESTA AL EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, atentamente me permito presentar respuesta al oficio No. 4011 notificado por fijación en lista del 14 de Marzo de 2008, en los siguientes términos:

1. CLARIDAD DE LA SOLICITUD

Con el objeto de subsanar las objeciones a la claridad de la solicitud, presento un nuevo capítulo reivindicatorio en donde la nueva reivindicación 1 se ha restringido a que *las vesículas de membrana pueden ser obtenidas a partir de bacterias, protozoos, virus y células animales*, en sustitución de la expresión *organismos vivos*.

Por otro lado, el solicitante respetuosamente desea señalar que las estructuras cocleares, objeto de la presente invención, a pesar de tener elementos esenciales en común con los proteoliposomas, difieren notablemente de estos últimos. En el caso de los proteoliposomas, estos son esencialmente bicapas lipídicas que poseen insertadas en su



membrana diferentes entidades (proteínas, etc). En el caso de los cocleatos, son estructuras multilaminares, formadas a partir de proteoliposomas pero, interviniendo en su formación de manera imprescindible y luego formando parte de la estructura final de la entidad, el calcio y el deoxicolato de sodio. Con lo cual **no pueden ser consideradas entidades iguales, pero nombradas de otra forma, pues al no tener igual estructura molecular, sus efectos son diferentes** (los proteoliposomas tienen un tamaño del orden de los nanómetros y los cocleatos son de mayor talla, en el orden de los micrómetros).

Así entonces, la solicitud sí se presenta de forma clara y es susceptible de patentabilidad toda vez cumple con lo estipulado por el Artículo 30 de la Decisión 486.

2. NOVEDAD DE LA SOLICITUD

Este Despacho considera que la invención no puede considerarse nueva en vista del documento D1 (US5994318)

El solicitante respetuosamente no coincide con la opinión del examinador. Lo anterior, por cuanto la novedad de una solicitud de patente se ve afectada por un documento que la anticipe de forma idéntica en cuanto a sus elementos técnicos esenciales.

El documento D1 describe el uso de estructuras cocleares como vehículo para distribuir nutrientes, incluyendo adyuvantes. Los cocleatos de esta patente se obtienen a partir de lípidos negativos exclusivamente, sintéticos o purificados, además estos cocleatos no incluyen en su estructura patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs).

Se puede decir que en el documento D1 se reivindica lo siguiente:

- una formulación de cocleato, formado por lípidos negativos y cationes divalentes, conteniendo un nutriente (desde un mineral hasta un sacárido)
- un método de distribución (reparto) del nutriente a las células
- una formulación de proteínas o polipéptidos solubles
- un método de distribución (reparto) de una droga lipofílica a una célula
- una formulación de pigmentos, con metales, con múltiples anillos, sacárido, enzimas, co-factor, adyuvante o condimento
- un método de distribución (reparto) del pigmento, metales, con múltiples anillos, sacárido, enzimas, co-factor, adyuvante o condimento.

Actividad colestos de la
sollicitud y D1 es #.

- D1 no incluye proteínas de
patógeno y no induce rta
inmune.
- D1 no sugiere incluir antígenos
heterólogos incluidos.

En el caso de la presente solicitud se reivindica la obtención de cocleatos derivados de membranas externas de microorganismos vivos que contienen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Por estas dos condiciones, las estructuras cocleares de la presente solicitud de patente difieren a las divulgadas en el documento D1, pues no sólo tienen propiedades de reparto (distribución) sino que además tienen propiedades inmunopotenciadoras y ambas propiedades son esenciales para tener un buen adyuvante. Además la posibilidad de potenciar la respuesta contra antígenos propios o heterólogos incluidos o co-administrados hace posible la obtención de una composición vacunal, conteniendo dichas estructuras cocleares como principio activo de la misma y por tanto reivindicando su capacidad como vacuna para dichas estructuras.

En conclusión el documento D1 no reivindica todos y cada uno de los elementos técnicos de la presente invención y, en consecuencia, dicho documento no puede afectar el requisito de novedad.

Cumplido así con lo dispuesto, respetuosamente solicito a Ud., se otorgue el privilegio de patente de invención a la presente solicitud toda vez que las objeciones hechas por su Despacho han sido superadas con las modificaciones realizadas las reivindicaciones así como los argumentos presentados a favor de la novedad de la presente invención.

3. ANEXOS

- Capítulo reivindicatorio
- Formato de modificaciones
- Recibo de pago por modificaciones

Señora Jefe,


Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. 39.779.654 de Usaquén

T.P.A. No. 70819 del Cons. Sup. de la Judicatura

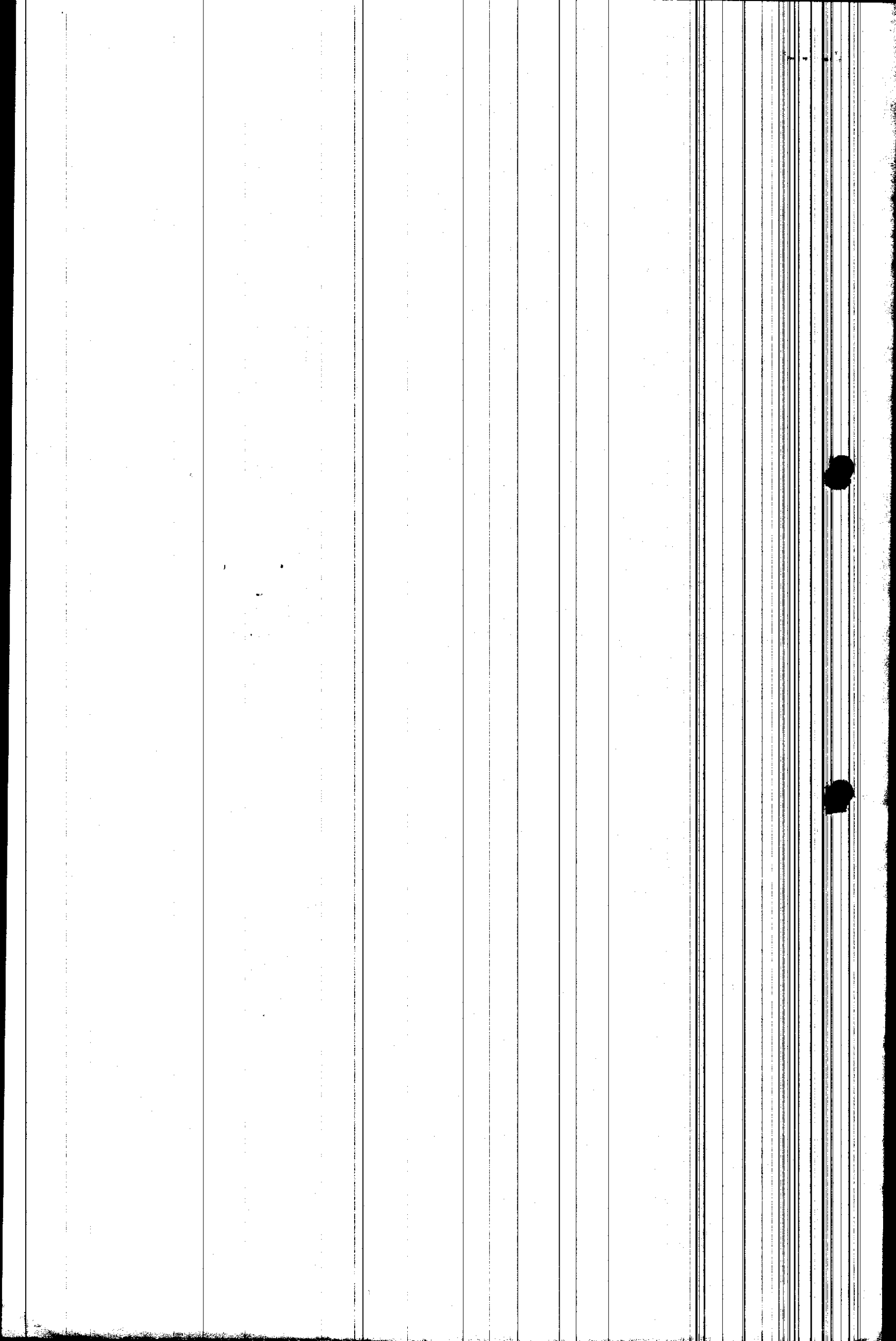
Carrera 9ª. No. 93-09 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 6107420 - 6107480

Bogotá D.C.

