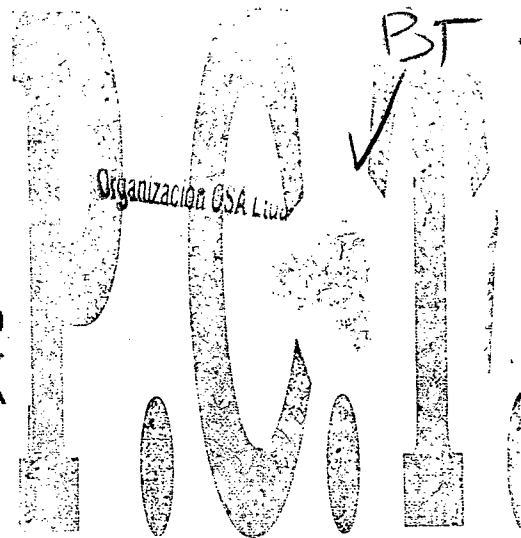




Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

DVN
OK

07-128783

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TITULO "VACUNA ANTI-MALARIA"

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL A61K39/015; A61K39/29

71. SOLICITANTE GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.

DOMICILIO RIXENSART, BELGICA

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

72. BOGOTA, D.C. 5 DIC 2007

(FORMA P 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-128783- -00000-0000

Fecha: 2007-12-05 16:04:03 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 103

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

30 de 2008

①

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**

Dirección: Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Bélgica.

Nacionalidad o Domicilio: Rixensart, Bélgica.

Lugar de Constitución: Bélgica

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5°, Bogotá, Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES) (72)

Nombre: COHEN, Joseph, D.

Dirección: GlaxoSmithKline Biologicals S.A., rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Bélgica.

Nacionalidad o Domicilio: Bélgica

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/006407

Fecha: 29/06/06

Publicación Internacional No. WO 2007/003384 A1

Fecha: 11/01/07

⑥

Título (54) "VACUNA ANTI-MALARIA"

⑦

Clasificación Internacional (51) A61K 39/015; A61K 39/29

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

GB

(32) Fecha

30/06/05

(31) Número de Solicitud

0513421.8

⑨

Comprobante de Pago No. 07 - 92.296

Fecha: 14/11/07

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.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ 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)
- ☐ 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 del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de búsqueda Internacional con su traducción, publicación con su traducción, opinión escrita con su traducción, dibujos, listado de secuencia

11

FIGURA CARACTERISTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.690.713 Usaquéen T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-128783-00000-0000

Fecha: 2007-12-05 16:04:03 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 103

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 92,296
FECHA : NOVIEMBRE 14 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	72074903	14/11/2007	12,224,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
		TOTAL :	\$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE :

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLOREDA** y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-09-09-466
DE LAS PARTES PERTINENTES DE UN DOCUMENTO
PRESENTADO EN INGLES

PODER

Legalización de un Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Certificado Notarial (Sociedad) documento también escrito en inglés y en español.

Notarización, documento escrito en español.

APOSTILLA

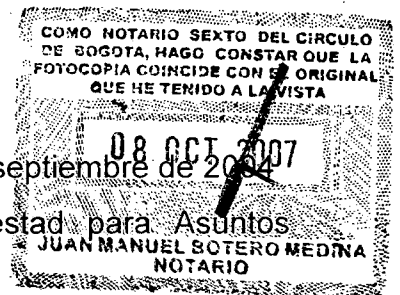
(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte

1. País: Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte
Este documento público
2. ha sido firmado James Kerr Milligan
3. actuando como Notario Público
4. lleva el sello/estampilla de dicho Notario Publico

CERTIFICADO

5. en Londres
6. el 01 de septiembre de 2004
7. por el Secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y del Commonwealth
8. Número: **G 749037**
9. Sello/Estampilla:
10. Firma: (ilegible)



TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

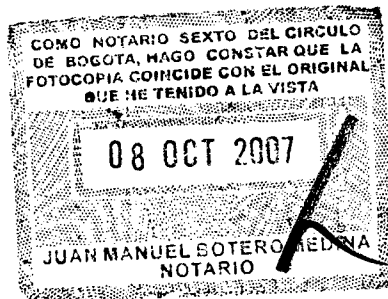
MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

260567
Anita Escobar
Cuya firma aparece en el
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

2004 SET 10 A 10:47

ues
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.



Sello de la Oficina de Asuntos
Exteriores y del Commonwealth

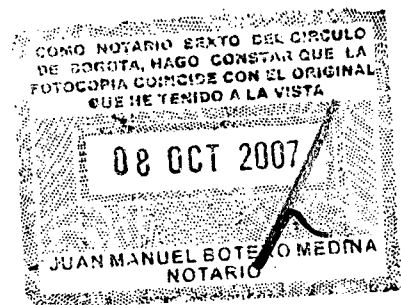
W. Glass
Por el Secretario de Estado

Si este documento se va a usar en un país que no es parte de la Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961, debe presentarse a la sección consular de la misión que representa a ese país. Una apostilla o certificado de legalización únicamente confirma que la firma, sello o estampilla sobre el documento es autentica. No significa que los contenidos del documento sean correctos o que la Oficina de Asuntos Exteriores y del Commonwealth apruebe los contenidos.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 9 de septiembre de 2004, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO



Yo, el infrascrito, **JAMES KERR MILLIGAN**, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

C E R T I F I C O:

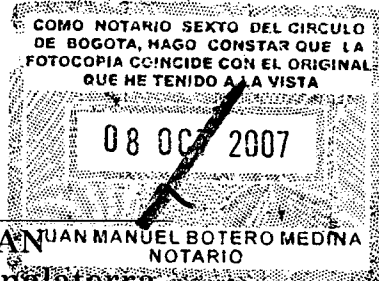
QUE es auténtica la firma suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON**, cuya identidad me consta, Apoderado de la Sociedad denominada **"GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A."** (anteriormente denominada **"Smithkline Beecham Biologicals s.a."**), Sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Bélgica, con domicilio social en Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Bélgica;

QUE el citado Señor Don **MARCUS JONATHAN WILLIAM DALTON** está debida y suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase, en virtud del Poder otorgado en su favor por la referida Sociedad fechado el 12 de junio de 2002, cuyo original he tenido a la vista.

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE y obre los efectos conducentes expido la presente que firmo y sello en Londres, el día de hoy primero de septiembre del año dos mil cuatro.

Handwritten signature of James Kerr Milligan



JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra

SCRIPER
NOTES



APOSTILLE

(Hague Convention of 5 October 1961/Convention de La Haye du 5 octot

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document/Le présent acte public

2. has been signed by a été signé par James Keef Milligan
3. acting in the capacity of agissant en qualité de Notary Public
4. bears the seal/stamp of est revêtu du sceau/timbre de Notary Public

Certified/Attesté

5. at London/à Londres
6. the/le 21 OCT 1961
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs/
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No G 749037

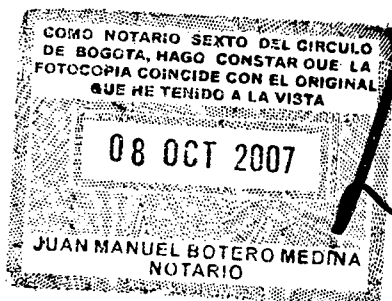
9. Stamp:
timbre:



10. Signature: W G LASS

W G LASS
For the Secretary of State/ Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961, it should be presented to the consular section of the mission representing that country.



Los abajo firmados, **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Bélgica.

con domicilio en **rue de l'Institut 89,
B-1330 Rixensart,
Bélgica**

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, a corporation organized and existing under the laws of Belgium.

domiciled at **rue de l'Institut 89,
B-1330 Rixensart,
Belgium**

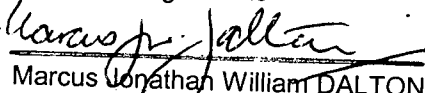
hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

31 AUG 2004

Given and signed this


Marcus Jonathan William DALTON
Attorney and Authorised Official

NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Bélgica

{ss

Hoy de de 200 , compareció , a quien conozco y de quien me consta que firmó el anterior documento, y quien debidamente juramentado declaró y dijo que él es de **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, la compañía nombrada en el documento que antecede, una sociedad debidamente organizada y existente conforme a las leyes de **Bélgica**, domiciliada en la ciudad de **Rixensart, Bélgica**, legalmente constituida para un período de duración que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social; conforme a las leyes de

que el declarante está autorizado por dicha Compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento es comprendido dentro del de la sociedad. El suscrito Notario ha visto los Estatutos de incorporación firmados en con fecha , y certifica que de conformidad con la legislación de dicho País, la anterior declaración juramentada es prueba suficiente de que los hechos sobre que ella versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Belgium

{ss

On this day of , 200 , personally came to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument, who being by me duly sworn did depose and say that he is the

of **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.**, the company named within, a Corporation organized and existing under the laws of the **Belgium**, domiciled at the City of **Rixensart, Belgium**, legally constituted for a period of tenure not yet expired, which exercises its corporate purposes according to the laws of

, that the deponent is authorized by said Company to confer this power of attorney; that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles of Incorporation of said Corporation executed at , under date of

and hereby certifies that under the laws of said Country the foregoing acknowledgment is sufficient proof that the facts therein contained are true, which he attests.



(21) N° de solicitud:	(51) Int Cl:	A61K 39/015; A61K 39/29	
(22) Fecha de solicitud:	(71) Solicitante(s)	05-12-07 GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	0513421.8	30-06-05	GB
(72) Inventor(es)		COHEN, Joseph, D.	
(74) Apoderado:		ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85) Fecha limite inicio fase nacional:	(87) Publicación internacional		
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha:	11-01-07	
Fecha de presentación de la solicitud:	N° publicación:	WO 2007/003384 A1	
No. de solicitud	PCT/EP2006/006407		
(54) Título:	VACUNA ANTI-MALARIA		

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 13.-

Una formulación que comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante, que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, para su uso en la inmunización de viajeros a regiones endémicas contra infección productiva por malaria.

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT
REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente AJT/VB61495	PARA FUTURAS ACCIONES ver Notificación o Transmisión del Reporte de Búsqueda Internacional (Forma PCT/ISA/220) así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación.	
Solicitud internacional No. PCT/EP2006/006407	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 29/06/2006	Fecha de Prioridad (Primera) (día/mes/año) 30/06/2005
Solicitante GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA		

Este Reporte de Búsqueda Internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante Según el Artículo 18. Una copia será transmitida a la Oficina Internacional.

Este Reporte de Búsqueda Internacional consta de un total de 8 hojas.

☒ También está acompañado de una copia de cada documento técnico anterior citado en este reporte.

1. Bases del reporte

a. Respecto al **lenguaje**, la búsqueda internacional se llevó a cabo según la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó, a menos que se indique de otro modo en este ítem.

☒ la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó,

☐ una traducción de la solicitud internacional al _____, el cual es el idioma de la traducción presentada para la búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b))

b. ☒ Respecto a una secuencia de **ácido nucleótido y/o amino revelado** en la solicitud internacional, ver Recuadro No. I.

2. ☒ **Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse** (Ver Recuadro II).

3. ☐ **Falta unidad de invención** (ver Recuadro III).

4. Respecto al **título**,

☐ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☒ Esta Autoridad ha establecido que el texto se lea así:
VACUNA ANTI-MALARIA

5. Respecto al **resumen**,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☐ Esta Autoridad ha establecido el texto de acuerdo con la Norma 38.2(b), según aparece en el Recuadro III. El solicitante puede, un mes después de la fecha de haber enviado por correo este reporte de búsqueda internacional, presentar comentarios a esta Autoridad.

6. Respecto a los dibujos,

a. La figura de los **dibujos** que se publicará con el resumen es la Figura No.

☐ como lo sugirió el solicitante.

☐ como lo seleccionó esta Autoridad, porque el solicitante no sugirió una figura.

☐ como lo seleccionó esta Autoridad, porque esta figura caracteriza mejor a la invención-

b. ☒ Ninguna de las figuras es para ser publicada con el resumen.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2006/006407

Casilla I Nucleótido y/o secuencia(s) aminoácida (Continuación del Item 1.b de la primera hoja)

- Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:
 - tipo de material:

☒ un listado de secuencia
 ☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia
 - formato de material:

☒ en formato escrito
 ☒ en formato legible por computador
 - tiempo de presentación/suministro:

☒ contenido en la solicitud internacional según se registró
 ☒ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador
 ☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda.
- ☐ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.
- Comentarios adicionales:

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2006/006407

A. CLASIFICACION DE MATERIA INV. A61K39/015 A61K39/29 A61K39/39 Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI		
B. CAMPOS BUSCADOS Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación) A61K Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados) EPO-Interno, Dato WPI, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	EP 0 761 231 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.) 12 de Marzo de 1997 (1997-03-12)	1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41
Y	páginas 2-3; reivindicaciones 1-12; ejemplos 1-3	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
☒ En el recuadro C se enumeran más documentos. ☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.		
° Categorías especiales de documentos citados: 'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular 'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional 'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica) 'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios 'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada 'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención 'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo 'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica '&' documento miembro de la misma familia de patentes		
Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional 17 de Octubre de 2006		Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional 31/10/2006
Nombre y dirección de correo de ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. No. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax No. (+31-70) 340-3016		Funcionario autorizado Bernhardt, Wiebke

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2006/006407

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	WO 96/33739 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A; GARCON, NATHALIE, MARIE-JOSEPHE, C) 31 de Octubre de 1996 (1996-10-31) citado en la solicitud	1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41
Y	reivindicaciones 1-12; ejemplo 1	
	-----	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
X	WO 2004/037189 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.; THE UNITED STATES OF AMERICA REPRESN) 6 de Mayo de 2004 (2004-05-06)	42, 43, 45, 46
Y	reivindicaciones 1-44; ejemplos 6, 7	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44

P, Y	EP 1 623 720 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A) 8 de Febrero de 2006 (2006-02-08) páginas 2-5; reivindicaciones 1-8	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44

P, Y	WALSH ET AL: "Inmunización de cebado-refuerzo heteróloga en macacos rhesus mediante dos liberaciones epidérmicas mediadas por partículas óptimamente espaciadas de ADN que codifica la proteína circumsporozoita de plasmodium falciparum, seguida de RTS,S/AS02A intramuscular" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 24, no. 19, 8 de Mayo de 2006 (2006-05-08), páginas 4167-4178, XP005421562 ISSN: 0264-410X todo el documento	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44

A	WO 94/00153 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS) 6 de Enero de 1994 (1994-01-06) páginas 1-15; reivindicaciones 1-12	1-46

A	BALLOU W R ET AL: "ACTUALIZACIÓN EN EL DESARROLLO CLÍNICO DE VACUNAS CANDIDATAS CONTRA MALARIA" AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE & HYGIENE, LAWRENCE, KS, US, vol. 71, no. 2, SUPPL 2, Agosto de 2004 (2004-08), páginas 239-247, XP009057966 ISSN: 0002-9637 citado en la solicitud todo el documento	1-46

	-/--	

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP2006/006407

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
A	ALONSO ET AL: "Eficacia de la vacuna RTS, S/AS02A contra la infección y enfermedad por Plasmodium falciparum en niños africanos: ensayo controlado aleatorio" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB, vol. 364, no. 9443, 16 de Octubre de 2004 (2004-10-16), páginas 1411-1420, XP005106739 ISSN: 0140-6736 todo el documento	1-46
P, A	----- ALONSO ET AL: "Duración de la protección con la vacuna contra la malaria RTS, S/AS02A en la prevención de la enfermedad por plasmodium falciparum en niños de Mozambique: seguimiento extendido ciego sencillo de un ensayo controlado aleatorio" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB, vol. 366, no. 9502, 10 de Diciembre de 2005 (2005-12-10), páginas 2012-2018, XP005204961 ISSN: 0140-6736 todo el documento	1-46
P, A	----- RICHARDS R L ET AL: "Liposomas que contienen lípido A sirve como un adyuvante para la inducción de anticuerpos y respuestas de células T citotóxicas contra RTS, S el antígeno de la malaria" INFECTION AND IMMUNITY. JUN 1998, vol. 66, no. 6, Junio de 1998 (1998-06), páginas 2859-2865, XP009073208 ISSN: 0019-9567 todo el documento	1-46

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006407

Casilla II Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 2 de la primera hoja)

Este reporte de búsqueda internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

1. ☒ Reivindicaciones Nos.:

porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber:

Aunque las reivindicaciones 25-36 están dirigidas a un método de tratamiento del cuerpo humano/animal, la búsqueda ha sido llevada a cabo y basada en los efectos alegados del compuesto/ la composición.

2. ☐ Reivindicaciones Nos.:

porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:

3. ☐ Reivindicaciones No.:

porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 3 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

1. ☐ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
2. ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales.
3. ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos.:
4. ☐ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este informe de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones; está cubierto por las reivindicaciones Nos.:

Comentario sobre Protesta

- ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.

- ☐ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Informe sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006407

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda		Fecha de publicación		Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
EP 0761231	A	12-03-1997	GR	3032742 T3	30-06-2000
WO 9633739	A	31-10-1996	AP	771 A	07-10-1999
			AR	001686 A1	26-11-1997
			AT	186842 T	15-12-1999
			AU	693022 B2	18-06-1998
			AU	5334596 A	18-11-1996
			AU	6987398 A	23-07-1998
			BG	63491 B1	29-03-2002
			BG	101995 A	30-11-1998
			BR	9608199 A	18-05-1999
			CA	2217178 A1	31-10-1996
			CN	1515245 A	28-07-2004
			CN	1480214 A	10-03-2004
			CN	1182370 A	20-05-1998
			CZ	9703379 A3	18-03-1998
			DE	69605296 D1	30-12-1999
			DE	69605296 T2	18-05-2000
			DK	822831 T3	01-05-2000
			DZ	2026 A1	21-07-2002
			EA	839 B1	24-04-2000
			EP	0822831 A1	11-02-1998
			ES	2140076 T3	16-02-2000
			GR	3031912 T3	29-02-2000
			HK	1009086 A1	27-10-2000
			HU	9801560 A2	28-10-1998
			IL	118004 A	30-11-1999
			JP	11504020 T	06-04-1999
			MA	23850 A1	31-12-1996
			NO	974859 A	21-10-1997
			NZ	305365 A	28-05-1999
			OA	10629 A	16-09-2002
			PL	322968 A1	02-03-1998
			RO	119068 B1	30-03-2004
			SK	144297 A3	06-05-1998
			TR	9701252 T1	21-03-1998
			TW	515715 B	01-01-2003
WO 2004037189	A	06-05-2004	AU	2003285932 A1	13-05-2004
			CA	2502268 A1	06-05-2004
			EP	1569515 A2	07-09-2005
			JP	2006512405 T	13-04-2006
			US	2006188527 A1	24-08-2006
EP 1623720	A	08-02-2006	NINGUNO		
WO 9400153	A	06-01-1994	AP	408 A	27-09-1995
			AT	156710 T	15-08-1997
			AT	188613 T	15-01-2000
			AU	661404 B2	20-07-1995
			AU	4326393 A	24-01-1994
			CA	2138997 A1	06-01-1994
			CN	1086142 A	04-05-1994
			CZ	9403296 A3	16-08-1995
			DE	69313134 D1	18-09-1997
			DE	69313134 T2	26-02-1998
			DE	69327599 D1	17-02-2000
			DE	69327599 T2	10-08-2000

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL
Informe sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.
PCT/EP2006/006407

Documento de patente citado en el reporte de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 9400153	A	DK 671948 T3 DK 0761231 T3 EP 0671948 A1 ES 2108278 T3 ES 2143716 T3 FI 946064 A GR 3025184 T3 HK 1010097 A1 HK 1022074 A1 HU 71208 A2 IL 106109 A JP 3755890 B2 JP 7508512 T MA 22911 A1 MX 9303773 A1 NO 945003 A NZ 253137 A PL 170980 B1 PT 761231 T RU 2118164 C1 SG 49909 A1 SG 90042 A1 SI 9300335 A SK 159294 A3 US 5750110 A	01-09-1997 08-05-2000 20-09-1995 16-12-1997 16-05-2000 22-02-1995 27-02-1998 15-09-2000 30-03-2001 28-11-1995 18-02-1997 15-03-2006 21-09-1995 31-12-1993 31-05-1994 23-12-1994 27-08-1996 28-02-1997 30-06-2000 27-08-1998 15-06-1998 23-07-2002 31-12-1993 09-08-1995 12-05-1998

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference AJT/VB61495	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2006/006407	International filing date (day/month/year) 29/06/2006	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 30/06/2005
Applicant GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 8 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

ANTI-MALARIA VACCINE

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2006/006407

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
 - a. type of material
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing
 - ☒ contained in the international application as filed
 - ☒ filed together with the international application in electronic form
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purpose of search
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/006407

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/015 A61K39/29 A61K39/39

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 761 231 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A) 12 March 1997 (1997-03-12)	1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41
Y	pages 2-3; claims 1-12; examples 1-3	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 October 2006

Date of mailing of the international search report

31/10/2006

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bernhardt, Wiebke

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/006407

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96/33739 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A; GARCON, NATHALIE, MARIE-JOSEPHE, C) 31 October 1996 (1996-10-31) cited in the application	1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41
Y	claims 1-12; example 1	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
X	----- WO 2004/037189 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A; THE UNITED STATES OF AMERICA REPRESENTED) 6 May 2004 (2004-05-06)	42, 43, 45, 46
Y	claims 1-44; examples 6, 7	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
P, Y	----- EP 1 623 720 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A) 8 February 2006 (2006-02-08) pages 2-5; claims 1-8	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
P, Y	----- WALSH ET AL: "Heterologous prime-boost immunization in rhesus macaques by two, optimally spaced particle-mediated epidermal deliveries of Plasmodium falciparum circumsporozoite protein-encoding DNA, followed by intramuscular RTS,S/AS02A" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 24, no. 19, 8 May 2006 (2006-05-08), pages 4167-4178, XP005421562 ISSN: 0264-410X the whole document	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
A	----- WO 94/00153 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS) 6 January 1994 (1994-01-06) pages 1-15; claims 1-12	1-46
A	----- BALLOU W R ET AL: "UPDATE ON THE CLINICAL DEVELOPMENT OF CANDIDATE MALARIA VACCINES" AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE & HYGIENE, LAWRENCE, KS, US, vol. 71, no. 2, SUPPL 2, August 2004 (2004-08), pages 239-247, XP009057966 ISSN: 0002-9637 cited in the application the whole document	1-46
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/006407

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ALONSO ET AL: "Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against Plasmodium falciparum infection and disease in young African children: randomised controlled trial" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB, vol. 364, no. 9443, 16 October 2004 (2004-10-16), pages 1411-1420, XP005106739 ISSN: 0140-6736 the whole document	1-46
P,A	ALONSO ET AL: "Duration of protection with RTS,S/AS02A malaria vaccine in prevention of Plasmodium falciparum disease in Mozambican children: single-blind extended follow-up of a randomised controlled trial" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB, vol. 366, no. 9502, 10 December 2005 (2005-12-10), pages 2012-2018, XP005204961 ISSN: 0140-6736 the whole document	1-46
A	RICHARDS R L ET AL: "Liposomes containing lipid A serve as an adjuvant for induction of antibody and cytotoxic T-cell responses against RTS,S malaria antigen." INFECTION AND IMMUNITY. JUN 1998, vol. 66, no. 6, June 1998 (1998-06), pages 2859-2865, XP009073208 ISSN: 0019-9567 the whole document	1-46

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/006407

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 25-36 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2006/006407

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0761231	A	12-03-1997	GR 3032742 T3	30-06-2000
WO 9633739	A	31-10-1996	AP 771 A	07-10-1999
			AR 001686 A1	26-11-1997
			AT 186842 T	15-12-1999
			AU 693022 B2	18-06-1998
			AU 5334596 A	18-11-1996
			AU 6987398 A	23-07-1998
			BG 63491 B1	29-03-2002
			BG 101995 A	30-11-1998
			BR 9608199 A	18-05-1999
			CA 2217178 A1	31-10-1996
			CN 1515245 A	28-07-2004
			CN 1480214 A	10-03-2004
			CN 1182370 A	20-05-1998
			CZ 9703379 A3	18-03-1998
			DE 69605296 D1	30-12-1999
			DE 69605296 T2	18-05-2000
			DK 822831 T3	01-05-2000
			DZ 2026 A1	21-07-2002
			EA 839 B1	24-04-2000
			EP 0822831 A1	11-02-1998
			ES 2140076 T3	16-02-2000
			GR 3031912 T3	29-02-2000
			HK 1009086 A1	27-10-2000
			HU 9801560 A2	28-10-1998
			IL 118004 A	30-11-1999
			JP 11504020 T	06-04-1999
			MA 23850 A1	31-12-1996
			NO 974859 A	21-10-1997
			NZ 305365 A	28-05-1999
			OA 10629 A	16-09-2002
			PL 322968 A1	02-03-1998
			RO 119068 B1	30-03-2004
			SK 144297 A3	06-05-1998
			TR 9701252 T1	21-03-1998
			TW 515715 B	01-01-2003
WO 2004037189	A	06-05-2004	AU 2003285932 A1	13-05-2004
			CA 2502268 A1	06-05-2004
			EP 1569515 A2	07-09-2005
			JP 2006512405 T	13-04-2006
			US 2006188527 A1	24-08-2006
EP 1623720	A	08-02-2006	NONE	
WO 9400153	A	06-01-1994	AP 408 A	27-09-1995
			AT 156710 T	15-08-1997
			AT 188613 T	15-01-2000
			AU 661404 B2	20-07-1995
			AU 4326393 A	24-01-1994
			CA 2138997 A1	06-01-1994
			CN 1086142 A	04-05-1994
			CZ 9403296 A3	16-08-1995
			DE 69313134 D1	18-09-1997
			DE 69313134 T2	26-02-1998
			DE 69327599 D1	17-02-2000
			DE 69327599 T2	10-08-2000

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/006407

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9400153	A	DK 671948 T3	01-09-1997
		DK 0761231 T3	08-05-2000
		EP 0671948 A1	20-09-1995
		ES 2108278 T3	16-12-1997
		ES 2143716 T3	16-05-2000
		FI 946064 A	22-02-1995
		GR 3025184 T3	27-02-1998
		HK 1010097 A1	15-09-2000
		HK 1022074 A1	30-03-2001
		HU 71208 A2	28-11-1995
		IL 106109 A	18-02-1997
		JP 3755890 B2	15-03-2006
		JP 7508512 T	21-09-1995
		MA 22911 A1	31-12-1993
		MX 9303773 A1	31-05-1994
		NO 945003 A	23-12-1994
		NZ 253137 A	27-08-1996
		PL 170980 B1	28-02-1997
		PT 761231 T	30-06-2000
		RU 2118164 C1	27-08-1998
		SG 49909 A1	15-06-1998
		SG 90042 A1	23-07-2002
		SI 9300335 A	31-12-1993
		SK 159294 A3	09-08-1995
		US 5750110 A	12-05-1998

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional

11 de Enero de 2007 (11.01.2007)

(10) Número de Publicación Internacional

PCT

WO 2007/003384 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61K 39/015 (2006.01) A61K 39/39 (2006.01)
A61K 39/29 (2006.01)

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP2006/006407

(22) Fecha de Registro Internacional: 29 de Junio de 2006
(29.06.2006)

(25) Idioma de registro: INGLES

(26) Idioma de Publicación: INGLES

(30) Información de Prioridad:

0513421.8 30 de Junio de 2005 (30.06.2005) GB

(71) Solicitante: (para todos los estados designados, excepto Estados Unidos de América): **GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.** [BE/BE]; Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(72) Inventores: e

(75) Inventores/Solicitantes (para los Estados Unidos de América únicamente): **COHEN, Joseph, D.** [US/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals SA, Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(74) Agente: **LUBIENSKI, Michael, John**; GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property CN925.1, 980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB).