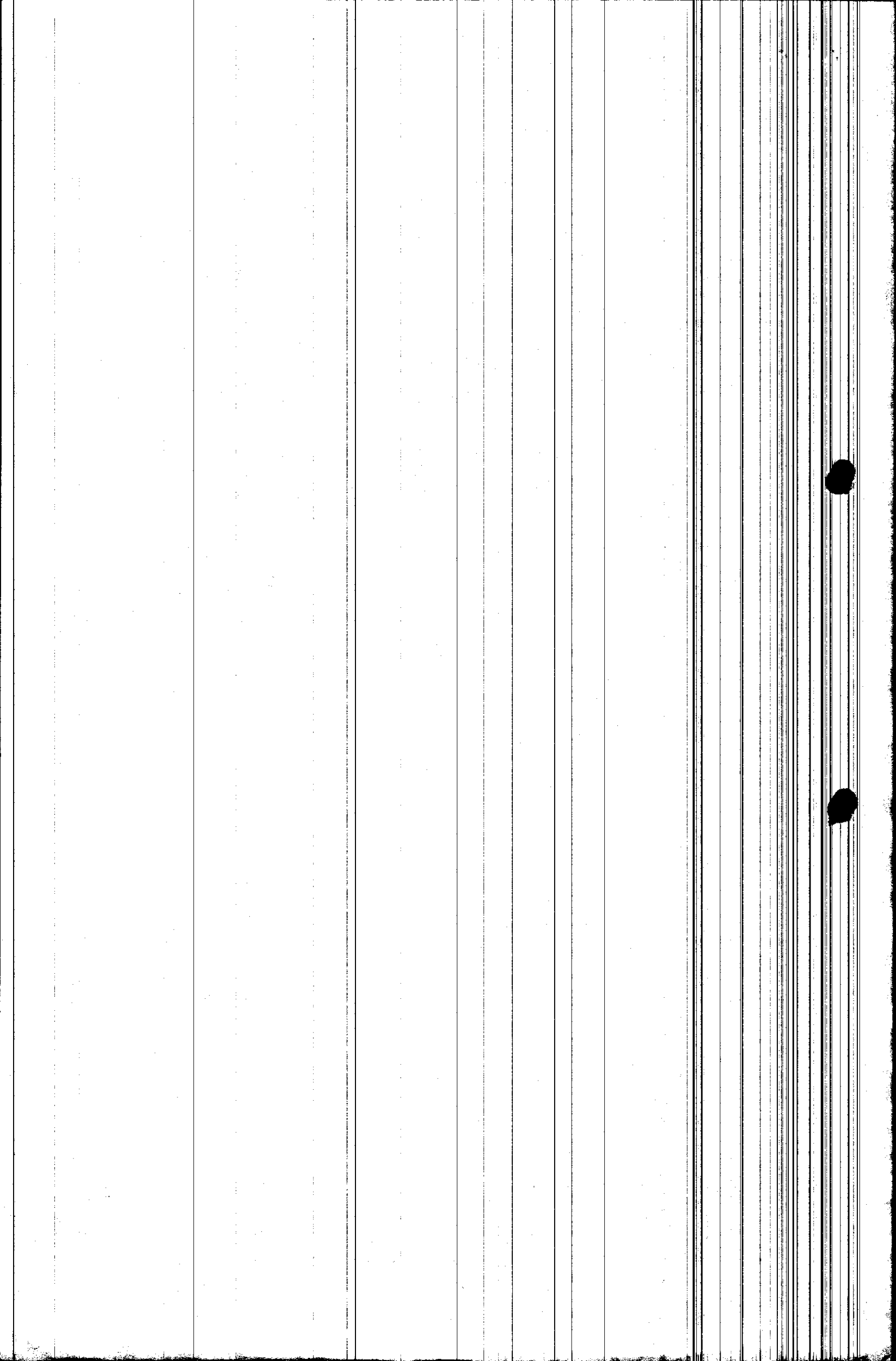
11 JUN 2008

PATENTES/P1201/MEMORIAL FONDO



FORMULARIO ÚNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

① SOLICITUD DE: ☐ Corrección de Error Material ☒ Modificación a una solicitud		
② SOLICITANTE	Nombre: INSTITUTO FINLAY. CENTRO DE INVESTIGACION - PRODUCCION DE VACUNAS Y SUEROS Dirección: Ave. 27 No. 19805 e/ 198 y 202, La Coronela, La Lisa, Ciudad Habana 13500, CUBA Nacionalidad o Domicilio: La Habana - CUBA Lugar de Constitución: CUBA	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
	Teléfono: Fax: E-mail: _____	
③ REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: MARGARITA CASTELLANOS A. Dirección: CALLE 94A No. 7A-09 Teléfono: 610 74 20 Fax: 610 07 06 E-mail: info@castellanosyco.com	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>39'779.654</u> TPA <u>70.819</u>
④ Número de Expediente: 05.051.950		
⑤ Descripción de la corrección o modificación solicitada: Presento nuevo pliego reivindicatorio con 45 reivindicaciones al cual solicito se otorgue el privilegio de patente.		
⑥ Comprobante de pago No. <u>08 - 45,582</u> Fecha <u>09/06/2008</u>		
⑦ Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa. ☐ Poderes si fuere el caso, junto con la sustitución de los mismos a mi favor. ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas ☒ Nuevo capítulo reivindicatorio		
⑧ NOMBRE <u>MARGARITA CASTELLANOS A.</u> FIRMA <u>Margarita Castellanos</u> CC 39'779.654 Usaquéen - TPA 70.819 CSJ		



P1201/173

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 45,582
FECHA : JUNIO 9 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ALVARO CASTELLANOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	341541	09/06/2008	780,000.00

***** CONCEPTO *****

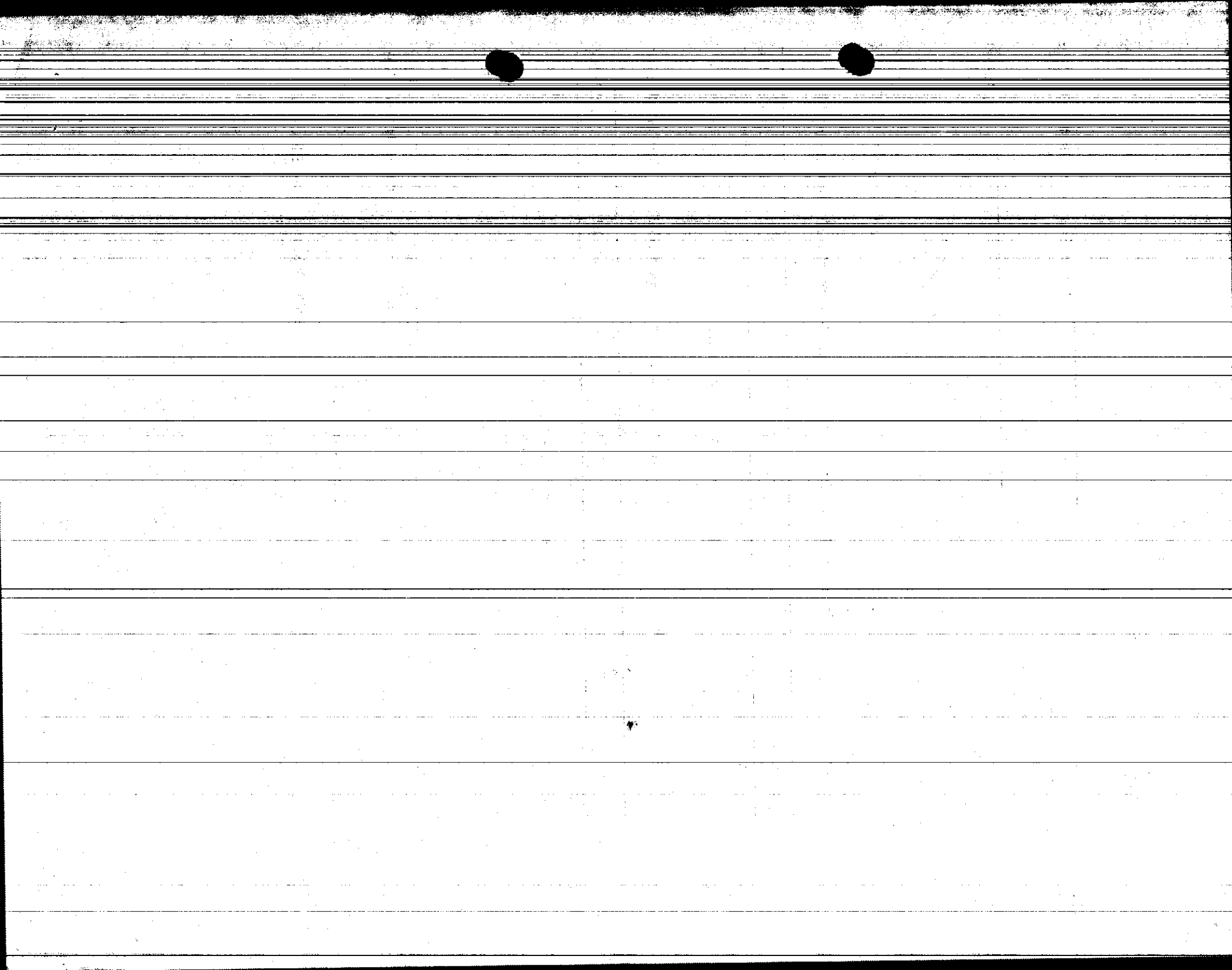
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
		12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	103,000.00
		TOTAL :	\$ 103,000.00

SON: CIENTO TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

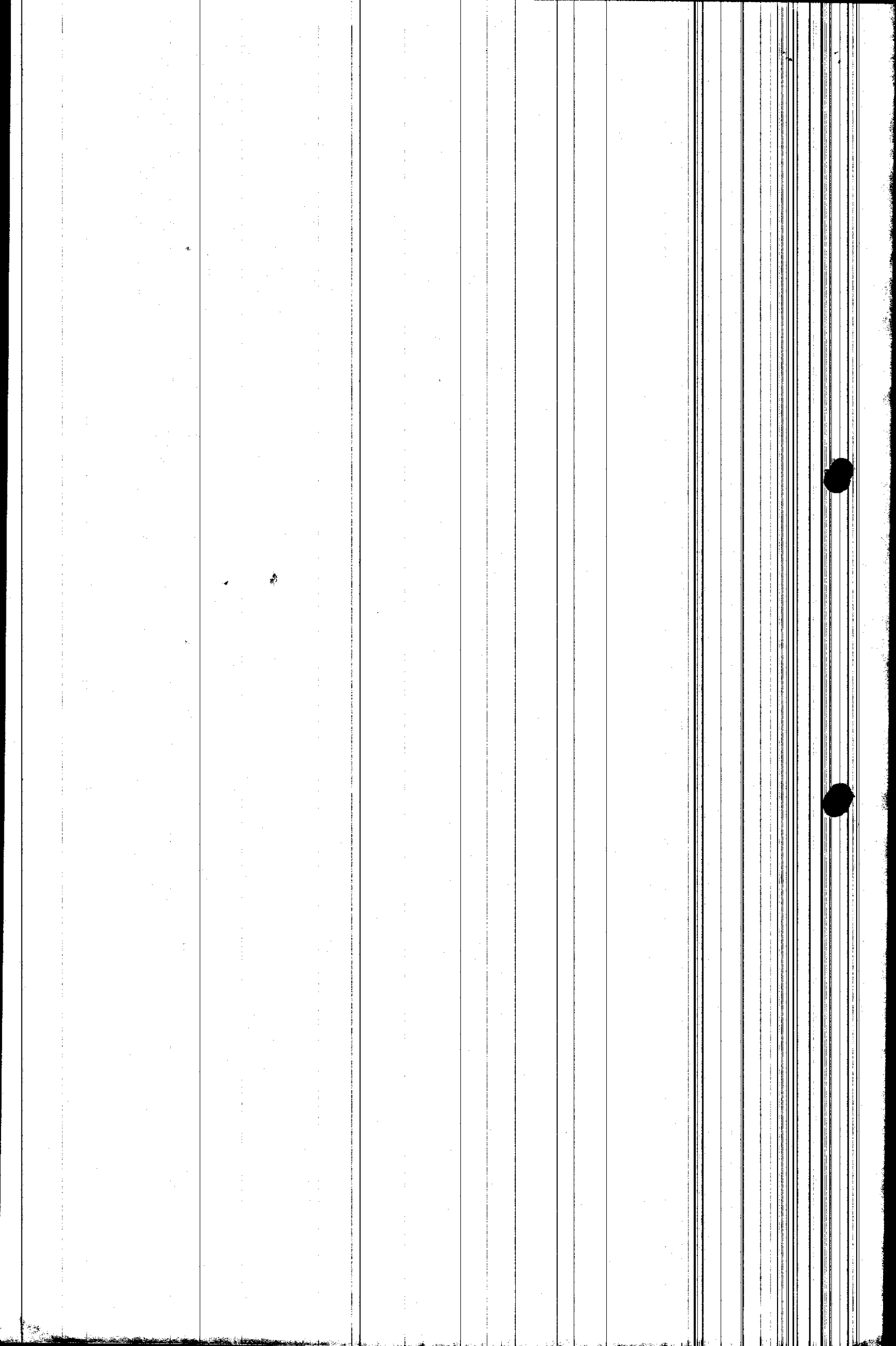
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

5



REIVINDICACIONES MODIFICADAS

- ① Composición vacunal caracterizada porque comprende:
 - estructuras cocleares proteolípídicas que contienen patrones moleculares asociados a patógenos obtenidas a partir de vesículas de membrana externa de bacterias, protozoos, virus o células animales;
 - opcionalmente uno o más antígenos, y;
 - un excipiente adecuado.
2. Composición vacunal según la reivindicación 1, caracterizada porque puede contener opcionalmente otros patrones moleculares asociados a patógenos. *modificadas*
3. Composición vacunal según la reivindicación 1 y 2, caracterizada porque los patrones moleculares asociados a patógenos se encuentran o son adicionados entre el 1% y el 30% del peso proteico de la estructura coclear. ✓
4. Composición vacunal según reivindicación 1 y 2, caracterizada porque los patrones moleculares asociados a patógenos son seleccionados del grupo consistente en lipopolisacárido, peptidoglicano, lipoproteína, ácido teicoico, flagelina y lipofosfoglicano. ✓
5. Composición vacunal según la reivindicación 1, caracterizada porque dicha bacteria puede ser Gram negativa o Gram positiva. ✓
6. Composición vacunal según reivindicación 5, caracterizada porque dicha bacteria Gram negativa sea de los géneros *Neisseria*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Pseudomona* o *Shigella*.
7. Composición vacunal según la reivindicación 5, caracterizada porque dicha bacteria Gram positiva sea de los géneros *Streptococcus* o *Staphylococcus*. ✓
8. Composición vacunal según reivindicación 1, caracterizada porque el protozoo es del género *Leishmania*. ✓
9. Composición vacunal según la reivindicación 1, caracterizado porque las estructuras cocleares provienen de una célula tumoral. *Confirmar ej*
10. Composición vacunal según la reivindicación 1, caracterizada porque los antígenos a incluir adicionalmente se encuentran con respecto a las



proteínas presentes en la estructura coclear en una relación entre 0,2-2,7 µg por cada 3-9 µg de proteína.