(81) Estados Designados (salvo que de otro modo indicado para cada clase de la protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (salvo que de otro modo indicado para cada clase de la protección regional disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR) OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

— con reporte de Búsqueda Internacional
— Antes de la expiración del límite de tiempo para modificar las reivindicaciones y ser publicada de nuevo en el caso de recibo de modificaciones

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: VACUNA ANTI-MALARIA

(57) Resumen: Se proporciona, *inter alia*, un procedimiento para la profilaxis de infección productiva por malaria en viajeros a regiones endémicas que comprende la administración de cantidades adecuadas de una formulación que comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante, que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
11 January 2007 (11.01.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/003384 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 39/015 (2006.01) A61K 39/39 (2006.01)
A61K 39/29 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2006/006407

(22) International Filing Date: 29 June 2006 (29.06.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0513421.8 30 June 2005 (30.06.2005) GB

(71) Applicant (for all designated States except US): **GLAXO-SMITHKLINE BIOLOGICALS SA** [BE/BE]; Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): **COHEN, Joseph, D.** [US/BE]; GlaxoSmithKline Biologicals SA, Rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart (BE).

(74) Agent: **LUBIENSKI, Michael, John**; GlaxoSmithKline, Corporate Intellectual Property CN925.1, 980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS (GB).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, 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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: ANTI-MALARIA VACCINE

(57) Abstract: There is provided, *inter alia*, a method for the prophylaxis of productive malaria infection in travelers to endemic regions comprising the administration of suitable amounts of a formulation comprising a *Plasmodium* antigen or an immunogenic fragment or derivative thereof and an adjuvant, comprising a lipid A derivative and a saponin in a liposome formulation.

WO 2007/003384 A1

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

De la
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Para: ver forma PCT/ISA/220		PCT OPINION ESCRITA DE LA AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL (PCT Regla 43bis.1)	
		Fecha de envío por correo (día/mes/año) ver forma PCT/ISA/210 (segunda página)	
Registro de referencia del solicitante o agente ver forma PCT/ISA/220		PARA FUTURAS ACCIONES Ver el párrafo 2 a continuación	
Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/006407	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 29.06.2006	Fecha de prioridad (día/mes/año) 30.06.2005	
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. A61K39/015 A61K39/29 A61K39/39			
Solicitante GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA			
1. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: ☒ Casilla No. I Bases del Reporte ☐ Casilla No. II Prioridad ☒ Casilla No. III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial. ☐ Casilla No. IV Falta de unidad de invención ☒ Casilla No. V Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación. ☒ Casilla No. VI Ciertos documentos citados ☐ Casilla No. VII Ciertos defectos en la solicitud internacional ☒ Casilla No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional			

Casilla No. I. Bases de la opinión

1. Respecto al idioma, esta opinión se ha establecido según la solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó, a menos que se indique de otro modo bajo este ítem.
☒ la solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó
☐ una traducción de la solicitud internacional en , la cual es el idioma de una traducción proporcionada para los propósitos de búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b)).
2. Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:
 - a. tipo de material:
☒ un listado de secuencia
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia
 - b. formato de material:
☒ en formato escrito
☒ en formato legible por computador
 - c. tiempo de presentación/suministro:
☒ contenido en la solicitud internacional según se registró
☒ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda.
3. ☐ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.
4. Comentarios adicionales:

Casilla No. III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial

Las preguntas de si la invención reivindicada parece ser novedosa, comprender un paso inventivo (ser no obvia) o ser aplicable industrialmente no se han examinado respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional,
- ☒ reivindicaciones Nos. 25-36 (IA)

porque:

- ☒ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 25-36 (IA) se relacionan con la siguiente materia objeto que no requiere un examen preliminar internacional (*especifique*):

Ver hoja separada

- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique los elementos particulares a continuación*) de dichas reivindicaciones Nos son tan poco claros que no se podría formar una opinión significativa (*especifique*):
- ☐ las reivindicaciones, o dichas reivindicaciones Nos. son sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no se podría formar una opinión significativa.
- ☐ no se ha establecido ningún reporte de búsqueda internacional para toda la solicitud o para dichas reivindicaciones Nos.
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin el listado de secuencia; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no:
 - ☐ suministró un listado de secuencias en papel para cumplir con el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y dicho listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
 - ☐ suministró un listado de secuencias en formato electrónico para cumplir en el estándar para ello provisto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas y tal listado no estuvo disponible para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
 - ☐ pagó la tarifa de suministro tardío para el suministro de un listado de secuencia en respuesta a una invitación de acuerdo con las Reglas 13ter.1(a) o (b).
- ☐ no pudo establecerse una opinión significativa sin las tablas relacionadas con los listados de secuencias; el solicitante, dentro del límite de tiempo prescrito, no suministró dichas tablas en formato electrónico para cumplir con los requisitos técnicos para ello provistos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas y dichas tablas no estuvieron disponibles para la Autoridad Internacional de Examen Preliminar de forma y manera aceptable para ésta.
- ☐ las tablas relacionadas con el nucleótido y/o lista de secuencia aminoácida, si están en formato legible por computador únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos proporcionados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver la hoja separada para más detalles.

Casilla No. V Afirmación razonada bajo el Artículo 43bis.1 (a) (i) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Afirmación
- Novedad (N)

Sí: Reivindicaciones

No: Reivindicaciones

11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44

1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41-43, 45, 46
- Nivel inventivo (IS)

Sí: Reivindicaciones

No: Reivindicaciones

1-46
- Aplicabilidad industrial (IA)

Sí: Reivindicaciones

No: Reivindicaciones

1-24, 37-46
2. Citaciones y explicaciones
- ver hoja separada

Casilla No. VI Ciertos documentos citados

1. Cietos documentos publicados (Reglas 43bis. 1 y 70.10)
y/o
2. Escritos no revelados (Reglas 43bis.1 y 70.9)
- ver forma 210

Casilla No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Los siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, descripción, y los dibujos o acerca de las preguntas cuando las reivindicaciones están totalmente soportadas en la descripción, se hacen:

ver hoja separada

Re Item III

No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

Las reivindicaciones 25-26 se relacionan con la materia objeto que esta Autoridad considera que está cubierta por las disposiciones de la Regla 67.1(iv) PCT. Por consiguiente, no se formulará ninguna opinión respecto a la aplicabilidad industrial de la materia objeto de estas reivindicaciones (Artículo 34(4)(a)(I) PCT).

Re Item V

Afirmación razonada respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; menciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: EP-A-0 761 231 (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.) 12 de marzo de 1997 (1997-03-12)
D2: WO 96/33739 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A.; GARCON, NATALIE, MARIE-JOSEPHE, C) 31 de octubre de 1996 (1996-10-31) citada en la solicitud
D3: WO 2004/037189 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.; THE UNITED STATES OF AMERICA REPRESENT) 6 de mayo de 2004 (2004-05-06)
D4: WO 94/00153 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS) 6 de enero de 1994 (1994-01-06)

2. **Aplicabilidad industrial (Art. 33(4) PCT)**

Las reivindicaciones 1-24 y 37-46 cumplen los requerimientos de aplicabilidad industrial de conformidad con el Artículo 33(4) PCT.

Para la evaluación de las presentes reivindicaciones 25-26 sobre la pregunta de si son aplicables industrialmente, no existen criterios unificados en los Estados Contratantes del PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La EPO, por ejemplo, no reconoce como aplicable industrialmente la materia objeto de

las reivindicaciones en cuanto al uso de un compuesto en el tratamiento médico, pero puede permitir, sin embargo, reivindicaciones a un compuesto conocido para primer uso en el tratamiento médico y el uso de dicho compuesto para la fabricación de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

3. Novedad (Art. 33(2) PCT)

3.1 La presente solicitud no cumple con los criterios del Artículo 33(1) PCT porque la materia objeto de las reivindicaciones 1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41-43, 45 y 46 no es novedosa en el sentido del Artículo 33(2) PCT.

3.2 D1 revela el uso de una vacuna contra la malaria que contiene TRS,S para la fabricación de una vacuna para el tratamiento profiláctico contra la malaria (pg. 2, líneas 1-19; reivindicaciones 1-12). Se sabe que RTS es una proteína híbrida que comprende sustancialmente toda la parte del terminal C de la proteína circunsporozoita (CSP) unida por medio de cuatro aminoácidos de la parte preS2 del antígeno de superficie de Hepatitis B al antígeno de superficie (S) del virus de hepatitis B (D4 pg. 1 líneas 27-30). La vacuna además contiene QS21 y 3D-MPL en una formulación de liposomas (D1: pg. 3, líneas 39-45).

Por lo tanto, D1 destruye la novedad de las reivindicaciones 1-10, 13-22, 25-34, 37-39 y 41.

Además, D2 revela una vacuna contra la malaria que contiene RTS, MLP y QS21 en una formulación de liposomas (ejemplos). Por lo tanto, D2 destruye la novedad de las reivindicaciones 1-10, 13-22, 25-34, 37-39 y 41.

3.3 D3 revela una vacuna contra la malaria que resulta en la generación de células CD8, células CD4 y anticuerpos específicos (reivindicaciones; ejemplos 5-7). Medir el nivel de células CD4 o la concentración de anticuerpos específicos para evaluar la eficacia de la vacuna o para determinar si una persona está protegida contra la malaria por lo tanto se revela implícitamente. Por lo tanto, la materia objeto de las reivindicaciones 42, 43, 45 y 46 no se considera novedosa.

4. Nivel Inventivo (Art. 33(3) PCT)

4.1 La presente solicitud no cumple con los criterios del Artículo 33(1) PCT porque la

materia objeto de las reivindicaciones 11, 12, 23, 24, 35, 36, 40 y 44 no comprende un paso inventivo en el sentido del Artículo 33(3) PCT.

- 4.2 D2 puede considerarse como la técnica anterior más cercana para la reivindicación 11 y revela una vacuna contra la malaria que comprende RTS,S y MLP y QS21 en una formulación de liposomas. La reivindicación 11 difiere en que revela un polinucleótido que codifica el antígeno Plasmodio junto con el uso de un antígeno Plasmodio.

El problema implícito en dicha reivindicación puede considerarse como la provisión de una vacuna contra la malaria mejorada. La solución de una vacuna que contenga un antígeno así como un polinucleótido que codifica para el antígeno según propone la reivindicación 11 no puede considerarse inventivo por las siguientes razones:

D3 revela el uso de inmunización heteróloga preparando una respuesta inmune administrando una vacuna preparada que comprende un polinucleótido que codifica para un antígeno de malaria e impulsando la respuesta inmune preparada administrando subsiguientemente una vacuna impulsada que comprende el antígeno de malaria (ejemplo 6; reivindicaciones). La persona versada volvería hacia D3 y combinaría las enseñanzas de D3 con D2. Por lo tanto es obvio combinar la vacuna usada de conformidad con la reivindicación 1 con el polinucleótido de conformidad con la reivindicación 11. Por lo tanto, no se considera inventiva la materia objeto de la reivindicación 11.

- 4.3 Debido a consideraciones bajo 4.2, la materia objeto de las reivindicaciones 12, 23, 24, 35, 36 y 40 no puede establecer un nivel inventivo.
- 4.4 Debido a consideraciones bajo 3.3 y 4.2, la materia objeto de la reivindicación 44 no puede considerarse inventiva.

Re Item VI

Ciertos documentos publicados (Reglas 43bis.1 y 70.10)

D5: EP-A-1 623 720 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.) 8 de febrero de 2006 (2006-02-08)

D6: WALSH ET AL: Inmunización principal mejorada en macacos rhesus por dos, entregas epidérmicas mediadas por partículas espaciadas óptimamente de

proteína circumsporozoita falciparum Plasmodio que codifica ADN, seguida de RTS,S/AS02A intramuscular", VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC GUILFORD, GB, vol. 24, no. 19, 8 de mayo de 2006 (2006-05-08), páginas 4167-4178, XP005421562 ISSN: 0264-410X

Si la prioridad de la presente solicitud no es válida, D5 y D6 serían relevantes respecto a novedad y nivel inventivo (Art. 33(2) y (3) PCT).

Re Item VIII

Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

- 8.1 Las reivindicaciones 39-41 se refieren a kits que además de la composición de la materia contienen instrucciones para su uso. Dichas instrucciones para uso contenidas en una reivindicación dirigida a un producto que comprenda una composición de materia y que no proporcione ninguna contribución técnica al producto reivindicado no son una característica técnica del producto, no limitan de ninguna manera el alcance de dicha reivindicación, y no pueden considerarse en la evaluación de novedad y nivel inventivo.
- 8.2 La redacción de las reivindicaciones 37 y 38 combina dos métodos: el uso de un antígeno en la fabricación de un kit y un método para preparar dicho ("el antígeno suministrado en forma liofilizada y el antígeno y adyuvante son mezclados antes de la administración). Por lo tanto, no es claro cuál problema trata de resolver la reivindicación. La materia objeto de las reivindicaciones 37 y 38 por lo tanto no cumple con los requerimientos del Artículo 6 PCT.
- 8.3 La reivindicación 1 se refiere al "uso de un antígeno Plasmodio.. para inmunizar viajeros... contra la infección de la malaria productiva". Sin embargo, el solicitante proporciona únicamente evidencia para una vacuna contra la malaria que contiene proteína circumsporozoita (CSP). Son conocidas las dificultades de las posibles vacunas para lograr una respuesta inmune protectora. Por lo tanto, no es digno de crédito que el uso de conformidad con la reivindicación 1 funciona para un antígeno Plasmodio, en particular respecto a la malaria debido al ciclo de vida del Plasmodio incluyendo las diferentes etapas dentro del cuerpo humano. La materia objeto de la reivindicación 1 no cumple con los requerimientos del Artículo 6 PCT.
- 8.4 Las consideraciones bajo 8.3 aplican en analogía a las reivindicaciones 13, 25, 37, 39 y las reivindicaciones dependientes 9-12, 21-24, 33-36, 40 y 44.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2006/006407

International filing date (day/month/year)
29.06.2006

Priority date (day/month/year)
30.06.2005

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K39/015 A61K39/29 A61K39/39

Applicant
GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☒ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Bernhardt, Wiebke

Telephone No. +49 89 2399-2804



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2006/006407

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed.
 - ☒ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2006/006407

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 25-36 (IA)

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 25-36 (IA) relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ no international search report has been established for the whole application or for said claims Nos.

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13*ter*.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-*bis* of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2006/006407

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	11, 12, 23, 24, 35, 36, 40, 44
	No: Claims	1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41-43, 45, 46
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-46
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-24, 37-46
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VI Certain documents cited

1. Certain published documents (Rules 43bis.1 and 70.10)

and /or

2. Non-written disclosures (Rules 43bis.1 and 70.9)

see form 210

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Claims 25-36 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated with respect to the industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(I) PCT).

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statements

1. Reference is made to the following documents:

- D1: EP-A-0 761 231 (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A) 12 March 1997 (1997-03-12)
- D2: WO 96/33739 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A; GARCON, NATHALIE, MARIE-JOSEPHE, C) 31 October 1996 (1996-10-31) cited in the application
- D3: WO 2004/037189 A (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A; THE UNITED STATES OF AMERICA REPRESN) 6 May 2004 (2004-05-06)
- D4: WO 94/00153 A (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS) 6 January 1994 (1994-01-06)

2. **Industrial applicability (Art. 33(4) PCT)**

Claims 1-24 and 37-46 meet the requirements for industrial applicability according to Art. 33(4) PCT.

For the assessment of the present claims 25-36 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of

claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

3. Novelty (Art. 33(2) PCT)

3.1 The present application does not meet the criteria of Art. 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1-10, 13-22, 25-34, 37-39, 41-43, 45 and 46 is not novel in the sense of Art. 33(2) PCT.

3.2 D1 discloses the use of a anti-malaria vaccine containing RTS,S for the manufacture of a vaccine for the prophylactic treatment of malaria (pg. 2, lines 1-19; claims 1-12). RTS is known to be a hybrid protein comprising substantially all the C-terminal portion of the circumsporozoite protein (CSP) linked via four amino acids of the preS2 portion of Hepatitis B surface antigen to the surface (S) antigen of hepatitis B virus (D4 pg. 1 lines 27-30). The vaccine further contains QS21 and 3D-MPL in a liposome formulation (D1: pg. 3, lines 39-45).

Thus, D1 destroys the novelty of claims 1-10, 13-22, 25-34, 37-39 and 41.

Furthermore, D2 discloses an anti-malaria vaccine containing RTS, MLP and QS21 in a liposome formulation (examples). Therefore, D2 destroys the novelty of claims 1-10, 13-22, 25-34, 37-39 and 41.

3.3 D3 discloses an anti-malaria vaccine which results in generation of CD8 cells, CD4 cells and specific antibodies (claims; examples 5-7). Measuring the level of CD4 cells or the concentration of specific antibodies to assess the efficacy of the vaccine or to determine if a person is protected against malaria is thereby implicitly disclosed. Thus, the subject-matter of claims 42, 43, 45 and 46 is not considered novel.

4. Inventive Step (Art. 33(3) PCT)

4.1 The present application does not meet the criteria of Art. 33(1) PCT because the

subject-matter of claims 11, 12, 23, 24, 35, 36, 40 and 44 does not involve an inventive step in the sense of Art. 33(3) PCT.

- 4.2 D2 can be regarded as closest prior art for claim 11 and discloses an anti-malaria vaccine comprising RTS,S and MLP and QS21 in a liposome formulation. Claim 11 differs in that it discloses a polynucleotide encoding the Plasmodium antigen in conjunction with the use of a Plasmodium antigen.

The problem underlying said claim can be regarded as the provision of an enhanced anti-malaria vaccine. The solution of a vaccine containing an antigen as well as a polynucleotide encoding for the antigen as proposed by claim 11 cannot be considered inventive for the following reasons:

D3 discloses the use of a heterologous immunization by priming an immune response by administering a priming vaccine comprising a polynucleotide encoding for a malaria antigen and boosting the primed immune response by subsequently administering a boosting vaccine comprising the malaria antigen (example 6; claims). The skilled person would turn to D3 and combine the teaching of D3 with D2. It is therefore obvious to combine the vaccine used according to claim 1 with the polynucleotide according to claim 11. Hence, the subject-matter of claim 11 is not considered inventive.

- 4.3 Due to the considerations under 4.2, the subject-matter of claims 12, 23, 24, 35, 36 and 40 cannot establish an inventive step.
- 4.4 Due to the considerations under 3.3 and 4.2, the subject-matter of claim 44 cannot be considered inventive.

Re Item VI

Certain published documents (Rules 43bis.1 and 70.10)

- D5: EP-A-1 623 720 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A) 8 February 2006 (2006-02-08)
- D6: WALSH ET AL: "Heterologous prime-boost immunization in rhesus macaques by two, optimally spaced particle-mediated epidermal deliveries of

Plasmodium falciparum circumsporozoite protein-encoding DNA, followed by intramuscular RTS,S/AS02A" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 24, no. 19, 8 May 2006 (2006-05-08), pages 4167-4178, XP005421562 ISSN: 0264-410X

Should the priority of the present application not be valid, D5 and D6 would be relevant with respect to novelty and inventive step (Art. 33(2) and (3) PCT).

Re Item VIII

Certain observation on the international application

- 8.1 Claims 39-41 refer to kits which in addition to the composition of matter contain instructions for their use. Such instructions for use contained in a claim directed to a product comprising a composition of matter and which provide no technical contribution to the claimed product are not a technical feature of the product, do not limit in any way the scope of such a claim, and cannot be considered in the evaluation of novelty and inventive step.
- 8.2 The wording of claims 37 and 38 combines two methods: the use of antigen in the manufacture of a kit and a method of preparing such ("antigen provided in lyophilised form and the antigen and adjuvant are mixed prior to administration). Therefore, it is unclear which problem the claim tries to solve. The subject-matter of claims 37 and 38 hence do not fulfil the requirements of Art. 6 PCT.
- 8.3 Claim 1 refers to " the use of a Plasmodium antigen... for immunising travelers... against productive malaria infection". However, the applicant provides only evidence for an anti-malaria vaccine containing circumsporozoite protein (CSP). The difficulties of potential vaccines in achieving a protective immune response are well known. Therefore, it is not credible that the use according to claim 1 works for any Plasmodium antigen, in particular with respect to malaria due to the life cycle of Plasmodium including the different stages within the human body. The subject-matter of claim 1 does not fulfil the requirements of Art. 6 PCT.
- 8.4 The considerations under 8.3 apply in analogy to claims 13, 25, 37, 39 and dependent claims 9-12, 21-24, 33-36, 40 and 44.

VACUNA ANTI-MALARIA**RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION**

5

Se proporciona, *inter alia*, un procedimiento para la profilaxis de infección productiva por malaria en viajeros a regiones endémicas que comprende la administración de cantidades adecuadas de una formulación que comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o
10 derivado del mismo y un adyuvante, que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma.

VACUNA ANTI-MALARIA

La presente invención se refiere a un nuevo uso del antígeno de la malaria para inmunizar contra infección o enfermedad por malaria. La invención
5 se refiere, en particular, al uso de antígenos esporozoítos, en particular proteína circumsporozoito (CS) o fragmentos inmunogénicos o derivados de la misma, combinados con adyuvantes adecuados, para inmunizar individuos vírgenes a la malaria que esperan viajar a regiones endémicas, contra infección por malaria.

10 La malaria es uno de los problemas de salud principales en el mundo. Durante el siglo 20, el desarrollo económico y social, junto con las campañas anti-malaria, han provocado la erradicación de la malaria de grandes áreas del mundo, reduciendo el área afectada de la superficie terrenal de la tierra del 50% al 27%. Sin embargo, dado el crecimiento esperado de la población se
15 prevé que en 2010 la mitad de la población mundial, cerca de 3,5 billones de personas, estén viviendo en áreas en las que se transmite la malaria (Hay, 2004). Las estimaciones actuales sugieren que hay un exceso de 1 millón de muertes debido a la malaria cada año, y los costes económicos sólo para África son asombrosos (Bremen, 2004).

20 Estas cantidades ponen de relieve la crisis global de malaria y los problemas que tiene para la comunidad internacional de la salud. Las razones de esta crisis son múltiples y varían desde la aparición de resistencia generalizada a fármacos disponibles, razonables y previamente con alta eficacia, hasta el fracaso y deficiencia de sistemas de salud y la ausencia de
25 recursos. A menos que se descubran medios para controlar esta enfermedad,

fallarán los esfuerzos globales para mejorar la salud y supervivencia de los niños, reducir la pobreza, aumentar la seguridad y reforzar las sociedades más vulnerables.

La malaria también tiene riesgos para los que viajan a o trabajan en regiones endémicas que normalmente viven en países libres de malaria. Los riesgos pueden ser superiores para esta población viajera ya que no tienen ninguna inmunidad anterior a la malaria de una exposición natural. Otro aspecto del riesgo adquirido por un viajero a una región endémica de malaria es que la enfermedad a menudo se mal-diagnostica en sus fases tempranas debido a los síntomas tipo gripe.

Cuando la gravedad aumenta y la malaria finalmente se diagnostica, puede ser demasiado tarde. A los pocos días de ese aumento de los síntomas, se puede producir la muerte, por ejemplo, por malaria cerebral, o a veces insuficiencia de órganos (por ejemplo, hígado o riñón).

Una de las formas más agudas de la enfermedad está causada por el parásito protozario *Plasmodium falciparum* que es responsable de la mayoría de la mortalidad atribuible a la malaria. Otra forma de la enfermedad está provocada por *Plasmodium vivax*. *P. vivax* es la más generalizada de todas las malarias. Además de estar presente en las regiones tropicales y subtropicales, la capacidad del parásito de completar su ciclo en el mosquito a temperaturas tan bajas como 15 grados Celsius, se ha permitido que se extienda en climas templados. Sin embargo debido al hecho de que la infección por *P. vivax* es raramente fatal, los esfuerzos para controlar la malaria por *P. vivax* (mediante el desarrollo de vacunas) se están retrasando por detrás de aquellos para *P. falciparum*.

Una observación hecha hace 30 años proporciona un apoyo fuerte para la creencia de que finalmente se desarrollará una vacuna eficaz contra la malaria. Los ratones y los seres humanos pueden protegerse contra la malaria por inmunización con esporozoítos de la malaria vivos, atenuados por radiación. La persistencia de una fase intra-hepática *in vivo* es necesaria para producir y mantener una inmunidad protectora, pero los mecanismos subyacentes aún no se han definido completamente. Los anticuerpos, células T CD8 y CD4 (Hoffman, 1996) se han implicado como mediadores inmunes efectores críticos.

El ciclo de la vida de *Plasmodium sp* (por ejemplo *P. falciparum* o *P. vivax*) es complejo, requiriendo dos huéspedes, el hombre y el mosquito para completarlo. La infección del hombre se inicia por la inoculación de esporozoítos en la saliva de un mosquito infectado. Los esporozoítos migran al hígado y allí infectan los hepatocitos (fase del hígado) donde se diferencian, mediante la fase intracelular exoeritrocítica, en la fase merozoíto que infecta glóbulos rojos (RBC) para iniciar la replicación cíclica en la fase sanguínea asexual. El ciclo se completa por la diferenciación de varios merozoítos en los RBC en gametocitos en fase sexual que el mosquito ingiere, donde se desarrollan a través de una serie de fases en el intestino medio para producir esporozoítos que migran a la glándula salivar.

La fase esporozoíto de *Plasmodium sp* (por ejemplo *P. falciparum* o *P. vivax*) se ha identificado como una diana potencial de una vacuna contra la malaria. La proteína de superficie principal del esporozoíto se conoce como proteína circumsporoíto (proteína CS). Esta proteína se ha clonado,

expresado y secuenciado para una diversidad de cepas, por ejemplo para *P. falciparum* la cepa NF54, clon 3D7 (Caspers, 1989). La proteína de la cepa 3D7 está caracterizada por tener una región repetida inmunodominante central que comprende un tetrapéptido Asn-Ala-Asn-Pro repetido 40 veces pero intercalada
 5 con cuatro repeticiones minoritarias del tetrapéptido Asn-Val-Asp-Pro. En otras cepas la cantidad de repeticiones mayoritarias y minoritarias varía así como su posición relativa. Esta porción central está flanqueada por una porción N y C-terminal compuesta por secuencias de aminoácidos no repetitivas denominadas como porción sin repeticiones de la proteína CS.