11. Composición vacunal según la reivindicación 1, caracterizada porque los antígenos a incluir adicionalmente son seleccionados del grupo consistente en: proteínas naturales o recombinantes, péptidos, sacáridos, ácidos nucleicos; conjugados o alérgenos.

12. Composición vacunal según la reivindicación 10, caracterizada porque el antígeno adicionado son proteínas del virus de la hepatitis C.

13. Composición vacunal según la reivindicación 10, caracterizada porque el antígeno adicionado son epítopes T o B

14. Adyuvante vacunal caracterizado porque comprende:

- estructuras cocleares proteolipídicas que contienen patrones moleculares asociados a patógenos obtenidas a partir de vesículas de membrana externa de bacterias, protozoos, virus o células animales

15. Adyuvante vacunal según la reivindicación 14, caracterizado porque puede contener opcionalmente otros patrones moleculares asociados a patógenos.

} sob fctp
excipiente y
quedo = RV 1.

16. Adyuvante vacunal según la reivindicación 14 y 15, caracterizado porque los patrones moleculares asociados a patógenos se encuentran o son adicionados entre el 1% y el 30% del peso proteico de la estructura. =RV 3.

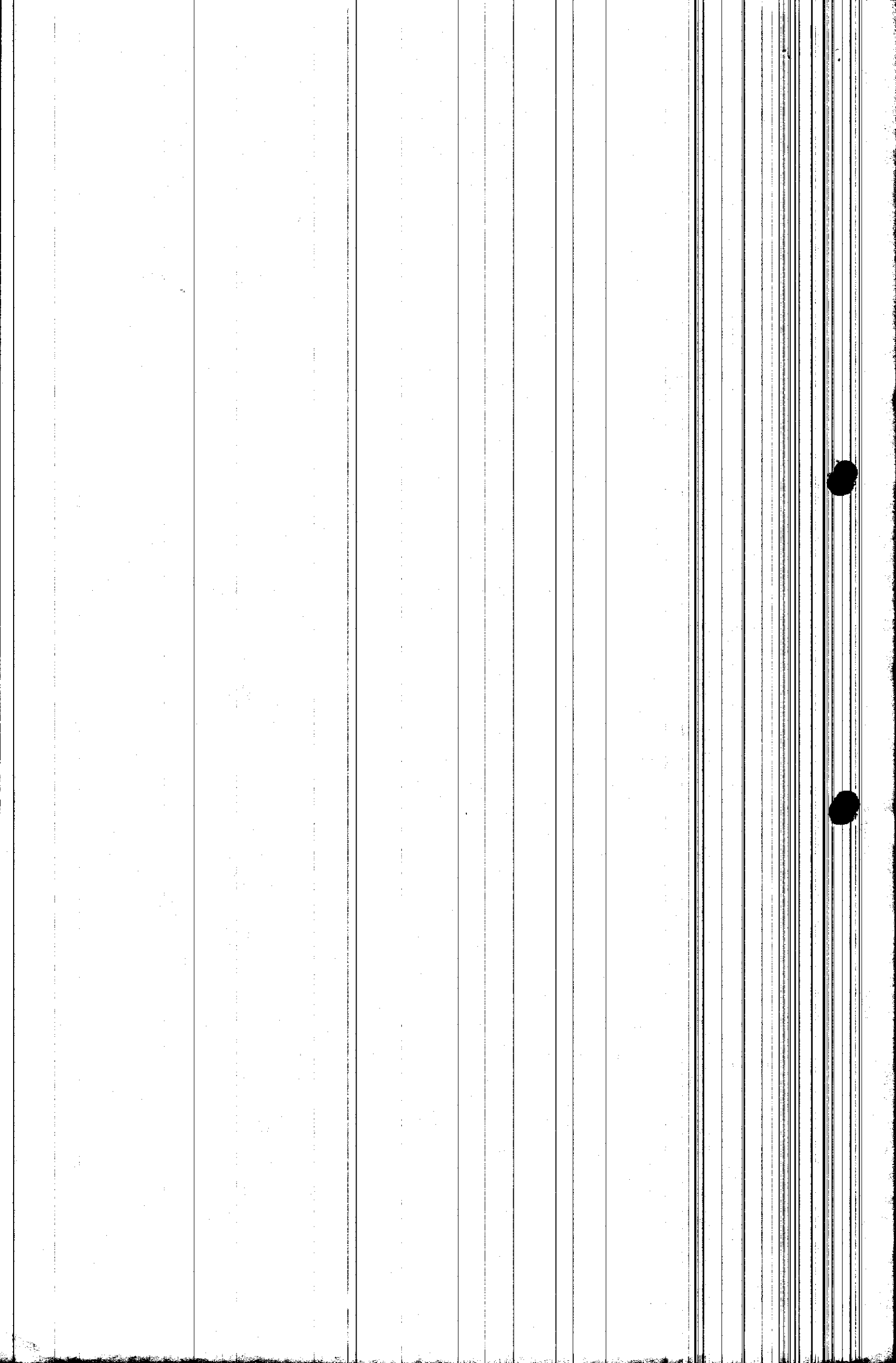
17. Adyuvante vacunal según reivindicación 14 y 15, caracterizado porque los patrones moleculares asociados a patógenos son seleccionados del grupo consistente en lipopolisacárido, peptidoglicano, lipoproteína, ácido teicoico, flagelina y lipofosfoglicano. =RV 4.

18. Adyuvante vacunal según la reivindicación 14, caracterizado porque dicha bacteria sea Gram negativa o Gram positiva. =RV 5

19. Adyuvante vacunal según reivindicación 18, caracterizado porque dicha bacteria Gram negativa es de los géneros *Neisseria*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Pseudomonas* o *Shigella*. =RV 6

20. Adyuvante vacunal según la reivindicación 17, caracterizado porque dicha bacteria Gram positiva es de los géneros *Streptococcus* o *Staphylococcus*. =RV 7

21. Adyuvante vacunal según reivindicación 14, caracterizado porque el protozoo sea del género *Leishmania*. =RV 8



22. Adyuvante según reivindicación 14, caracterizado porque las estructuras =RV 9, cocleares provienen de una célula tumoral.

23. Composición vacunal caracterizada porque comprende: *Vesículas memb. ya conocidas.*

- vesículas de membrana externa obtenidas a partir de bacterias, protozoos, virus o células animales y que contienen patrones moleculares asociados a patógenos,
- opcionalmente uno o más antígenos, y;
- un excipiente adecuado.

24. Composición vacunal según la reivindicación 23 caracterizado porque puede contener opcionalmente otros patrones moleculares asociados a patógenos.

25. Composición vacunal según la reivindicación 23 y 24, caracterizada porque los patrones moleculares asociados a patógenos se encuentran o son adicionados entre el 1% y el 7% del peso de proteico de la estructura.

26. Composición vacunal según reivindicación 23 y 24, caracterizada porque los patrones moleculares asociados a patógenos son seleccionados del grupo consistente en lipopolisacárido, peptidoglicano, lipoproteína, ácido teicoico, flagelina y lipofosfoglicano.

27. Composición vacunal según la reivindicación 23, caracterizada porque dicha bacteria puede ser Gram negativa o Gram positiva.

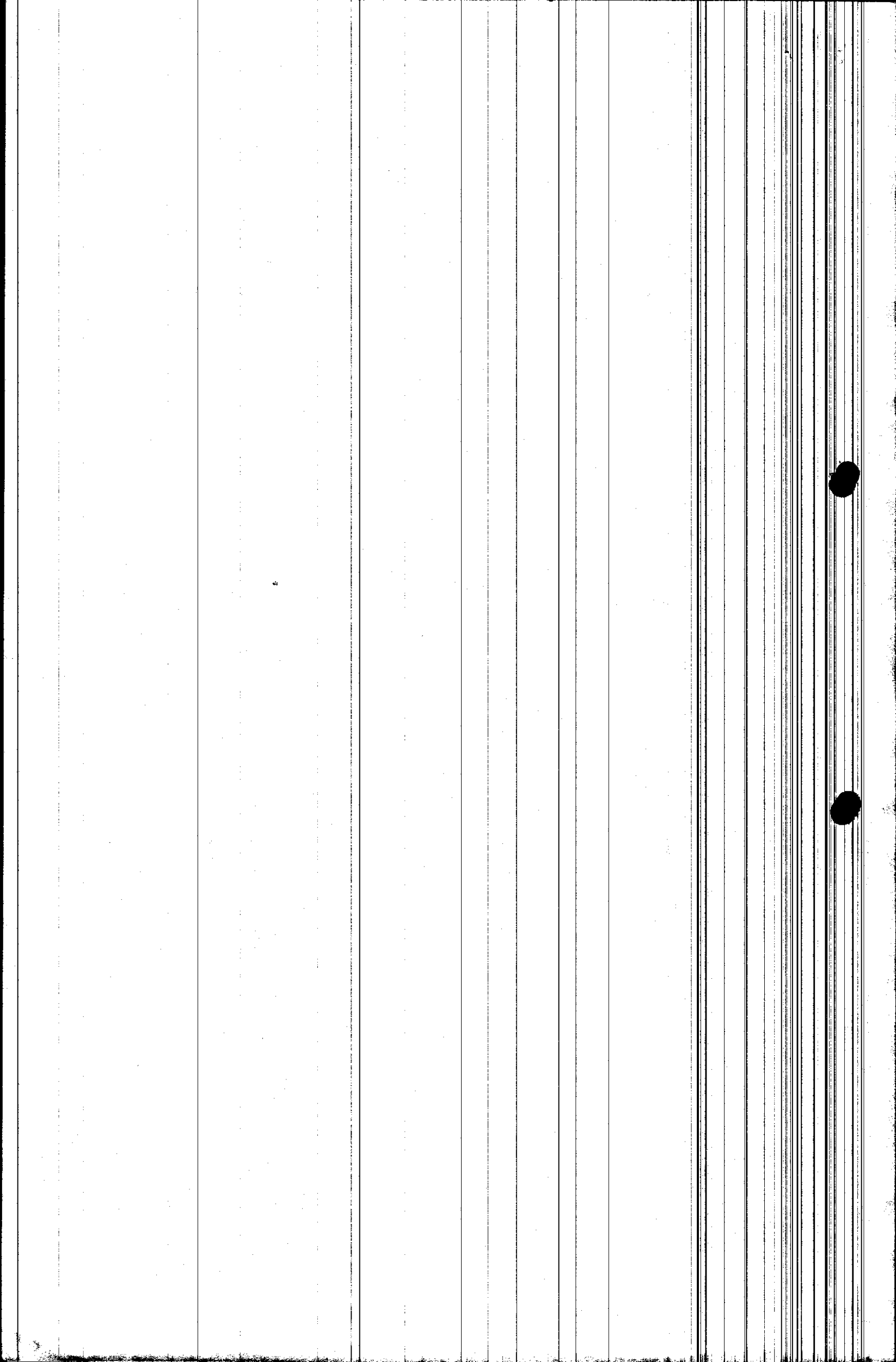
28. Composición vacunal según reivindicación 27, caracterizada porque dicha bacteria Gram negativa es de los géneros *Neisseria*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Pseudomona* o *Shigella*.