10 La vacuna contra la malaria RTS,S de GlaxoSmithKline Biologicals basada en la proteína CS ha estado en desarrollo desde 1987 y actualmente es la vacuna candidata contra la malaria más avanzada en estudio (Ballou, 2004). Esta vacuna se dirige específicamente a la fase pre-eritrocítica de *P. falciparum*.

15 RTS,S/AS02A (RTS,S más adyuvante AS02A que contiene inmunoestimulantes QS21 y 3D-MPL en una emulsión de aceite en agua) se usó en estudios en Fase I consecutivos emprendidos en Gambia que implica a adultos (Doherty, 1999), a niños con edad de 6-11 y 1-5 años (Bojang, 2001), que confirmó que la vacuna era segura, bien tolerada e inmunogénica.
 20 Posteriormente, se seleccionó una dosis de vacuna pediátrica y se estudió en un estudio en Fase I que implicó a niños mozambiqueños con edad de 1-4 años donde se descubrió que era segura, bien tolerada e inmunogénica (Macete).

La vacuna RTS,S/AS02A también ha mostrado evidencias de eficacia en
 25 ensayos clínicos en los Estados Unidos y en el campo en África del Oeste.

RTS,S/AS02A induce respuestas de anticuerpos IgG significativas contra la proteína circumsporozoíto de *P. falciparum* e inmunidad sustancial de células T (Lalvani, 1999; Sun, 2003). Se ha estimado que la eficacia contra una estimulación experimental con *P. falciparum* en voluntarios vírgenes a la malaria en los Estados Unidos es de aproximadamente el 30-50% de media (Stoute, 1997; Stoute 1998; Kester, 2001). El primero de estos estudios (Stoute, 1997) tuvo una eficacia del 86% en un ensayo a pequeña escala en el que fueron protegidos 6 de 7 individuos inmunizados con RTS,S/AS02A. Además, un estudio de campo de adultos semi-inmunes en Gambia (precedido por un estudio de seguridad en adultos gambianos (Doherty, 1999)) mostró una eficacia global del 34% en un periodo de una temporada de transmisión de 15 semanas, con una eficacia del 71% en las primeras nueve semanas de seguimiento y una eficacia del 0% después de ello (Bojang, 2001). Estos estudios (Stoute, 1997; Stoute, 1998; Bojang, 2001; Kester, 2001) muestran eficacia contra la infección.

Se presentaron recientemente resultados de un ensayo usando RTS,S/AS02A en niños africanos jóvenes. Se descubrió que la vacuna RTS,S basada en la proteína CS puede proporcionar no sólo protección contra infección en exposición natural sino también protección contra un amplio espectro de enfermedades clínicas causadas por *P. falciparum*. Los niños que recibieron la vacuna RTS,S experimentaron menos acontecimientos adversos graves, hospitalizaciones, y complicaciones graves por malaria, incluyendo muerte, que los del grupo de control (Alonso, 2004).

Además, la eficacia de la vacuna RTS,S contra tanto infecciones nuevas como episodios clínicos parece no disminuir o lo hace lentamente. Al final de

los 6 meses de seguimiento en el ensayo, la vacuna permaneció eficaz ya que hubo una diferencia significativa en el predominio de la infección. Esto está en contra de ensayos previos en voluntarios vírgenes a la malaria o adultos gambianos que sugerían que la eficacia de la vacuna con RTS,S era de corta vida (Stoute, 1998; Bojang, 2001). Además, después de un periodo de seguimiento adicional de 12 meses, se observó que la eficacia de la vacuna contra un episodio de malaria clínica no disminuía significativamente (Alonso, 2005).

Aunque la formulación de la vacuna descrita anteriormente muestra eficacia clínica, aún son necesarias mejoras adicionales para aumentar tanto la cantidad de individuos protegidos así como la persistencia de la protección. Nuevas formulaciones adyuvantes tales como una formulación que contiene QS21 y 3D-MPL en una formulación que contiene liposomas (mencionada en este documento como adyuvante B) ha demostrado una potencia superior para reforzar las respuestas inmunes de células T en diversas investigaciones preclínicas y clínicas.

En particular, lo que se necesita para una vacuna para gente que no procede de una región endémica de malaria pero que viaja durante un periodo limitado de tiempo a regiones en las que la malaria es endémica, es una mejor protección contra la *infección*. La manifestación clínica de la malaria sólo puede suceder si hay una infección productiva del hígado que conduce a la formación de merozoítos y su liberación de la fase hepática. Estos merozoítos pueden después infectar RBC e iniciar la fase sanguínea patogénica del parásito provocando la malaria sintomática clínica. Si no hay infección productiva después de la exposición (es decir, sin infección del hígado y/o sin liberación

de merozoítos del hígado), entonces se conoce como inmunidad estéril. Una vacuna que redujera significativamente el riesgo de una infección productiva del hígado, como se ha definido anteriormente, después de la picadura del mosquito sería altamente deseable para una población viajera que no tiene

5 inmunidad preexistente, porque previniendo la infección hepática productiva, la vacuna prevendría cualquier manifestación clínica posterior. Esto puede contrastarse con el objetivo de desarrollo de una vacuna dirigida a niños o gente de regiones endémicas, donde el objetivo principal sería disminuir la gravedad de la enfermedad y/o disminuir la cantidad de episodios de

10 enfermedad, pero no necesariamente prevenirlos completamente. En teoría, no sería posible mantener indefinidamente la protección estéril en gente de regiones endémicas, y por lo tanto necesitan formar su propia inmunidad por exposición a la infección por malaria. Además, no es aconsejable otorgar protección estéril a gente que vive en regiones endémicas durante un periodo

15 amplio incluso limitado de tiempo.

En este documento se describe un ensayo clínico de estimulación que consta de una comparación mano a mano de RTS,S/AS02A frente a RTS,S con un adyuvante diferente (adyuvante B) que contiene QS21 y 3D-MPL en una formulación con liposomas que contienen colesterol, en una población

20 virgen a la malaria (véanse los Ejemplos). Se investigó la inmunidad mediada tanto por células T como por células B.

Los resultados muestran que en una población adulta virgen a la malaria, el antígeno RTS,S en combinación con el adyuvante B es más del 50% más eficaz en la protección contra infección hepática productiva después

25 de una estimulación con la malaria, que RTS,S/AS02A. Por tanto, el antígeno

RTS,S en combinación con el adyuvante B es más eficaz en términos de la protección estéril que es necesaria para individuos vírgenes a la malaria que viajan a regiones en las que la malaria es endémica. Este incremento de eficacia conferida por el adyuvante B está asociada a un aumento de respuesta

5 inmune específica de antígeno (anticuerpos y células T CD4-Th1).

Por lo tanto, la presente invención proporciona el uso de un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, en la fabricación de un medicamento para inmunizar

10 viajeros a regiones endémicas contra infección productiva por malaria.

En líneas generales, los viajeros a regiones endémicas serán vírgenes a la malaria. Por tanto, la invención se aplica a individuos vírgenes a la malaria.

La invención se ocupa particularmente de reducir la incidencia de infecciones productivas por malaria en viajeros a regiones endémicas, que

15 pueden tener cualquier edad pero en particular adultos.

Un segundo aspecto de la invención proporciona una formulación que comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante, que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, para su uso en la inmunización

20 de viajeros a regiones endémicas contra infección productiva por malaria.

Un tercer aspecto de la invención proporciona un procedimiento de profilaxis de infección productiva por malaria en viajeros a regiones endémicas que comprende la administración de cantidades adecuadas de una formulación que comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o

derivado del mismo y un adyuvante, que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma.

En una realización de la invención el antígeno de *Plasmodium* es un antígeno de *P. falciparum*. En otra realización de la invención el antígeno de *Plasmodium* es un antígeno de *P. vivax*.

De manera adecuada el antígeno es un antígeno pre-eritrocítico.

Por ejemplo, el antígeno puede seleccionarse entre cualquier antígeno que se exprese en la fase esporozoíto u otra fase pre-eritrocítica del parásito tal como la fase del hígado. Por ejemplo, el antígeno puede seleccionarse entre la proteína circumsporozoíto (CS), antígeno 1 de la fase del hígado (LSA-1) (véase por ejemplo el documento WO2004/044167), antígeno 3 de la fase del hígado (LSA-3) (descrito, por ejemplo, en los documentos EP 0 570 489 y EP 0 833 917), Pfs 16kD (descrita en los documentos WO 91/18922 y EP 597 843), el antígeno 1 Exportado (Exp-1) (descrito por ejemplo en Meraldi y col. 2002, *Parasite Immunol* vol 24 (3): 141), la proteína del esporozoíto rica en treonina y asparagina (STARP), el antígeno en fase esporozoíto y del hígado (SALSA), proteína anónima relacionada con trombospondina (TRAP) (descrita en los documentos WO 90/01496, WO 91/11516 y WO 92/11868) y antígeno 1 de merozoíto apical (AMA-1) (descrito en el documento EP 0 372 019) que se ha demostrado recientemente que está presente en la fase del hígado (además de la fase eritrocítica). Todos estos antígenos son bien conocidos en el campo. El antígeno puede ser la proteína completa o un fragmento inmunogénico de la misma o un derivado de cualquiera de éstos. Los fragmentos inmunogénicos de antígenos de la malaria son bien conocidos, por ejemplo, el ectodominio de AMA-1 (descrito, por ejemplo, en el documento WO 02/077195). Los derivados

incluyen, por ejemplo, fusiones con otras proteínas que pueden ser proteínas de la malaria o proteínas no de la malaria tales como HBsAg. Los derivados de acuerdo con la invención son capaces de provocar una respuesta inmune contra el antígeno nativo.

- 5 El antígeno de *Plasmodium* puede fusionarse al antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).

Un antígeno particular para su uso en la invención se obtiene de la proteína circumsporozoíto (CS) y puede estar en forma de una proteína híbrida con HBsAg. El antígeno puede ser la proteína CS completa o parte de la
10 misma, incluyendo un fragmento o fragmentos de la proteína CS, fragmentos que pueden fusionarse juntos.

El antígeno basado en proteína CS puede estar en forma de una proteína híbrida que comprende sustancialmente toda la porción C-terminal de la proteína CS de *Plasmodium*, cuatro o más repeticiones en tándem de la
15 región inmunodominante de la proteína CS, y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). La proteína híbrida puede comprender una secuencia que contiene al menos 160 aminoácidos y que es sustancialmente homóloga a la porción C-terminal de la proteína CS. En particular, "sustancialmente toda" la porción C-terminal de la proteína CS incluye el extremo C-terminal desprovisto
20 de la secuencia de anclaje hidrófoba. Además en el caso del antígeno de *Plasmodium falciparum*, contiene 4 o más por ejemplo 10 o más motivos repetidos tetrapéptidos Asn-Ala-Asn-Pro. La proteína CS puede estar desprovista de los últimos 12 aminoácidos del extremo C-terminal.

La proteína híbrida para su uso en la invención puede ser una proteína
25 que comprenda una porción de la proteína CS de *P. falciparum* que

corresponde sustancialmente a los aminoácidos 207-395 del clon 3D7 de *P. falciparum*, derivado de la cepa NF54 (Caspers, 1989) fusionado en fase mediante un enlazante lineal al extremo N-terminal de HBsAg. El enlazante puede comprender una porción de preS2 de HBsAg.

5 Las construcciones de CS para su uso en la presente invención son como se exponen en el documento WO 93/10152. Una construcción particular es la proteína híbrida conocida como RTS como se describe en el documento WO 93/10152 (donde se indica como RTS*) y el documento WO 98/05355, los contenidos completos de los cuales se incorporan en este documento como
10 referencia.

Una proteína híbrida particular para su uso en la invención es la proteína híbrida conocida como RTS que consta de:

- Un resto de metionina, codificado por los nucleótidos 1059 a 1061, derivado de la secuencia del gen TDH3 de Saccharomyces cerevisiae.
15 (Musti, 1983).
- Tres aminoácidos, Met Ala Pro, derivados de una secuencia de nucleótidos (1062 a 1070) creada por el procedimiento de clonación usado para construir el gen híbrido.
- Un tramo de 189 aminoácidos, codificado por los nucleótidos 1071 a
20 1637 que representa los aminoácidos 207 a 395 de la proteína circumsporozoíto (CSP) de la cepa 3D7 de *Plasmodium falciparum* (Caspers, 1989).
- Un aminoácido (Gly) codificado por los nucleótidos 1638 a 1640, creado por el procedimiento de clonación usado para construir el gen híbrido.

- Cuatro aminoácidos, Pro Val Thr Asn, codificados por los nucleótidos 1641 a 1652, y que representan los cuatro restos carboxi terminales de la proteína preS2 del virus de la hepatitis B (serotipo adw) (Valenzuela, 1979).
- 5 • Un tramo de 226 aminoácidos, codificado por los nucleótidos 1653 a 2330, y que especifica la proteína S del virus de la hepatitis B (serotipo adw).

La RTS puede estar en forma de partículas mixtas RTS,S.

10 Las partículas RTS,S comprenden dos polipéptidos RTS y S que pueden sintetizarse simultáneamente y forman espontáneamente estructuras particuladas compuestas (RTS,S) por ejemplo durante la purificación.

La proteína RTS puede expresarse en levaduras, por ejemplo *S. cerevisiae*. En dicho huésped, RTS se expresará en forma de partículas lipoproteicas. La cepa de levaduras receptora puede ya llevar en su genoma
15 varias copias integradas de un módulo de expresión S de la hepatitis B. La cepa resultante sintetiza, por lo tanto, dos polipéptidos, S y RTS, que se co-ensamblan espontáneamente en partículas lipoproteicas mixtas (RTS,S). Estas partículas pueden presentar las secuencias de CSP del híbrido en su superficie. La RTS y S en estas partículas mixtas pueden presentarse en una
20 proporción particular, por ejemplo 1:4.

El uso de un antígeno de la malaria adicional o fragmento o derivado del mismo en la invención también se incluye en la invención. Otros antígenos pre-eritrocíticos tales como AMA-1, LSA-1, LSA-3 (descritos, por ejemplo, en los documentos EP 0 570 489 y EP 0 833 917) y Pfs 16kD, pueden usarse en
25 combinación con RTS,S. Como alternativa, RTS,S puede usarse en

combinación con un antígeno de fase sanguínea tal como la proteína 1 superficial de merozoíto (MSP-1) (descrita, por ejemplo, en el documento US 4.837.016), el antígeno 175 de unión a eritrocitos (EBA-175) o MSP-3 (descrita por ejemplo, en el documento EP 0 666 916).

- 5 Los fragmentos inmunogénicos de cualquiera de los antígenos descritos en este documento contendrán al menos un epítipo del antígeno y presentarán antigenicidad de malaria y serán capaces de provocar una respuesta inmune cuando se presentan en una construcción adecuada, tal como, por ejemplo, cuando se fusionan a otros antígenos de la malaria u otros antígenos no de la
- 10 malaria, o se presentan en un vehículo, estando dirigida la respuesta inmune contra el antígeno nativo. Típicamente, los fragmentos inmunogénicos contienen al menos 20, o al menos 50, o al menos 100 aminoácidos contiguos del antígeno de la malaria.

- Los derivados de los antígenos o fragmentos descritos en este
- 15 documento contendrán de forma similar al menos un epítipo del antígeno y presentarán antigenicidad de malaria y serán capaces de provocar una respuesta inmune, estando dirigida la respuesta inmune contra el antígeno nativo.

- Los derivados incluyen, por ejemplo, fusiones del antígeno de la malaria
- 20 a otra proteína que puede ser o puede no ser otra proteína de la malaria y puede ser, por ejemplo, HBsAg.

- De acuerdo con la invención, puede usarse directamente una solución acuosa de la proteína híbrida purificada y combinarse con el adyuvante adecuado de acuerdo con la invención. Como alternativa, la proteína puede
- 25 liofilizarse antes de mezclarse con el adyuvante. El adyuvante puede ser un

líquido y por tanto se usa para reconstituir el antígeno en una forma de vacuna líquida.

Por tanto, la invención proporciona adicionalmente el uso de un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un
5 adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, como se describe en este documento, en la fabricación de un kit para inmunizar viajeros a regiones endémicas contra infección por malaria, donde el antígeno se proporciona en forma liofilizada y el antígeno y el adyuvante se mezclan antes de la administración.

10 La dosis de vacuna de acuerdo con la invención puede estar entre 1-100 μg de RTS,S por dosis, por ejemplo 25 a 75 μg de RTS,S, por ejemplo una dosis de 50 μg de proteína RTS,S, que puede presentarse en 500 μl (formulación líquida final). Esta es una dosis adecuada para su uso en adultos. Una dosis adecuada para su uso en niños es la mitad de la dosis para adultos,
15 que es 25 μg de RTS,S, que puede presentarse en 250 μl (formulación líquida final). Pueden usarse dosis similares para otros antígenos.

De acuerdo con la invención, el antígeno se combina con un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma.

20 Los adyuvantes adecuados de acuerdo con la invención son lípido A destoxificado de cualquier fuente y derivados no tóxicos de lípido A, que son estimuladores con preferencia de una respuesta de células Th1 (también llamada en este documento una respuesta de tipo Th1).

Una respuesta inmune puede dividirse ampliamente en dos categorías
25 extremas, que son una respuesta inmune humoral o mediada por células

(tradicionalmente caracterizadas por mecanismos de protección con anticuerpos y células efectoras respectivamente). Estas categorías de respuesta se han llamado respuestas de tipo Th1 (respuesta mediada por células), y respuestas inmunes de tipo Th2 (respuesta humoral).

5 Las respuestas inmunes de tipo Th1 extremas pueden caracterizarse por la generación de linfocitos T citotóxicos restringidos por haplotipo, específicos de antígeno, y respuestas de células natural killer. En ratones, las respuestas de tipo Th1 a menudo se caracterizan por la generación de anticuerpos del subtipo IgG2a, mientras que en seres humanos éstos corresponden a los
10 anticuerpos de tipo IgG1. Las respuestas inmunes de tipo Th2 están caracterizadas por la generación de un intervalo de isotipos de inmunoglobulinas incluyendo IgG1 en ratones.

Puede considerarse que la fuerza impulsora detrás del desarrollo de estos dos tipos de respuestas inmunes son citoquinas. Altos niveles de
15 citoquinas de tipo Th1 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunes mediadas por células contra el antígeno dado, mientras que altos niveles de citoquinas de tipo Th2 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunes humorales contra el antígeno.

La distinción de respuestas inmunes de tipo Th1 y Th2 no es absoluta, y
20 pueden adoptar la forma de continuidad entre estos dos extremos. En realidad, un individuo soportará una respuesta inmune que se describe como predominantemente Th1 o predominantemente Th2. Sin embargo, a menudo es conveniente considerar las familias de citoquinas en términos de lo descrito sobre clones de células T CD4 +vas murinos por Mosmann and Coffman
25 (Mosmann, 1989). Tradicionalmente, las respuestas de tipo Th1 están

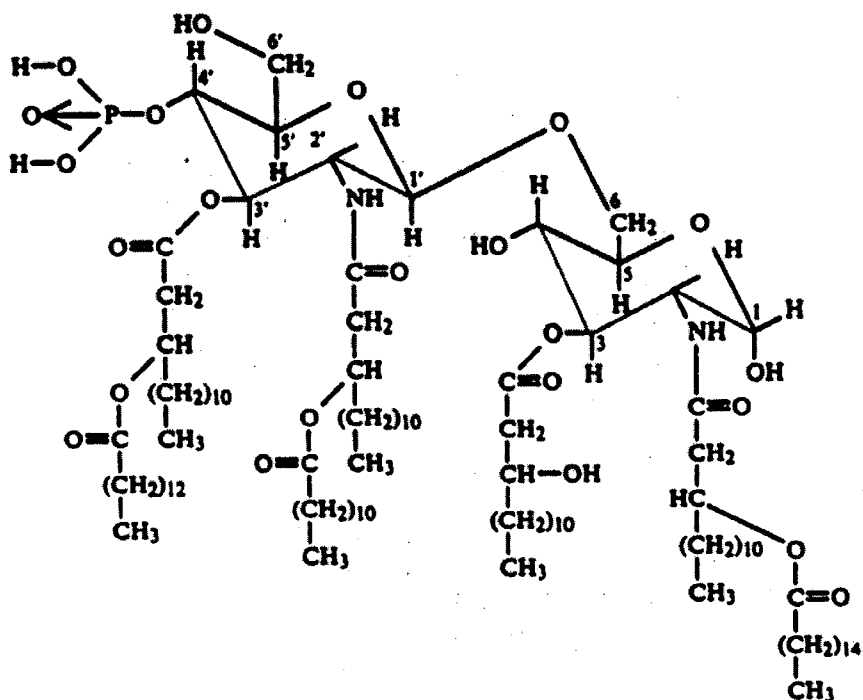
asociadas con la producción de las citoquinas INF-gamma por linfocitos T. Otras citoquinas a menudo directamente asociadas con la inducción de respuestas inmunes de tipo Th1 no están producidas por células T, tales como IL-12. Por el contrario, las respuestas de tipo Th2 están asociadas con la secreción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 y factor de necrosis tumoral beta (TNF-beta).

Se sabe que ciertos adyuvantes de vacuna son particularmente adecuados para la estimulación de respuestas de citoquinas de tipo Th1 o Th2. Tradicionalmente, los indicadores del equilibrio Th1:Th2 de la respuesta inmune después de una vacunación o infección incluyen la medición directa de la producción de citoquinas Th1 o Th2 por linfocitos T *in vitro* después de la re-estimulación con antígeno, y/o la medición (al menos en ratones) de la proporción IgG1:IgG2a de respuestas de anticuerpos específicos de antígeno.

Por tanto, un adyuvante de tipo Th1 es uno que estimule poblaciones de células T aisladas para producir altos niveles de citoquinas de tipo Th1 cuando se reestiman con antígeno *in vitro*, e induce respuestas de inmunoglobulinas específicas de antígeno asociadas con el isotipo de tipo Th1.

Los adyuvantes que son capaces de una estimulación con preferencia de la respuesta de células Th1 se describen en los documentos WO 94/00153 y WO 95/17209.

Se sabe desde hace tiempo que el lipopolisacárido enterobacteriano (LPS) es un estimulador potente del sistema inmune, aunque su uso en adyuvantes se ha restringido por sus efectos tóxicos. Se ha descrito (Ribi, 1986) un derivado no tóxico de LPS, monofosforil lípido A (MPL), producido por la retirada del grupo carbohidrato central y el fosfato del extremo reductor glucosamina, y tiene la siguiente estructura:



Una versión destoxificada adicional de MPL es el resultado de la retirada de la cadena acilo de la posición 3 del esqueleto disacárido, y se llama monofosforil lípido A 3-O-desacilado (3D-MPL). Puede purificarse y prepararse por los procedimientos mostrados en el documento GB 2122204B, referencia

5 que también describe la preparación de difosforil lípido A, y variantes 3-O-desaciladas del mismo.

Una forma particular de 3D-MPL para su uso en la presente invención es en forma de una emulsión que tiene un tamaño de partícula pequeño inferior a

10 0,2 μm de diámetro, y su procedimiento de fabricación se describe en el documento WO 94/21292. Se han descrito en el documento WO9843670 formulaciones acuosas que comprenden monofosforil lípido A y un tensioactivo.

Los adyuvantes derivados del lipopolisacárido bacteriano a usar en la presente invención pueden purificarse y procesarse a partir de fuentes

bacterianas, o como alternativa pueden ser sintéticos. Por ejemplo, monofosforil lípido A purificado se describe en Ribí y col. (Ribí, 1986), y monofosforil o difosforil lípido A 3-O-desacilado derivado de *Salmonella sp.* se describe en el documento GB 2220211 y el documento US 4912094. Se han
5 descrito otros lipopolisacáridos purificados y sintéticos (Hilgers, 1986; Hilgers, 1987; documento EP 0 549 074 B1). Un adyuvante de lipopolisacárido bacteriano particular para su uso en la invención es 3D-MPL.

Por consiguiente, los derivados de LPS que pueden usarse en la presente invención son los inmunoestimulantes que son similares en estructura
10 a la de LPS o MPL o 3D-MPL. En otra alternativa, los derivados de LPS pueden ser un monosacárido acilado, que es una sub-porción de la estructura anterior de MPL.

Las saponinas también son inmunoestimulantes de Th1. Las saponinas son adyuvantes bien conocidos (Lacaille-Dubois, 1996). Las saponinas
15 adecuadas para su uso en la invención incluyen saponinas inmunológicamente activas, por ejemplo Quil A (obtenida de la corteza del árbol Quillaja Saponaria Molina de América del Sur), y fracciones inmunológicamente activas de la misma, como se describe en el documento US 5.057.540 y "Saponins as vaccine adjuvants" (Kensil, 1996) y el documento EP 0 362 279 B1. Las
20 saponinas hemolíticas QS21 y QS17 (fracciones purificadas por HPLC de Quil A) se han descrito como adyuvantes sistémicos potentes, y el procedimiento para su producción se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.057.540 y documento EP 0 362 279 B1. También se describe en estas referencias el uso de QS7 (una fracción no hemolítica de Quil-A) que funciona como
25 adyuvante potente para vacunas sistémicas. El uso de QS21 se describe

adicionalmente en Kensil y col. (Kensil, 1991). También se conocen combinaciones de QS21 y polisorbato o ciclodextrina (documento WO 99/10008). Se describen sistemas adyuvantes particulares que comprenden fracciones de QuilA, tales como QS21 y QS7 en el documento WO 96/33739 y
5 el documento WO 96/11711.

El lipopolisacárido y los inmunoestimulantes de saponina descritos anteriormente para su uso en la invención se formulan junto con un vehículo de liposomas. Por ejemplo, el vehículo puede comprender liposomas que contienen colesterol como se describe en el documento WO 96/33739.

10 Se describen combinaciones de un monofosforil lípido A y un derivado de saponina en los documentos WO 94/00153; WO 95/17210; WO 96/33739; WO 98/56414; WO 99/12565; WO 99/11241, y la combinación de QS21 y 3D-MPL se describe en el documento WO 94/00153.

Por tanto, los sistemas adyuvantes adecuados para su uso en la
15 invención incluyen, por ejemplo, una combinación de un monofosforil lípido A, tal como 3D-MPL, junto con un derivado de saponina, particularmente la combinación de QS21 y 3D-MPL como se describe en el documento WO 94/00153. El sistema adyuvante incluye un vehículo de liposomas, por ejemplo liposomas que contienen colesterol, por ejemplo en una composición en la que
20 QS21 está inactivado en liposomas que contienen colesterol (DQ) como se describe en el documento WO 96/33739.

Por tanto, la saponina tal como QS21 también puede estar presente en o estar asociada con las membranas de los liposomas, como se describe en el documento WO 96/33739. El 3D-MPL u otro derivado de lípido A puede estar
25 presente inmovilizado en la membrana de los liposomas, o por fuera de los

liposomas, o ambos. Un adyuvante particular para su uso en la invención comprende los dos inmunoestimulantes QS21 y 3D-MPL, en una formulación con liposomas que contienen colesterol, en la que el 3D-MPL está inmovilizado en los liposomas y el QS21 está asociado con los liposomas.