29. Composición vacunal según la reivindicación 27, caracterizada porque dicha bacteria Gram positiva es de los géneros *Streptococcus* o *Staphylococcus*.

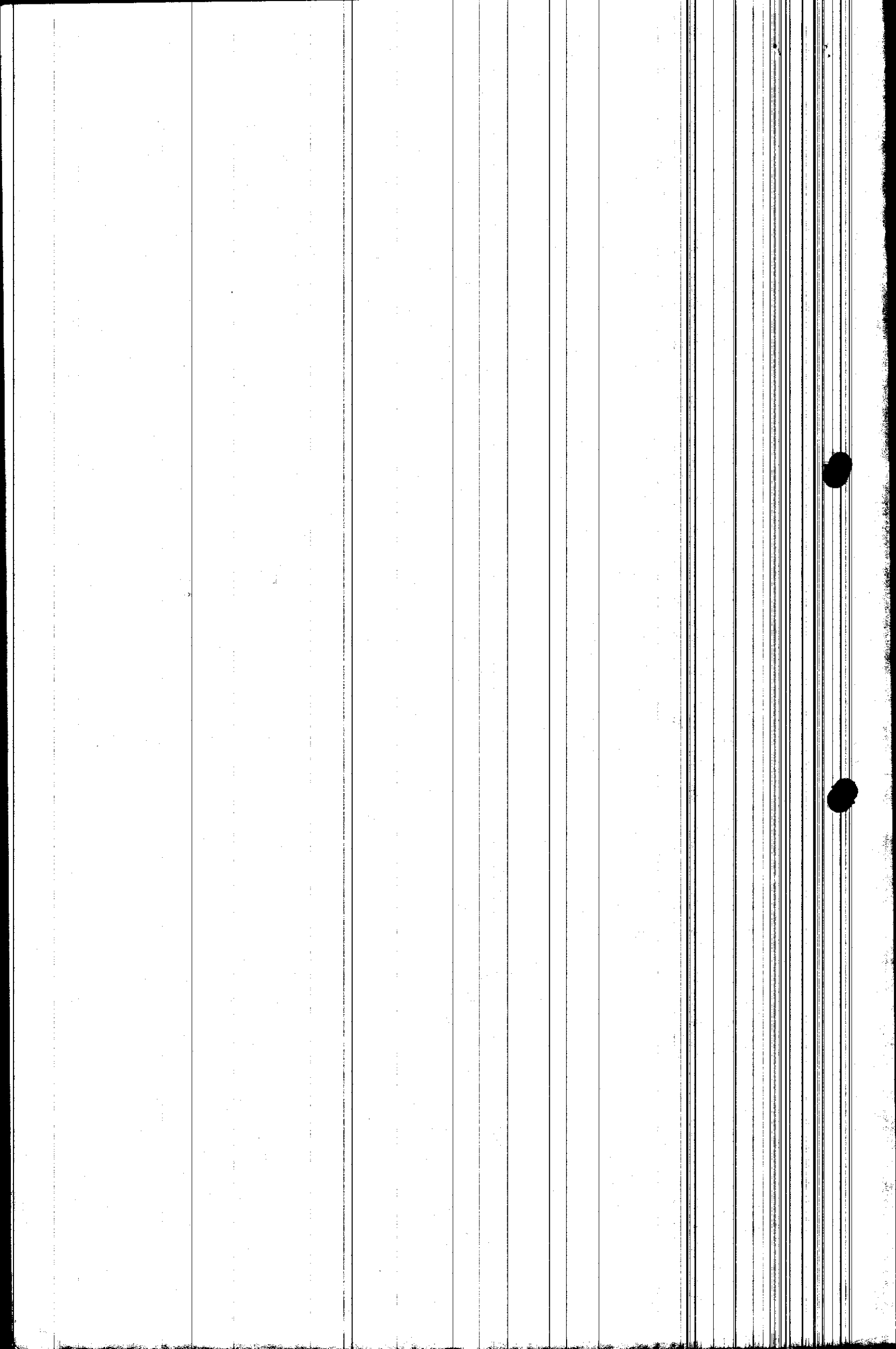
30. Composición vacunal según reivindicación 23, caracterizada porque el protozoo es del género *Leishmania*.

31. Composición vacunal según la reivindicación 23, caracterizado porque las vesículas de membrana externa provienen de una célula tumoral.

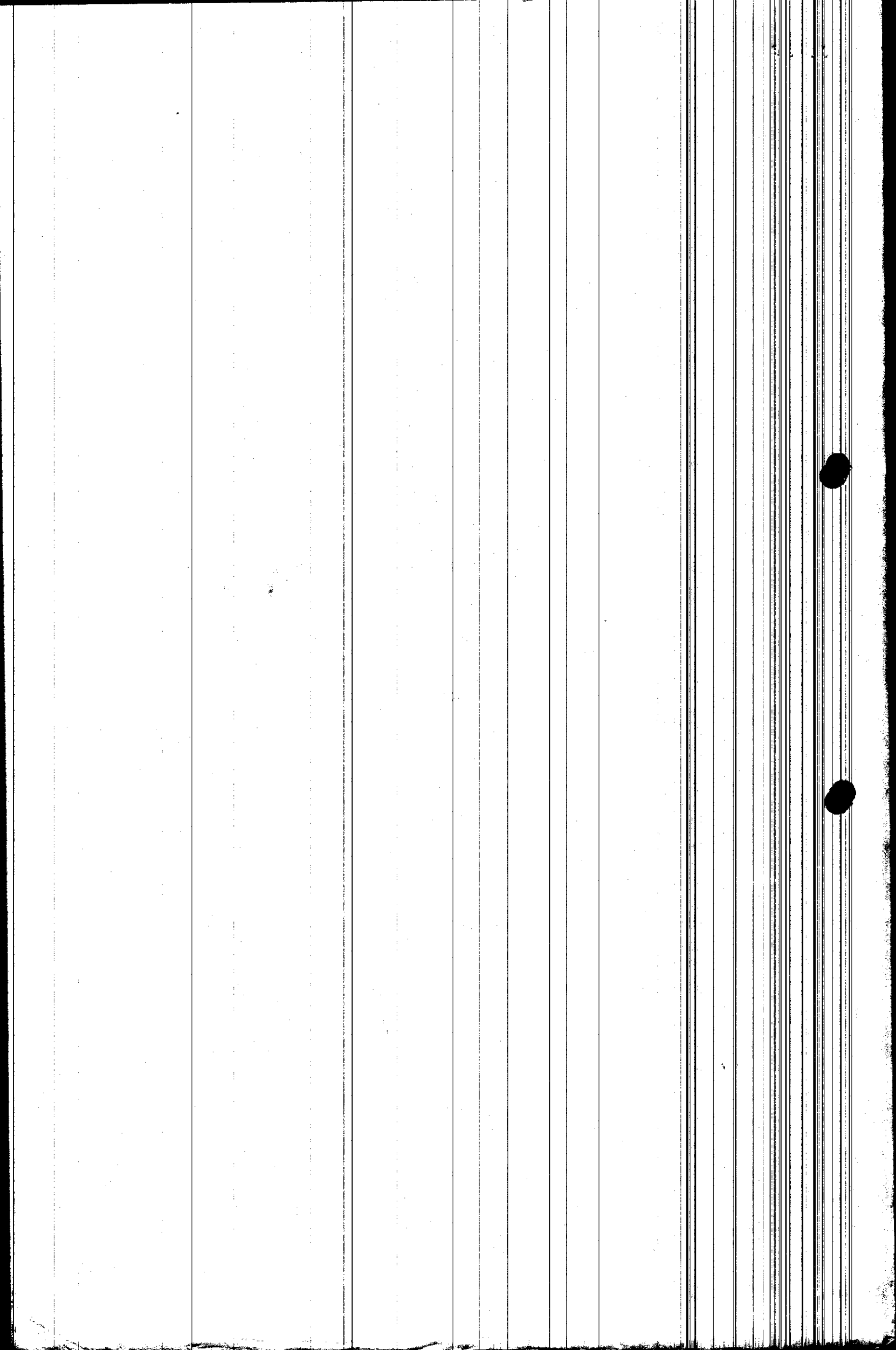
32. Adyuvante vacunal caracterizado porque comprende: *Adyuvante preparado de vesículas memb.*



- vesículas de membrana externa obtenidas a partir de bacterias, protozoos, virus o células animales y que contienen patrones moleculares asociados a patógenos.
33. Adyuvante vacunal según la reivindicación 32, caracterizada porque puede contener opcionalmente otros patrones moleculares asociados a patógenos.
 34. Adyuvante vacunal según la reivindicación 32 y 33, caracterizada porque los patrones moleculares asociados a patógenos se encuentran o son adicionados entre el 1% y el 7% del peso de proteico de la estructura.
 35. Adyuvante vacunal según reivindicación 32 y 33, caracterizada porque los patrones moleculares asociados a patógenos son seleccionados del grupo consistente en lipopolisacárido, peptidoglicano, lipoproteína, ácido teicoico, flagelina y lipofosfoglicano.
 36. Adyuvante vacunal según la reivindicación 32, caracterizada porque dicha bacteria sea Gram negativa o Gram positiva.
 37. Adyuvante vacunal según reivindicación 36, caracterizada porque dicha bacteria Gram negativa sea de los géneros *Neisseria*, *Haemophilus*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Pseudomona* o *Shigella*.
 38. Adyuvante vacunal según la reivindicación 36, caracterizada porque dicha bacteria Gram positiva sea de los géneros *Streptococcus* o *Staphylococcus*.
 39. Adyuvante vacunal según reivindicación 32, caracterizada porque el protozoo es del género *Leishmania*.
 40. Adyuvante según reivindicación 32, caracterizado porque las vesículas de membrana externa provienen de una célula tumoral.
 - ④1. Método para la obtención de estructuras cocleares a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos caracterizado porque comprende los siguientes pasos:
 - a. preparación, a partir de las vesículas de membrana externa naturales, de una solución a una concentración de proteínas totales entre 3 y 6 mg/mL, a la que se le añade un detergente no iónico hasta alcanzar una relación de 10 veces la concentración de proteínas.



- b. de desear incorporar otros antígenos de interés o patrones moleculares asociados a patógenos estos se añaden a la solución preparada en a) homogenizando la misma a razón de 0,2-2,7 μg por cada 3-9 μg de proteína para los antígenos y de 1 a 30% la concentración proteica para los patrones.
 - c. posteriormente, la solución de los pasos a) ó b) se filtra a través de una membrana con tamaño de poro de 0.2 μm para esterilizarla y eliminar los agregados de vesículas de membrana externa no disueltos.
 - d. posteriormente, se realiza una diálisis rotacional o filtración tangencial contra una solución que contiene concentraciones de un ión multivalente, particularmente, Ca^{2+} , Zn^{2+} o Mg^{2+} , entre 2,5 y 6,5 mM en condiciones tamponadas de $\text{pH } 7,4 \pm 0,2$.
 - e. finalmente, a las estructuras cocleares obtenidas se les realiza un tratamiento mecánico, particularmente, sonicación en baño de agua temperada a una temperatura entre 15 °C y 25°C durante 45 min., para homogeneizar el tamaño de las partículas.
42. Composición vacunal según reivindicaciones de la 1 a la 13, caracterizada porque es aplicada por vía mucosal, parenteral o combinación de las mismas. *Método de aplicación.*
43. Composición vacunal de las reivindicaciones de la 23 a la 31, caracterizada porque es aplicada por vía mucosal, parenteral o combinación de las mismas. *Método aplicación.*
44. Adyuvante de las reivindicaciones de la 14 a la 22, caracterizado porque es aplicado por vía mucosal, parenteral o combinación de las mismas. *Método de*
45. Adyuvante de las reivindicaciones de la 32 a la 40 caracterizado, porque es aplicado por vía mucosal, parenteral o combinación de las mismas. *Met de*





US005643574A

United States Patent [19]

Gould-Fogerite et al.