- 5 La cantidad de la proteína de la presente invención presente en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunoprotectora sin efectos secundarios adversos significativos en vacunas típicas. Dichas cantidad variará dependiendo del inmunógeno específico y adyuvante específico que se empleen. Generalmente, se espera que cada
- 10 dosis comprenda 1-1000 μg de proteína, por ejemplo 1-200 μg , por ejemplo 10-100 μg . Una cantidad óptima para una vacuna particular puede determinarse por estudios convencionales que implican la observación de títulos de anticuerpos y otras respuestas en sujetos.

- Un programa de vacunación adecuado para su uso con la invención es
- 15 un curso principal antes de viajar a una región endémica de malaria que puede completarse por ejemplo al menos 2-4 semanas antes de la llegada a la región. Este curso principal puede implicar entre 1 y 3 dosis, por ejemplo 2 ó 3 dosis, administradas con un intervalo de al menos 7 días, o entre 1 y 4 semanas, o por ejemplo un mes entre las dosis. Un curso de vacunación principal puede
- 20 venir seguido por refuerzos repetidos cada seis meses mientras exista un riesgo de infección. Después pueden ser apropiadas vacunaciones de refuerzo periódicas antes de repetir el viaje a las regiones endémicas. Las cantidades adecuadas de proteína RTS,S por dosis son las que se han dado en este documento anteriormente.

Las vacunas de la invención pueden administrarse por cualquiera de una diversidad de vías tales como oral, tópica, subcutánea, a la mucosa (típicamente intravaginal), intravenosa, intramuscular, intranasal, sublingual, intradérmica o por supositorio.

- 5 La invención puede usarse adicionalmente en un régimen de sensibilización-refuerzo heterólogo.

En lugar de o además de dosis repetidas de la composición que contiene RTS,S u otro polipéptido, puede administrarse una forma diferente de la vacuna en un régimen de vacunación "sensibilización-refuerzo" heterólogo. La
10 composición de sensibilización y la composición de refuerzo tendrán al menos un antígeno en común, aunque no necesariamente una forma idéntica del antígeno; y puede ser una forma diferente del mismo antígeno.

Las inmunizaciones de sensibilización-refuerzo de acuerdo con la invención pueden realizarse de acuerdo con una combinación de proteína y
15 polinucleótido, particularmente formulaciones basadas en ADN. Dicha estrategia se considera eficaz para inducir respuestas inmunes amplias. Las vacunas proteicas potenciadas con adyuvante inducen principalmente respuestas inmunes de anticuerpos y células T auxiliares, mientras que el suministro de ADN en forma de plásmido o un vector vivo induce fuertes
20 respuestas de linfocitos T citotóxicos (CTL). Por tanto, la combinación de una vacunación proteica y de ADN proporcionará una amplia diversidad de respuestas inmunes.

Por tanto, la invención proporciona adicionalmente el uso de un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un
25 adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una

formulación de liposoma, como se describe en este documento, junto con un polinucleótido que codifica el antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo, en la fabricación de un kit farmacéutico para inmunizar viajeros a regiones endémicas contra infección productiva por malaria.

La invención también proporciona un kit que comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo proporcionado en forma liofilizada, un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, e instrucciones que especifican que el antígeno, adyuvante, y opcionalmente un vehículo adicional, tienen que mezclarse antes de la administración a un viajero a una región endémica, protegiendo de este modo a dicho viajero contra infección productiva por malaria.

Por tanto, cuando se usa RTS,S u otro polipéptido basado en la proteína CS como componente polipeptídico de un régimen de sensibilización-refuerzo, el componente polinucleotídico codificará la proteína CS o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma.

El ADN puede suministrarse como ADN desnudo tal como ADN plasmídico, o en forma de un vector vivo recombinante. Los vectores vivos para su uso en la invención pueden ser deficientes en la replicación. Ejemplos de vectores vivos que pueden usarse son vectores de poxvirus que incluyen vectores de poxvirus modificados, por ejemplo Virus Ankara Modificado (MVA), vectores de alfavirus, por ejemplo vectores del virus de la Encefalitis Equina Venezolana, o vectores de adenovirus por ejemplo un vector de adenovirus no

de seres humanos tal como un vector de adenovirus de chimpancés, o cualquier otro vector vivo adecuado.

Un adenovirus adecuado para su uso como vector vivo en una vacuna de sensibilización-refuerzo de acuerdo con la invención es un adenovirus de
5 seres humanos con baja sero-prevalencia tal como Ad5 o Ad35 o un adenovirus de origen no humano tal como un adenovirus de primate no humano tal como un adenovirus de simio. Los vectores pueden ser deficientes en la replicación. Típicamente, estos virus contienen una delección en E1 y pueden crecer en líneas celulares que están transformadas con un gen de E1.
10 Los adenovirus de simio adecuados son virus aislados de chimpancés. En particular, pueden usarse en la presente invención C68 (también conocido como Pan 9) (Véase la Patente de Estados Unidos N° 6083 716) y Pan 5, 6 y Pan 7 (documento WO 03/046124). Estos vectores pueden manipularse para insertar un polinucleótido heterólogo de acuerdo con la invención de modo que
15 puedan expresarse los polipéptidos de acuerdo con la invención. El uso, formulación y fabricación de dichos vectores adenovirales recombinantes se describen con detalle en el documento WO 03/046142.

Pueden inyectarse antígenos proteicos una vez o varias veces seguido por una o más administraciones de ADN, o puede usarse ADN primero para
20 una o más administraciones seguido por una o más inmunizaciones con proteínas. Puede ser beneficioso administrar primero el ADN, seguido por la proteína.

Por tanto, un ejemplo particular de inmunización sensibilización-refuerzo de acuerdo con la invención implica sensibilizar con una única dosis de un
25 polinucleótido en forma de un vector vivo recombinante tal como cualquiera de

los descritos anteriormente, seguido por refuerzo con una o más dosis, por ejemplo 2 ó 3 dosis, de la proteína potenciada tal como RTS,S con un adyuvante descrito en este documento. El polinucleótido codifica la misma proteína (por ejemplo, proteína CS) o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma.

Por tanto, la invención proporciona adicionalmente un kit farmacéutico que comprende

a) un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, y

b) un polinucleótido que codifica el antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo;

en el que a) y b) son para su uso secuencial en cualquier orden, pero particularmente en el que b) se usa como la sensibilización y a) se usa como el refuerzo. La invención también proporciona instrucciones con dicho kit, que especifican que, con respecto a a), el antígeno, adyuvante, y opcionalmente un vehículo adicional, tienen que mezclarse antes de la administración a un viajero a una región endémica.

La composición a) puede ser cualquier composición polipeptídica como se describe en este documento, en un adyuvante adecuado como se describe en este documento. Por ejemplo a) puede ser una composición que comprende RTS,S y un adyuvante que comprende QS21 y 3D-MPL en una formulación de liposoma, y b) puede ser un vector vivo como se describe en este documento tal como un vector de adenovirus, por ejemplo, un vector de adenovirus de

chimpancés, que codifica la proteína CS o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma.

Tanto la composición de sensibilización como la composición de refuerzo pueden suministrarse en más de una dosis. Además, las dosis de
5 sensibilización inicial y refuerzo pueden venir seguidas por dosis adicionales que pueden alternarse para producir, por ejemplo, una sensibilización con ADN / refuerzo con proteínas / dosis adicional de ADN / dosis adicional de proteínas.

Los diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados para su uso en la invención son bien conocidos en la técnica e incluyen, por
10 ejemplo, agua o tampones. La preparación de la vacuna está descrita en líneas generales (Powell, 1995; Voller, 1978). La encapsulación en liposomas está descrita, por ejemplo, por Fullerton, Patente de Estados Unidos 4.235.877. La conjugación de proteínas a macromoléculas está descrita, por ejemplo, por Likhite, Patente de Estados Unidos 4.372.945 y por Armor y col., Patente de
15 Estados Unidos 4.474.757.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para determinar si un individuo está protegido contra la malaria después de la administración de una composición de antígeno de la malaria, en particular una
composición de antígeno de malaria pre-eritrocítica, al individuo,
20 comprendiendo dicho procedimiento medir el nivel de células T CD4 surgidas en el individuo específicas para el antígeno de la malaria. También se proporciona un procedimiento para determinar si un individuo está protegido contra malaria después de la administración de una composición de antígeno de malaria, en particular una composición de antígeno de malaria pre-
25 eritrocítica, al individuo, comprendiendo dicho procedimiento medir la

concentración de anticuerpos surgidos en el individuo específico para el antígeno de malaria

En un aspecto adicional, la invención proporciona un procedimiento para evaluar la eficacia de una vacuna candidata, particularmente una vacuna candidata pre-eritrocítica, en la prevención de la malaria, procedimiento que comprende medir el nivel de células CD4 surgidas en un individuo contra la vacuna candidata. También se proporciona un procedimiento para evaluar la eficacia de una vacuna candidata, particularmente una vacuna candidata pre-eritrocítica, en la prevención de la malaria, procedimiento que comprende medir la concentración de anticuerpos específicos surgidos en un individuo contra la vacuna candidata. En una realización más específica, esta vacuna comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma.

15

Ejemplos

Ejemplo 1: Vacunación usando RTS,S y Adyuvante B y estimulación experimental con malaria.

Las Vacunas

20 RTS,S: RTS es una cadena polipeptídica híbrida de 51 kDa de 424 aminoácidos (a.a.), que consta de 189 aminoácidos derivados de un antígeno superficial de esporozoíto (la repetición en tándem central de la proteína CS y las regiones carboxilo-terminales, 189 aminoácidos en total) de la cepa NF54 del parásito de la malaria *P. falciparum* (el antígeno CSP, a.a. 207 a 395),
25 fusionada con el extremo amino terminal de la proteína S del virus de la

hepatitis B. S es un polipéptido de 24 kDa (226 aminoácidos de longitud) que corresponde al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), y es el antígeno usado en la vacuna Engerix-B® de GSK Biologicals.

Las dos proteínas se producen de forma intracelular en levaduras (*S. cerevisiae*) y se ensamblan espontáneamente en estructuras particuladas poliméricas mixtas que se estima que cada una contiene aproximadamente 100 polipéptidos.

La preparación de RTS,S se describe en el documento WO 93/10152.

Una dosis completa de RTS,S/AS02A (GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Bélgica) contiene 50 µg de antígeno RTS,S liofilizado, reconstituido en 500 µl de adyuvante AS02A - emulsión de aceite en agua que contiene los inmunoestimulantes 3D-MPL® (GlaxoSmithKline Biologicals, Montana, Estados Unidos) y QS21, 50 µg de cada uno.

Una dosis completa de RTS,S/Adyuvante B (GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Bélgica) contiene 50 µg de antígeno RTS,S liofilizado, reconstituido en 500 µl de adyuvante B que contiene los inmunoestimulantes 3D-MPL® y QS21 (50 µg de cada uno) en una formulación con liposomas que contienen colesterol. Los liposomas pueden prepararse a partir de una mezcla de fosfatidilcolina des-oleica (DOPC), colesterol y 3D-MPL en un disolvente orgánico, donde la mezcla está secada. Después, se añade una solución acuosa para suspender el lípido. La suspensión se microfluidiza hasta que el tamaño del liposoma se reduce para poder filtrarse a esterilidad a través de un filtro de 0,2 µm. Típicamente, la proporción de colesterol:fosfatidilcolina es de 1:4 (p/p), y la solución acuosa se añade para dar una concentración final de

colesterol de 5 a 50 mg/ml. Se añade QS21 a los liposomas que contienen colesterol.

Metodología

5 Este ensayo clínico ha evaluado la seguridad, reactogenicidad, inmunogenicidad y eficacia preliminar de una vacuna contra la malaria que contiene el antígeno RTS,S potenciado con adyuvante AS02A o adyuvante B.

Se reclutaron 103 sujetos en dos cohortes y se aleatorizaron para recibir 3 dosis de cada vacuna de acuerdo con un programa de vacunación de 0, 1, 2
10 meses. A causa de la gran cantidad de sujetos implicados, las cohortes se reclutaron y estimularon secuencialmente.

Para cada cohorte, se pidió a los voluntarios que experimentaran una estimulación con malaria principal normalizada (Chulay, 1986) de dos a cuatro semanas después de la tercera dosis. La estimulación principal implicó permitir
15 que cinco mosquitos *Anopheles stephensi* infectados con esporozoítos de *P. falciparum* se alimentaran de cada voluntario de estimulación durante un periodo de cinco minutos. Para cada cohorte, también se estimularon doce voluntarios de control no vacunados.

Aproximadamente seis meses después de la estimulación principal, a los
20 voluntarios que fueron protegidos en la estimulación principal se les pidió que experimentaran una estimulación repetida. No se administraron dosis adicionales de la vacuna entre las estimulaciones. La estimulación repetida se realizó según la estimulación principal. Para cada cohorte, también se estimularon seis voluntarios de control no vacunados.

Después de cada estimulación, se siguió diariamente a los sujetos durante un periodo de al menos 30 días para evaluar si se habían infectado con malaria. El procedimiento principal para detectar infección fue una evaluación de un frotis de sangre periférica con tinción con Giesma para detectar parásitos en fase asexual por microscopía óptica. Esto indica que un sujeto ha experimentado una infección productiva, habiéndose liberado parásitos del hígado y habiendo progresado a fase eritrocítica. Por tanto, la protección estéril contra estimulación no se ha conseguido. Al primer signo de infección los sujetos se declararon positivos para la malaria y recibieron una dosis de curación de cloroquina. La lectura de eficacia principal fue protección estéril, es decir, que el sujeto nunca desarrolló parasitemia en fase asexual. Además, se registró el tiempo entre la estimulación y la aparición de parasitemia en aquellos que no estuvieron completamente protegidos.