[11] **Patent Number:** 5,643,574[45] **Date of Patent:** Jul. 1, 1997[54] **PROTEIN- OR PEPTIDE-COCHLEATE VACCINES AND METHODS OF IMMUNIZING USING THE SAME**[75] **Inventors:** Susan Gould-Fogerite; Raphael James Mannino, both of Annandale, N.J.[73] **Assignees:** Albany Medical College, Albany, N.Y.; University of Medicine & Dentistry of New Jersey, Newark, N.J.[21] **Appl. No.:** 130,986[22] **Filed:** Oct. 4, 1993[51] **Int. Cl.⁶** A61K 39/00; A61K 51/00; A61K 38/16; B01J 13/02[52] **U.S. Cl.** 424/184.1; 424/121; 264/46; 514/8[58] **Field of Search** 424/88, 89, 92, 424/184.1, 1.21; 264/4.6; 514/8[56] **References Cited****U.S. PATENT DOCUMENTS**

4,078,052 3/1978 Papahadjopoulos 424/36
 4,663,161 5/1987 Mannino et al. .
 4,871,488 10/1989 Mannino et al. .

OTHER PUBLICATIONS

Miller et al, Vaccination of Rhesus Monkeys with Synthetic Peptide in a Fusogenic Proteoliposome Elicits Simian Immunodeficiency Virus-Specific CD8+ Cytotoxic T Lymphocytes, *J. Exp. Med.*, vol. 176, pp. 1739-1744, 1992.

R. J. Mannino and S. Gould-Fogerite, Liposome Mediated Gene Transfer, *BioTechniques*, vol. 6, No. 7, pp. 682-690, 1988.

Gould-Fogerite et al, Chimerasome-mediated gene transfer in vitro and in vivo, *Gene*, vol. 84, pp. 429-438, 1989.

S. Gould-Fogerite and R.J. Mannino, Rotary Dialysis: Its Application to the Preparation of Large-Liposomes and Large Proteoliposomes (Protein-Lipid Vesicles) with High Encapsulation Efficiency and Efficient Reconstitution of Membrane Proteins, *Analytical Biochemistry*, vol. 148, pp. 15-25, 1985.

Gould-Fogerite et al, The Reconstitution of Biologically Active Glycoproteins into Large Liposomes: Use as a Delivery Vehicle to Animal Cells, *Advances in Membrane Biochemistry and Bioenergetics*, pp. 569-586, 1988.

S. Gould-Fogerite and R.J. Mannino, Liposome Preparation and Related Techniques, *Liposome Technology 2nd Edition*, vol. I, pp. 67-80.

S. Gould-Fogerite and R.J. Mannino, Entrapment of Drugs and Other Materials, *Liposome Technology 2nd Edition*, vol. II, pp. 167-184.

S. Gould-Fogerite and R.J. Mannino, Interactions of Liposomes with the Biological Milieu, *Liposome Technology 2nd Edition*, vol. III, pp. 261-276.

G. Goodman-Snitkoff et al, Defining Minimal Requirements for Antibody Production to Peptide Antigens, *Vaccine*, vol. 8, pp. 257-262, 1990.

G. Goodman-Snitkoff et al, Role of Intrastuctural/Intermolecular Help in Immunization with Peptide-Phospholipid Complexes, *The Journal of Immunology*, vol. 147, No. 2, pp. 410-415, 1991.

D. Papahadjopoulos et al, *Biochem. Biophys. Acta*, vol. 394, p. 483, 1975.

Liposome Technology, Second Edition, vol. 1, G. Gregoriadis, Ph.D., "Liposome Preparation and Related Techniques", published 1993 by CRC Press, Inc., (Boca Raton), pp. 67-80.

J. Exp. Med., vol. 176, issued Dec. 1992, M.D. Miller et al, "Vaccination of Rhesus Monkeys with Synthetic Peptide in a Fusogenic Proteoliposome Elicits Simian Immunodeficiency Virus-specific CD8+ Cytotoxic T Lymphocytes", pp. 1739-1744.

Nature, vol. 342, issued 30 Nov. 1989, K. Deres et al, "In vivo Priming of Virus-specific Cytotoxic T lymphocytes with Synthetic Lipopeptide Vaccine", pp. 561-564.

Biochimica et Biophysica Acta, vol. 394, issued 1975, D. Papahadjopoulos et al, "Cocholeate Lipid Cylinders: Formation By Fusion of Unilamellar Lipid Vesicles", pp. 483-491.

C. H. Kim et al, "Advances in Membrane Biochemistry and Bioenergetics" published 1988 by Plenum Publishing Corporation, pp. 569-586.

Primary Examiner—James C. Housel

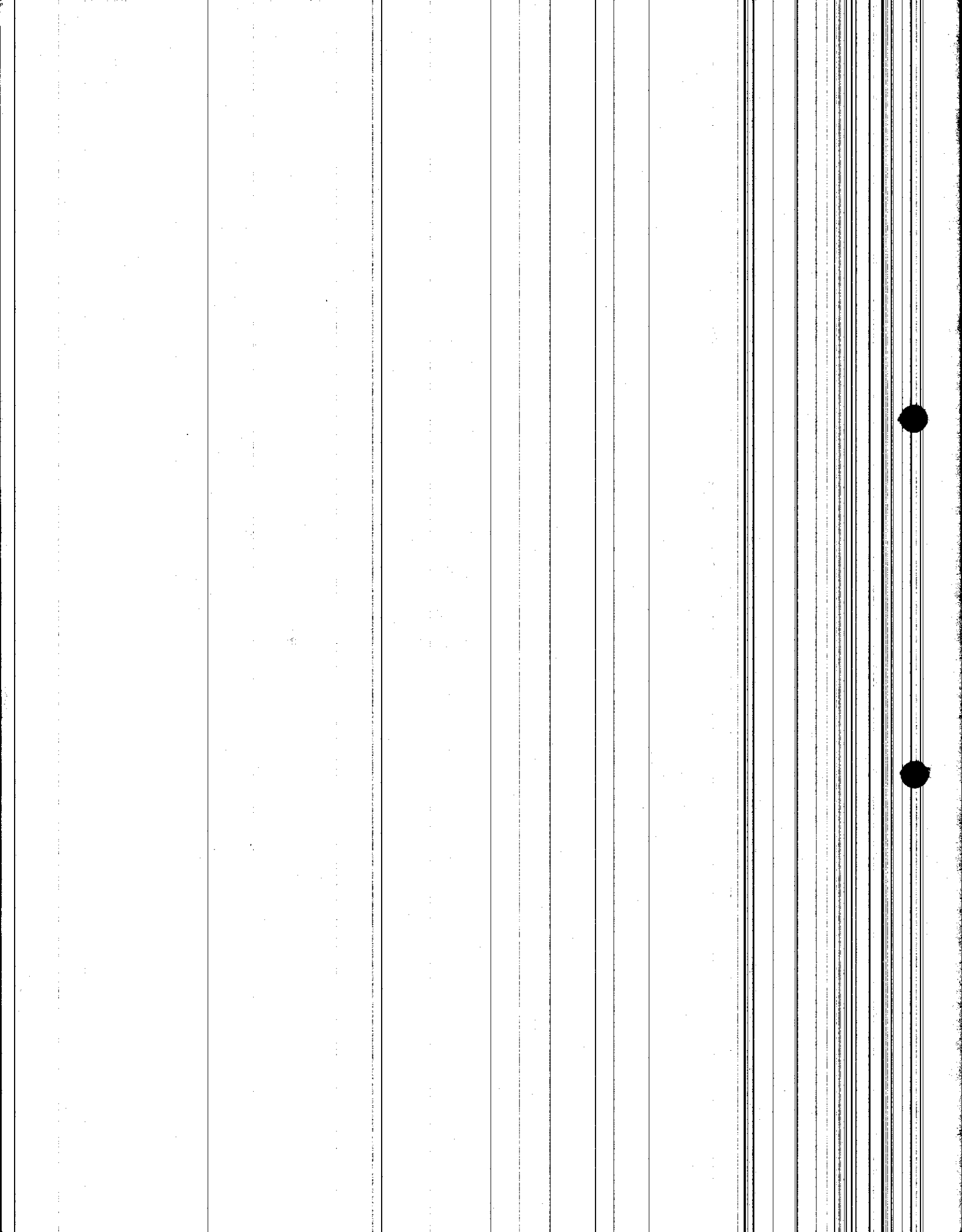
Assistant Examiner—N. M. Minnifield

Attorney, Agent, or Firm—Sughrue, Mion, Zinn, Macpeak & Seas

[57] **ABSTRACT**

A method is described of immunizing a host by administering a biologically effective amount of a protein- or peptide-cochleate comprising at least a protein or peptide to which an immune response is elicited, a negatively charged lipid, and a divalent cation.

26 Claims, 25 Drawing Sheets



5,643,574

1

PROTEIN- OR PEPTIDE-COCHLEATE VACCINES AND METHODS OF IMMUNIZING USING THE SAME

Portions of the subject matter disclosed herein were supported in part by monies or grants from the United States Government.

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates to protein- or peptide-cochleate vaccines and methods of immunizing using protein- or peptide-cochleate structures. These unique vaccines are composed of insoluble antigen-lipid-divalent cation structures which can be administered orally as well as by conventional routes and which generate mucosal as well as circulating immune responses. Protective immunity against live pathogen challenge on a mucosal surface is demonstrated.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Plain lipid cochleates (FIG. 1) have been described previously. Protein- or peptide-cochleates have been described heretofore and patented by the present inventors, as intermediate structures which can be converted to protein-lipid vesicles (proteoliposomes) (FIG. 2) by the addition of calcium chelating agents (see U.S. Pat. No. 4,663,161 and U.S. Pat. No. 4,871,488, the disclosures of which are expressly incorporated herein by reference). The structure of a protein- or peptide-cochleate is thought to be similar, perhaps with protrusions or bulges around the protein or peptide moieties. Indeed, a freeze-fracture electron micrograph of cochleates containing Sendai glycoproteins made by the DC method shows the rolled up lipid bilayer structures with a "bumpy" surface (FIG. 3). Plain phospholipid cochleates are smooth in this type of preparation. These proteoliposomes resulting from protein- or peptide-cochleates have been shown to be effective immunogens when administered to animals by intraperitoneal and intramuscular routes of immunization (G. Goodman-Snitkoff, et al., *J. Immunol.*, Vol. 147, p.410 (1991); M. D. Miller, et al., *J. Exp. Med.*, Vol. 176, p. 1739 (1992)). Further, when the glycoproteins of Sendai or influenza viruses are reconstituted by this method, these proteoliposomes are effective delivery vehicles for proteins and DNA to animals and to cells in culture (R. J. Mannino and S. Gould-Fogerite, *Biotechniques*, Vol. 6, No. 1, pp. 682-690 (1988); S. Gould-Fogerite et al., *Gene*, Vol. 84, p. 429 (1989); M. D. Miller, et al., *J. Exp. Med.*, Vol. 176, p. 1739 (1992)). Nonetheless, it would be advantageous to provide additional configurations for synthetic vaccines. It would also be advantageous to provide synthetic vaccines in a form that is stable at room temperature and that is suitable for oral administration. As a result of investigations in this area, the present invention was made.

SUMMARY OF THE INVENTION

Accordingly, it is an object of this invention to provide vaccines and a method of immunizing, wherein the vaccine is composed of an insoluble antigen-lipid-divalent cation structure which, following administration, including oral, i.e., peroral, administration, can induce mucosal and circulating, humoral and cell mediated immune responses.

These and other objects have been obtained by providing a vaccine comprising an immunologically effective amount of a protein- or peptide-cochleate, wherein said protein- or peptide-cochleate comprises the following components:

- a) a protein or peptide component to which an immune response can be elicited,

2

- b) a negatively charged lipid component, and

- c) a divalent cation component.

The present invention also provides a method of immunizing comprising administering to a host a biologically effective amount of the above-described protein- or peptide-cochleate.

In a preferred embodiment, the vaccine is administered orally.

The advantages of immunizing with cochleates are numerous. The cochleates have a non-aqueous structure and therefore they:

- (a) are more stable because of less oxidation of lipids;
- (b) can be stored lyophilized which provides the potential to be stored for long periods of time at room temperatures, which would be advantageous for worldwide shipping and storage prior to administration;
- (c) maintain their structure even after lyophilization, whereas liposome structures are destroyed by lyophilization;
- (d) exhibit efficient incorporation of antigens with hydrophobic moieties into the lipid bilayer of the cochleate structure;
- (e) have the potential for slow release of antigen in vivo as cochleates slowly unwind or otherwise dissociate;
- (f) have a lipid bilayer matrix which serves as a carrier and is composed of simple lipids which are found in animal and plant cell membranes, so that the lipids are non-toxic, non-immunogenic and non-inflammatory;
- (g) contain high concentration of calcium, an essential mineral;
- (h) are safer than live vaccines, since the cochleates are non-living subunit formulations, and as a result the cochleates have none of the risks associated with use of live vaccines, such as life threatening infections in immunocompromised individuals or reversion to wild type infectivity which poses a danger to even healthy people;
- (i) are produced easily and safely; and
- (j) can be produced as defined formulations composed of predetermined amounts and ratios of antigens, including proteins, peptides, carbohydrates, and nucleic acids.

The advantages of oral vaccination are also numerous. An oral route has been chosen by the WHO Children's Vaccine Initiative because of ease of administration and opportunity to prime the mucosal immune system. Oral vaccines are less expensive and much safer to administer than parenterally (intramuscular or subcutaneous) administered vaccines. The use of needles adds to the cost, and also, unfortunately, in the field, needles are often reused. This can lead to spread of disease between vaccinated individuals and could be potentially disastrous in areas where there is a high incidence of infection with human immunodeficiency virus (HIV) which causes AIDS. Further, oral, nasal, ocular and vaginal mucous membranes are the primary routes of entry for a large number and wide variety of human disease-causing agents. Intramuscular or subcutaneous administration of vaccines often does not lead to significant protection against these infectious agents. In contrast, the oral route of delivery can stimulate strong protective responses on mucous membranes and in the circulation.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 is a schematic representation of a plain lipid cochleate.

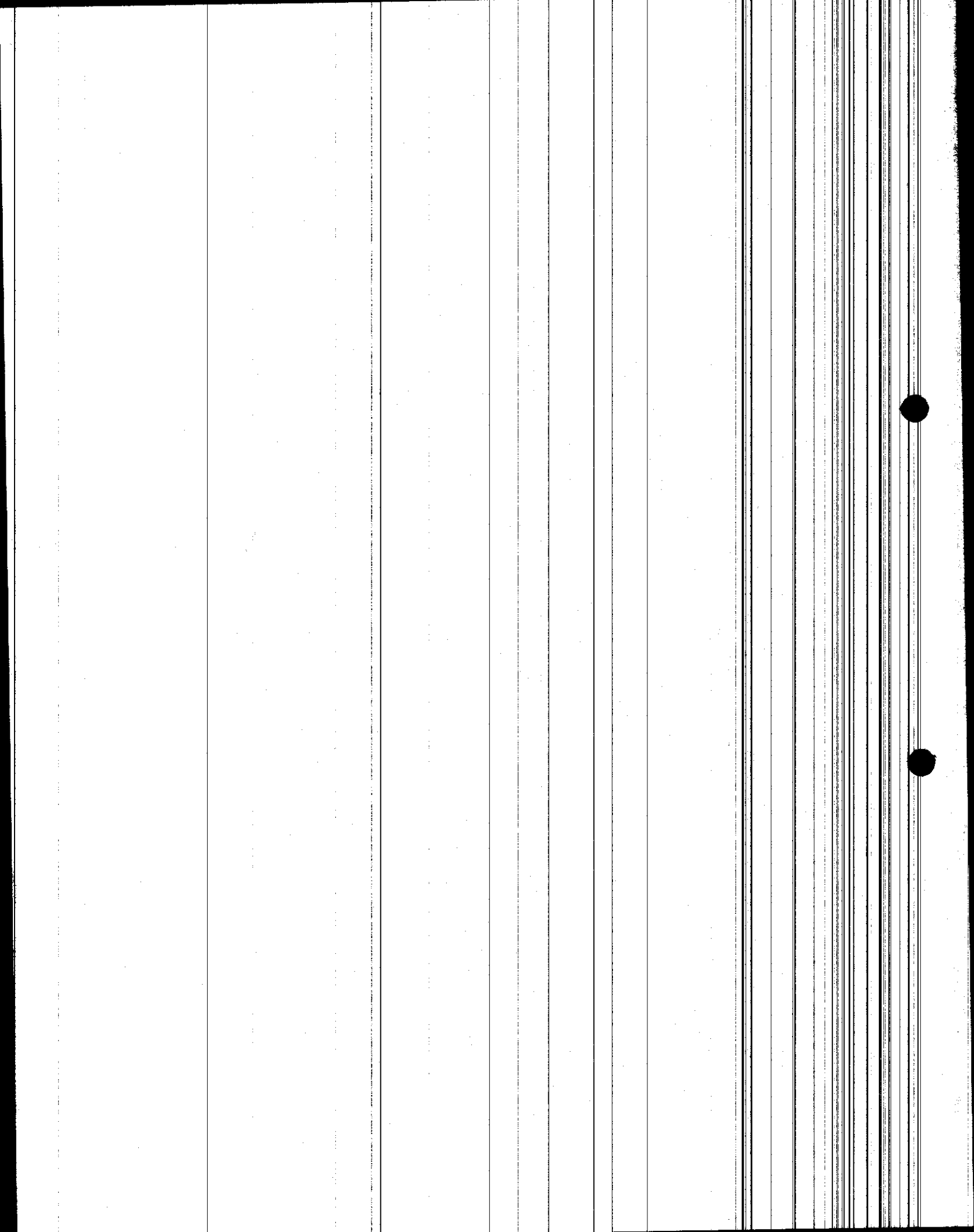
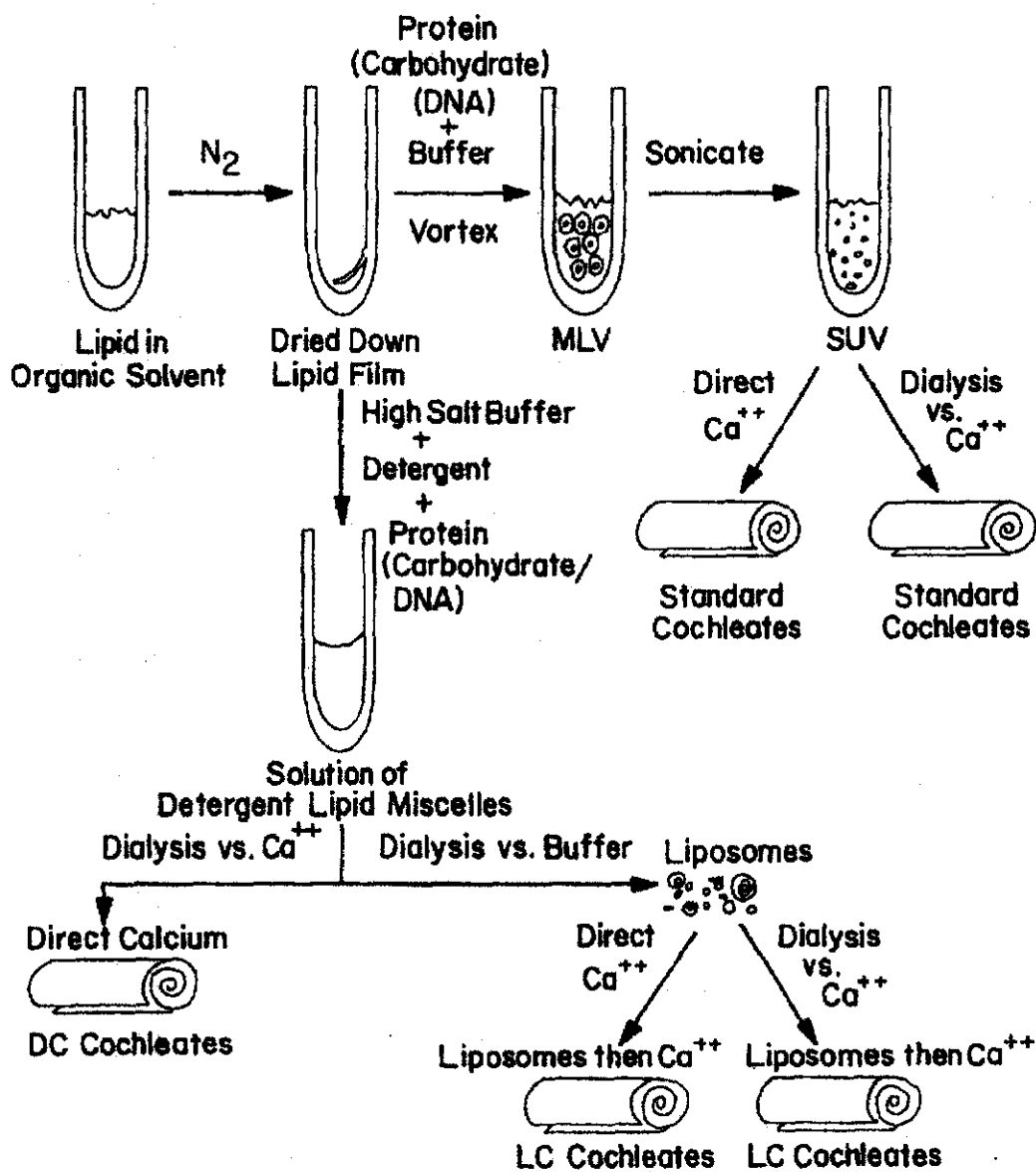
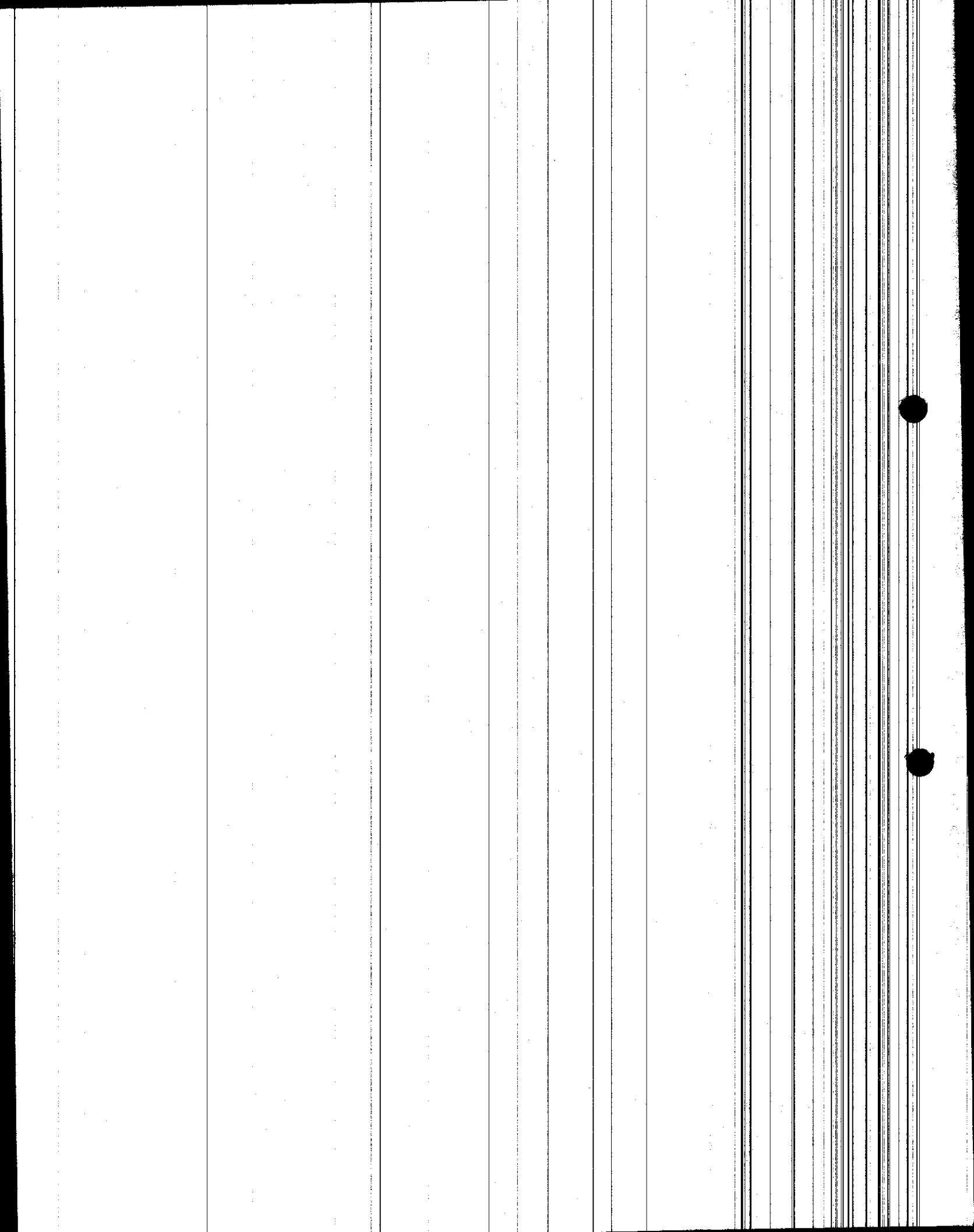


FIG. 4





SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

Abogado
Margarita Castellanos Abondano

ASUNTO	Radicación	05-51950
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio	07 0 7 6 5 3
	Folios	07

Patente de Invención	☒	Patente de Modelo de Utilidad	☐
Vía Nacional	☐		
Vía PCT (fase nacional)	☒	Cap. I	☐
		Cap. II	☒
No. Sol. Internacional	PCT/CU2003/000016		
Fecha de Presentación Internal.	27/11/2003		

Como resultado del examen de fondo, realizado con fundamento en el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica:

1. Documentos estudiados

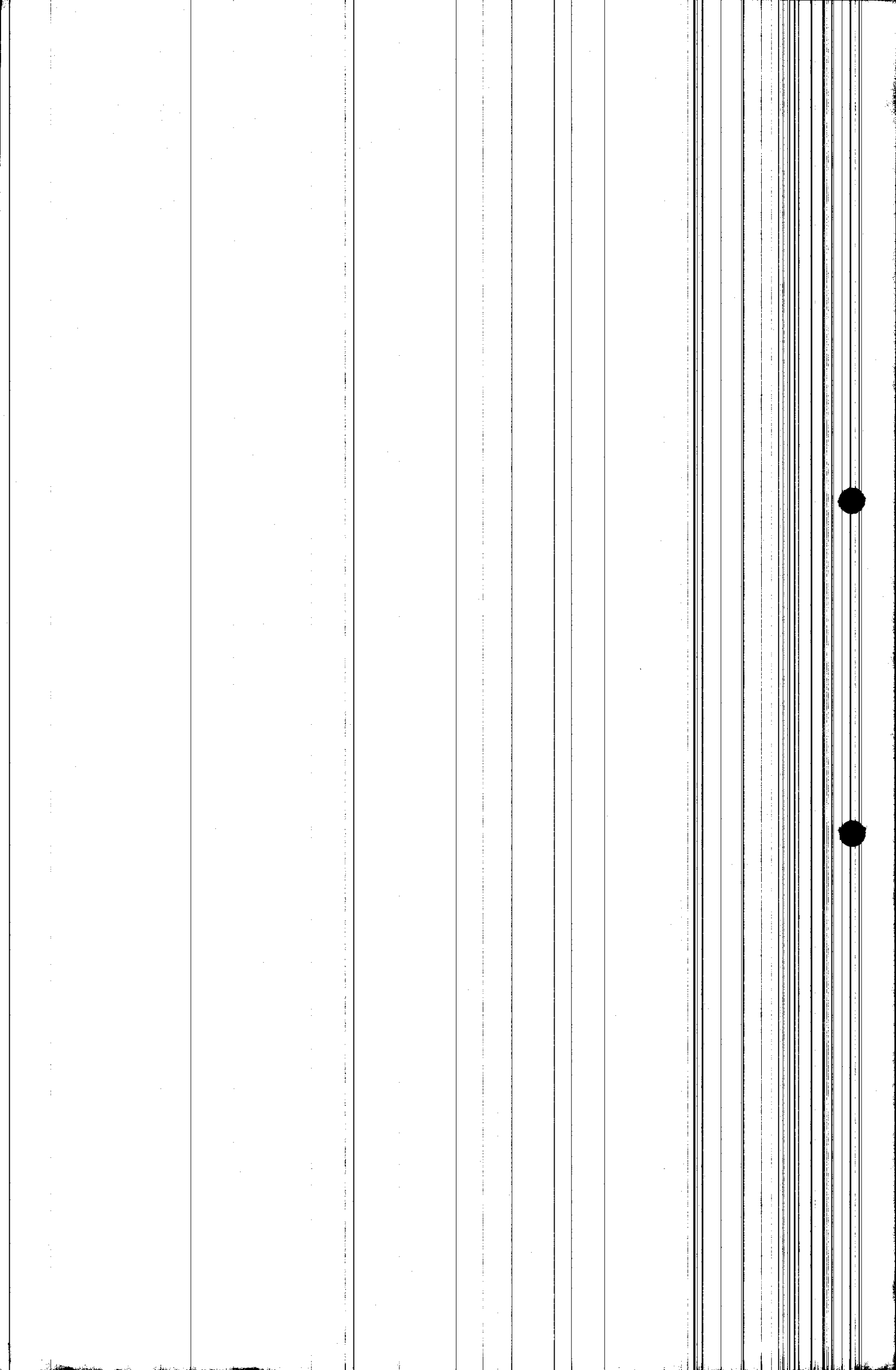
<u>Descripción:</u>	Folios: 75 a 103 como se radicó inicialmente.
<u>Reivindicaciones:</u>	Folios: 104 a 110 como se radicó inicialmente. Folios: 174 a 178 modificadas el 11/06/2008
<u>Figuras:</u>	Folios: 112 a 140 como se radicó inicialmente.
<u>Prioridad:</u>	27/11/200, Cuba, CU2002-0292.

2. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Método de obtención de estructuras cocleares, composiciones vacunales y adyuvantes basados en estructuras cocleares y sus intermediarios".

El objeto de la presente solicitud de patente de invención consiste en la obtención de estructuras cocleares a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos con el fin de emplearlas como adyuvantes o vacunas en sí.

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad permanente de vacunas multiantigénicas eficientes y adyuvantes funcionales para las mismas.



Para solucionar este problema técnico la solicitud en estudio proporciona una estructura coclear a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos, que presenta propiedades vacunales y adyuvantes debido a su estructura lipídica y proteica.

El objeto de la solicitud definida anteriormente se clasificó en la IPC A61K 9/127.

3. De la solicitud de Patente (según el caso)

3.1. Reivindicaciones (artículo 30 D 486)

El capítulo reivindicatorio presentado aún carece de concisión y claridad, se mantienen algunas de las objeciones mencionadas en el concepto técnico N° 715:

- 1) Se reclama materia más amplia que la divulgada en la descripción; con los ejemplos presentados no puede sustentarse una generalidad como la pretendida y mucho menos se pueden extrapolar los datos presentados a cualquier composición antigénica que contenga una estructura coclear o una vesícula proveniente de una membrana biológica, que por demás es un concepto conocido;
- 2) Se caracterizan las composiciones y adyuvantes por su forma de administración, lo que tampoco se considera como una característica propia de las mismas (cláusulas 42-45);

De esta manera, el capítulo reivindicatorio presentado no cumple con los requisitos establecidos en el art. 30 de la Decisión 486.

4. Unidad de invención (artículo 25 D 486)

A partir del capítulo reivindicatorio actual no es posible reconocer un concepto común inventivo que integre toda la materia reclamada.

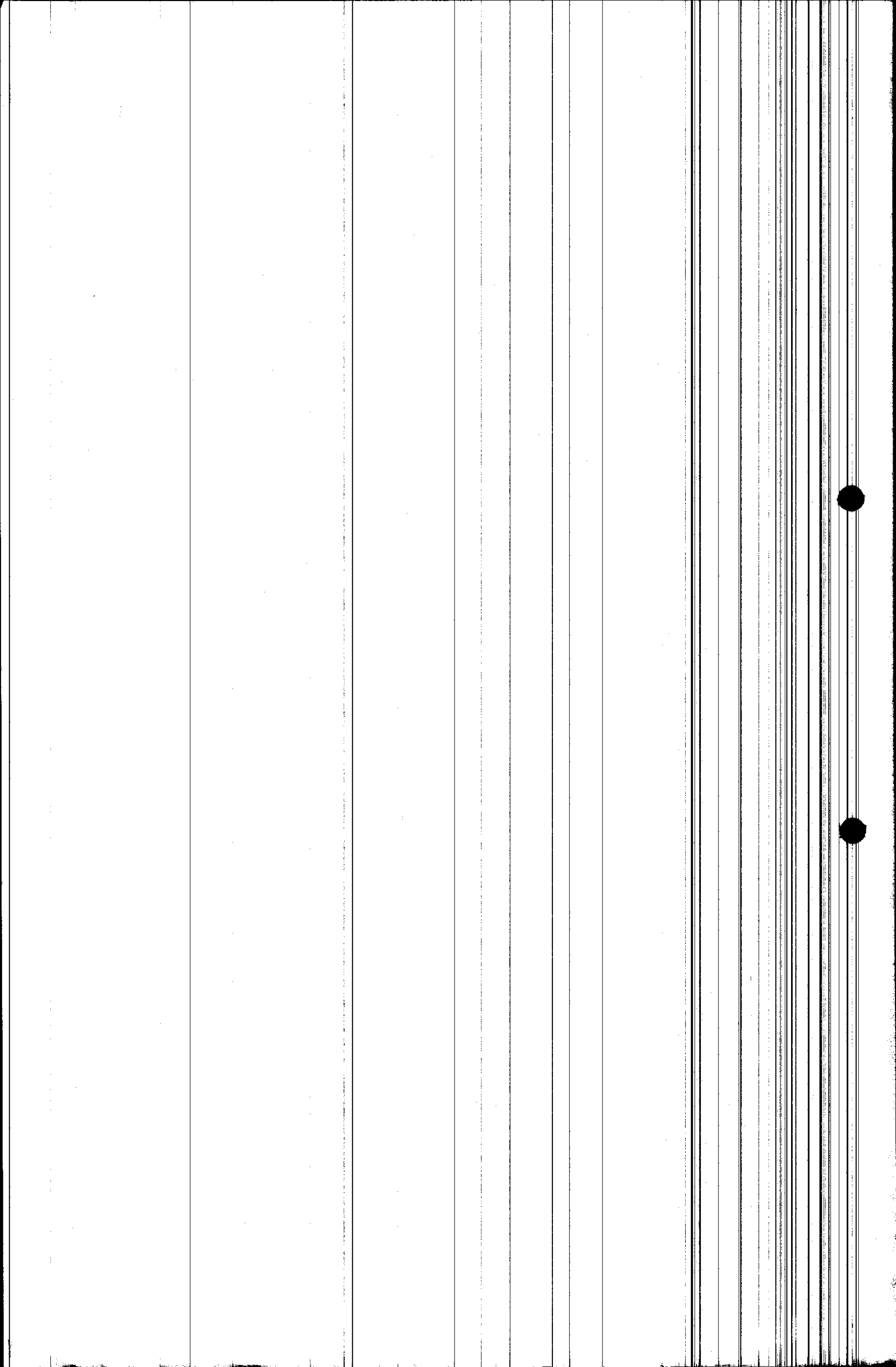
Se identificaron varios grupos inventivos relacionados con materia diferente y cuya única relación parece ser el hecho que tanto las composiciones vacunales como los adyuvantes son preparados a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos. Sin embargo, esta característica carece de novedad, puesto que en el estado de la técnica ya se conocen las composiciones vacunales preparadas a partir de vesículas de membrana externa, por ejemplo en los documentos: US 6180111; Perez O, *et.al.*, 2001, *Infection and Immunity*, vol 69: 4502-4508; y otros.

Con lo anterior, se tiene que la materia contenida en el capítulo reivindicatorio carece de unidad de invención. Los grupos inventivos identificados son:

Grupo I. *Reivindicaciones 1-22*: Composición vacunal ó adyuvante caracterizado porque comprende estructuras cocleares proteolipídicas obtenidas a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos.

Grupo II. *Reivindicación 23-40*: Composición vacunal ó adyuvante caracterizado porque comprende vesículas de membrana externa obtenidas a partir de diferentes organismos vivos y un excipiente adecuado.

Grupo III. *Reivindicaciones 41*: Método para obtención de estructuras cocleares a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos, caracterizado porque comprende 5 etapas.



De acuerdo con lo anterior, el capítulo reivindicatorio en general no cumple con el requisito de unidad de invención establecido en el art. 25 de la Decisión 486.

5. Excepción a la patentabilidad (artículo 20 D486 literal d))

Teniendo en cuenta que las reivindicaciones 42-45 reclaman formas de administración de las composiciones vacunales y/o adyuvantes que trata la solicitud, y que según la norma comunitaria los métodos de tratamiento están excluidos de patentabilidad, la materia reclamada en estas cláusulas podría no ser patentable.

De esta manera y de acuerdo a lo establecido en el artículo 20 de la Decisión 486 el contenido de las citadas reivindicaciones no sería admisible.

6. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha que se ha tenido en cuenta para determinar el Estado de la Técnica es:

Fecha de presentación de la solicitud prioritaria - 27/11/2002.

Teniendo en cuenta la fecha indicada se realizó la búsqueda en el estado de la técnica de documentos relacionados con **el primer grupo inventivo** de la solicitud encontrándose los siguientes documentos más relevantes:

Nº	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	US 5994318	"Cochleate delivery vehicles"	30/11/1999
D2	US 5643574	"Protein- or peptide- cochleate vaccines and methods of immunizing using the same"	01/07/1997

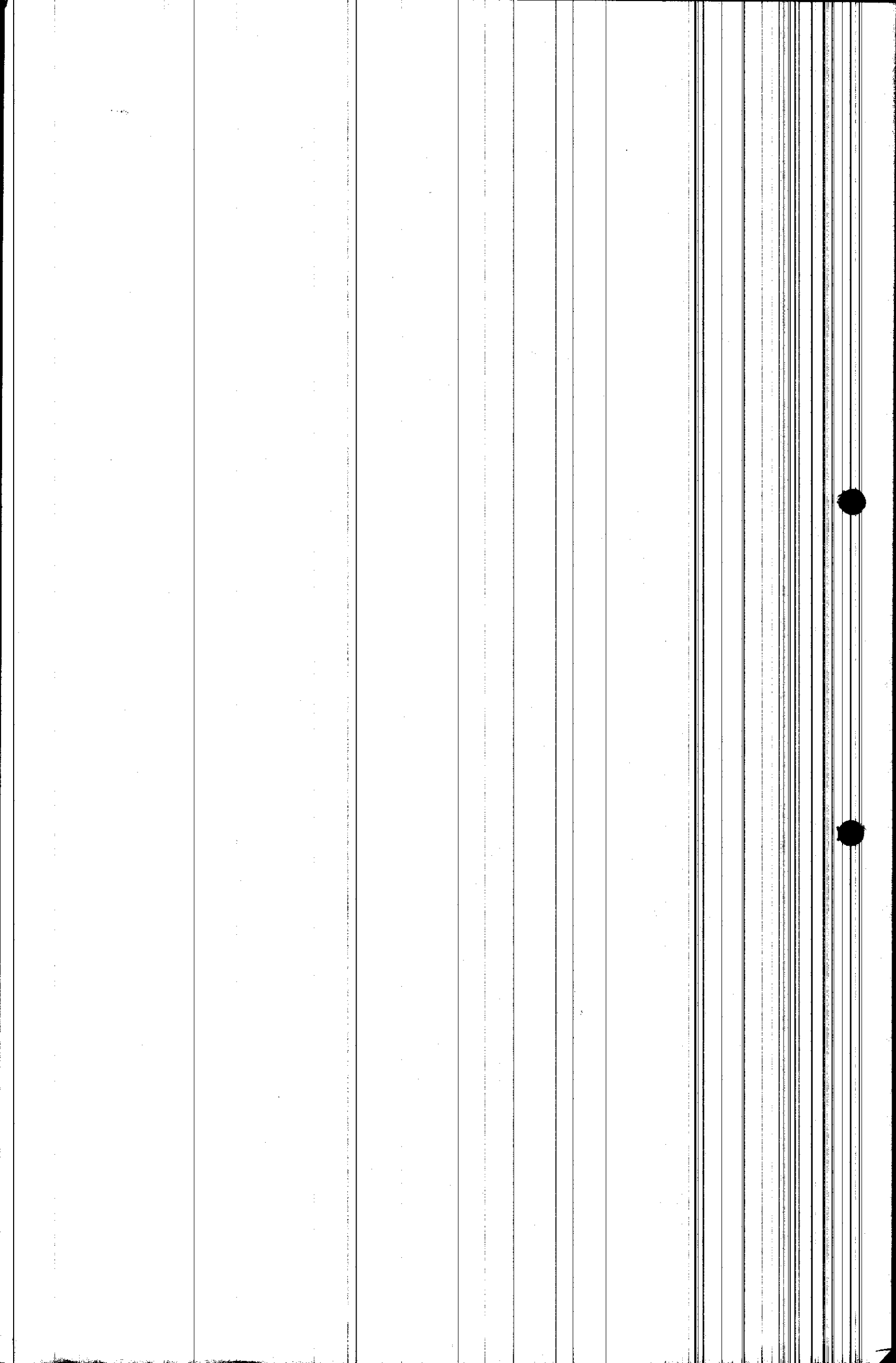
7. Análisis de patentabilidad (artículo 14 D486)

7.1. Nivel inventivo (artículo 18 D486)

La solicitud en estudio reclama una composición vacunal caracterizada porque comprende estructuras cocleares proteolípídicas obtenidas a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos y opcionalmente uno o más antígenos, así como un excipiente adecuado (cláusula 1). Igualmente se reclama un adyuvante caracterizado porque comprende estructuras cocleares proteolípídicas obtenidas a partir de vesículas de membrana externa de organismos vivos (cláusula 14).

Comparando la información anterior con el documento US5994318 (D1) es evidente que la materia contenida es muy similar, ya que este documento divulga composiciones de vacuna que contienen estructuras cocleares obtenidas a partir de membranas biológicas y otros antígenos, acompañados de excipientes (ver p.e. Columna 5: líneas 60-65; Ejemplo 1, 3, 11) o éstas como adyuvantes de todo tipo de preparaciones (ver Reivindicaciones). Igualmente, D1 divulga composiciones que contienen vesículas de membrana externa obtenidas a partir de organismos vivos y éstas como adyuvantes para todo tipo de moléculas biológicas (ver p.e. Columna 5: líneas 60-65 y Columna 7: líneas 20-35).

D1 también enseña el método de obtención de las mismas a partir de una solución de proteínas totales, adición de otros antígenos, homogenización, filtración, diálisis con iones multivalentes y finalmente sonicación dentro de los mismos rangos



propuestos por la solicitud en estudio y las mismas condiciones de realización (ver p.e. Columna 7: líneas 20-65; Columna 8: 8-20; Ejemplo 1).

La diferencia entre D1 y la solicitud en estudio se trata de la utilización que se le da a los cocleados puesto que D1 no menciona que se puedan utilizar para inducir una respuesta inmune determinada.

Sin embargo, esta respuesta ya había sido sugerida por el documento US5643574 (D2) , puesto que en este documento los cocleatos preparados de proteína o péptidos, que contienen al menos una proteína o péptido para el cual la respuesta inmune es activada, un lípido cargado negativamente y un catión divalente (ver resumen), son utilizados como medio de entrega de antígenos en preparaciones vacunales por vía oral y mucosal (ver campo de la invención). De igual forma, este documento también menciona el método de preparación de los cocleatos, donde las etapas de este método son iguales a las de la invención (ver figura 4).

En consecuencia el estado de la técnica ya había divulgado una composición y/o adyuvante y el método de obtención de la misma con todos los elementos técnicos esenciales reclamados por la solicitud en estudio; es decir, una composición y/o adyuvante compuesto por estructuras cocleares, era previamente conocidos y por lo tanto no puede concebirse como un concepto inventivo.

De acuerdo con lo anterior la composición y/o adyuvante reclamado no cumplen con el requisito de nivel inventivo establecido en el artículo 18 de la Decisión 486.

8. Conclusión:

Los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud se encuentran afectados así:

Nº	Documento Nº	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	US5994318	1-22, 41	Nivel inventivo
D2	US 5643574	1-22, 41	Nivel inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de 60 días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

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.

ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 10 JUL. 2009

CONCEPTO TÉCNICO No. 2063	EXAMINADOR TÉCNICO Código No.202052
-------------------------------------	---