Además, se recogieron muestras de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) antes de la vacunación, y 2 semanas después de la vacunación II y 14-28 días después de la vacunación III (Día de estimulación: DOC).

Se usaron muestras de PBMC para evaluar las respuestas de células T CD4 y CD8 por citometría de flujo de citoquinas. La última tecnología permite la cuantificación de células T específicas para un antígeno dado. Se contaron las células T CD4 y CD8 específicas de antígeno por citometría de flujo después de marcaje convencional por inmunofluorescencia del fenotipo celular así como la producción de citoquinas intracelulares. En resumen, pueden reestimularse células T CD4 y CD8 específicas de antígeno de sangre periférica in vitro para que produzcan IL-2, CD40L, TNF-alfa o IFN-gamma cuando se incuban con su

antígeno correspondiente. Se usaron combinaciones de péptido tanto HBs (antígeno de superficie de la hepatitis B) como CSP, como antígenos para reestimar las células T específicas de antígeno. Los resultados se expresaron como frecuencia de células T CD4 o CD8 que expresan al menos dos
 5 diferentes citoquinas entre CD40L, IL-2, TNF-alfa, o IFN-gamma en la subpoblación de células T CD4 o CD8.

Los niveles de anticuerpo se determinan evaluando las respuestas de anticuerpos (IgG) a la región repetida CS de *P. falciparum* como se mide usando metodologías ELISA convencionales con la proteína recombinante
 10 R32LR como antígeno de captura. En resumen, la proteína R32LR [correspondiente a la región repetida (NANP) de la proteína circumsporozoito de Plasmodium falciparum (CSP)] se recubre en una placa de 96 pocillos. Después de la saturación de las placas, se añaden diluciones en serie de muestras de suero directamente a las placas. Los anticuerpos a R32LR
 15 presente en la muestra de suero se unirá a la R32LR pre-recubierta. Las placas se lavan. Se añade un anticuerpo de cabra anti-humano (IgG (γ) marcado con peroxidasa, y se unirá a anticuerpos anti-CS IgG. Después de otra etapa de lavado, la adición de una solución de sustrato de cromógeno específica para la peroxidasa proporciona un medio de detectar anti-CS IgG unido al antígeno
 20 pre-recubierto. La peroxidasa cataliza una reacción de color. La intensidad de color formado es proporcional al título de los anticuerpos anti-CS IgG contenidos en el suero. Los niveles de anticuerpos anti-repetición se determinan con relación a un ensayo patrón en suero conocido en cada placa, y se expresan en $\mu\text{g/ml}$.

Resultados

Cohorte 1:

Adyuvante	Cantidad de voluntarios vacunados	Cantidad de voluntarios estimulados (cantidad protegida)	Cantidad de voluntarios reestimulados (cantidad protegida)
Adyuvante B	26	17 (10)	5 (3)
AS02A	25	24 (9)	5 (1)
TOTAL:	51	41	10

Cohorte 2:

Adyuvante	Cantidad de voluntarios vacunados	Cantidad de voluntarios estimulados (cantidad protegida)	Cantidad de voluntarios reestimulados (cantidad protegida)
Adyuvante B	Dato no disponible	19 (8)	No hecho
AS02A	Dato no disponible	20 (5)	No hecho
TOTAL:	52	39	

5

Cohortes 1 y 2 combinadas para la estimulación principal:

Adyuvante	Cantidad de voluntarios vacunados y estimulados (estimulación principal)	Cantidad de voluntarios protegidos	Cantidad de voluntarios infectados	Eficacia de la vacuna
Adyuvante B	36	18	18	50%
AS02A	44	14	30	32%

Por tanto, en este estudio, se descubrió que el adyuvante B era más eficaz para proteger individuos vírgenes contra infección por malaria. El 50% de los individuos estimulados del grupo de adyuvante B estuvieron protegidos en comparación con el 32% de los individuos estimulados del grupo AS02A. Esto
5 representa una mejora en la protección entre los dos adyuvantes de más del 50%.

Además, en la cohorte 1, se descubrió que el adyuvante B era significativamente más potente que AS02A para inducir respuestas de células T CD4 dirigidas contra antígenos presentes en RTS,S (Figura 1. $p = 0,01663$).
10 Los datos combinados para las cohortes 1 y 2 fueron menos significativos (Figura 2. $p = 0,07$).

Antes de la vacunación, no hubo respuestas de células T CD4/CD8 detectables dirigidas contra HBs o CSP. Por el contrario, se detectaron células T CD4 específicas de HBs y CSP 2 semanas después de la vacunación II así
15 como 2 semanas después de la vacunación III (DOC: día de estimulación) en la mayoría de los individuos vacunados con ambas formulaciones. En los mismos momentos puntuales, no se observaron respuestas de células T CD8 detectables. Estas observaciones demuestran que el ensayo usado para el control inmune de células T es específico y sensible, que es un prerrequisito
20 para realizar una comparación formal entre grupos que están recibiendo formulaciones diferentes de vacunas.

La **Figura 1** muestra que los individuos de la cohorte 1 vacunados con RTS,S/adyuvante B tienen una frecuencia superior de células T CD4 específicas de CSP en comparación con los vacunados con RTS,S/AS02A 2
25 semanas después tanto de la vacunación II como de la vacunación III (DOC).

Puede sacarse una conclusión similar para células T CD4 específicas de HBs que producen IFN-gamma y otra citoquina entre IL-2, CD40L, TNF-alfa 2 semanas después de la vacunación II (datos no mostrados).

La Figura 2 muestra el mismo estudio que la Figura 1, excepto que
5 incorpora los datos de ambas cohortes.

En las Figuras 1 y 2, los resultados se expresan como una frecuencia de células T CD4 que expresan al menos dos citoquinas diferentes entre CD40L, IL-2, TNF-alfa, o IFN-gamma en 10^6 células T CD4.

Una imagen similar se puede observar en términos de respuestas de
10 anticuerpo específicos anti-CSP. De la Figura 5 se puede observar que la concentración de anticuerpos surgidos en respuesta a RTS,S / Adyuvante B era significativamente mayor que la concentración surgida en respuesta a RTS,S / AS02A (véase particularmente DOC - 2 semanas después de la vacunación III ($P = 0,00793$), pero se puede apreciar un efecto 2 semanas
15 después de la vacunación II). Los resultados se expresan como media geométrica de la concentración (GMC). Pre se refiere al momento inicial, antes de que se administren cualesquiera dosis.

M1 se refiere al momento 2 semanas después de la primera dosis.

M1 se refiere al momento 2 semanas después de la segunda dosis.

20 DOC se refiere a la 'fecha de estimulación', que es 2 semanas después de la tercera dosis.

*La protección contra la estimulación con la malaria está asociada con una respuesta de células T CD4 superior significativa y respuesta de anticuerpo
25 específico a CSP.*

La inmunogenicidad aumentada de RTS,S/adyuvante B en comparación con RTS,S/AS02A no implica necesariamente que se traduzca en un efecto biológicamente relevante. Sin embargo, los individuos vacunados con RTS,S/adyuvante B en este ensayo han mostrado un nivel aumentado de
5 protección (18 de 36 individuos: 50%) contra estimulación con la malaria en comparación con los vacunados con RTS,S/AS02A (14 de 44 individuos: 32%). Por lo tanto, se ha descubierto una posible unión entre la amplitud de la respuesta de células T CD4 y la protección contra la malaria.

Si la hipótesis anterior es cierta, los individuos protegidos deben tener
10 una respuesta de células T CD4 superior que los individuos vacunados con RTS,S/AS02A o incluso RTS,S/adyuvante B. Las **Figuras 3 y 4**, para la 1ª cohorte y las cohortes combinadas respectivamente (con ambos grupos de adyuvantes combinados), confirman claramente la hipótesis anterior y apoyan la idea de que las células T CD4 específicas de CSP juegan un papel
15 significativo en la protección. Por consiguiente, el análisis estadístico hecho sobre las muestras recogidas 2 semanas después de la vacunación II así como 2 semanas después de la vacunación III demuestran que la diferencia en la frecuencia entre individuos protegidos y no protegidos es estadísticamente significativa.

20 En las Figuras 3 y 4 los resultados se expresan como una frecuencia de células T CD4 que expresan al menos dos citoquinas diferentes entre CD40L, IL-2, TNF-alfa, o IFN-gamma en 10^6 células T CD4. Los análisis de inmunogenicidad también indican que, en contraste con células T CD4 específicas de CSP, las células T CD4 específicas de HBs no están asociadas
25 con la protección contra la malaria 2 semanas después de la vacunación II así

como 2 semanas después de la vacunación III ($p = 0,14$ y $p = 0,053$, respectivamente). Esto consolida adicionalmente la relevancia de los resultados anteriores y sugiere fuertemente que la protección está específicamente unida a la presencia de células T CD4 capaces de reconocer péptidos CSP pero no péptidos HBs.

Finalmente, como no hay una respuesta de células T CD8 detectable, puede también concluirse que, muy probablemente, la protección contra la fase pre-eritrocítica de la malaria otorgada por RTS,S potenciada con adyuvante B o AS02A no se debe a la inducción de células T CD8 específicas de CSP después de la vacunación.

Una imagen similar se observa a partir del control de las respuestas del anticuerpo anti-CSP. **La figura 6** muestra la concentración de anticuerpos en individuos protegidos y no protegidos (los resultados se refieren a ambas cohortes con ambos grupos de adyuvantes reunidos).

Está claro que aquellos individuos que están protegidos muestran una concentración de anticuerpos significativamente mayor que las de los no protegidos ($P < 0,0001$).

Discusión

Los resultados anteriores demuestran claramente que existe una asociación entre la respuesta de células T CD4 específicas de CSP y del anticuerpo por una parte y el estado protector por otra parte contra la estimulación con malaria. El mecanismo por el que las células T CD4 específicas de CSP o anticuerpos podrían ejercer un efecto anti-parasitario no es conocido. Sin embargo, el análisis también identifica claramente una minoría de individuos que tiene una alta respuesta de células T CD4 o de anticuerpo

alta que no están protegidos. Esto significa que la respuesta de células T CD4 fuerte o respuesta de anticuerpo alta contra CSP sola no predice la protección contra estimulación con malaria.

Se han desarrollado tecnologías diferentes para controlar las respuestas de células T tales como linfoproliferación, secreción de citoquinas, tinción con tetrámeros, elipsot o citometría de flujo de citoquinas. La última se ha seleccionado recientemente como tecnología principal en base a los datos de repetibilidad/reproducibilidad excelentes así como una detección de marcadores determinantes (CD4, CD8, CD40L, IL-2, TNF, IFNg). También se ha identificado una metodología analítica específica, que resuelve la cuestión de fondo elevada a menudo observada con enfoques de citometría de flujo de citoquinas. El presente informe demuestra la viabilidad de usar citometría de flujo de citoquinas para controlar bien las respuestas de células T en un ensayo clínico en seres humanos. Además, también demuestra que es posible identificar un marcador de protección que no está directamente relacionado con la inmunidad humoral.

Aunque se ha demostrado que el adyuvante B es significativamente más potente que la formulación con AS02A para inducir células T CD4 específicas de CSP y anticuerpos, la diferencia en términos de frecuencia de células T CD4 y concentraciones de anticuerpo es relativamente moderada y podría concluirse que puede no ser biológicamente relevante. Los datos obtenidos en este ensayo clínico permiten una evaluación formal de la relevancia biológica de dichas diferencias usando datos de protección contra la malaria como marcador biológicamente relevante. El análisis indica claramente que las diferencias moderadas pero significativas entre adyuvantes en términos de

frecuencias de células T y concentraciones de anticuerpo se traducen en un grado significativamente superior de protección contra estimulación con malaria.

Referencias

- 5 • Alonso P y col. (2004) *Efficacy of the RTS,S/AS02A vaccine against Plasmodium falciparum infection and disease in young African children: randomised controlled trial*. Lancet Oct; 364: 1411-1420.
- Alonso y col. (2005) *Duration of protection with RTS,S/AS02A malaria vaccine in prevention of Plasmodium falciparum disease in Mozambican children: single-blind extended follow-up of a randomised controlled trial*. Lancet. Dec 10; 366 (9502): 2012-8.
- 10 • Ballou WR, Arevalo-Herrera M, Carucci D, Richie TL, Corradin G, Diggs C, y col. (2004) *Update on the clinical development of candidate malaria vaccines*. Am J Trop Med Hyg; 71 (supl 2): 239-247.
- 15 • Bojang KA, Milligan PJM, Pinder M, Vigneron L, Alloueche A, Kester KE, y col. (2001) *Efficacy of RTS,S/AS02 malaria vaccine against Plasmodium falciparum infection in semi-immune adult men in The Gambia: a randomised trial*. The Lancet; 358 (9297): 1927-1934.
- Bojang KA,, Olodude F, Pinder M, Ofori-Anyinam O, Vigneron L, Fitzpatrick S, Njie F, Kassanga A, Leach A, Milman J, Rabinovich R, McAdam KPWJ, Kester KE, Heppner DG, Cohen JD, Tornieporth N, and Milligan PJM. (2005) *Safety and immunogenicity of RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine in Gambian children*. Vaccine 23 (32): 4148-57.
- 20

- Breman JG, Alilio MS, Mills A. (2004) *The intolerable burden of malaria: what's new, what's needed*. Am J Trop Med Hyg; 71(supl. 2): 0-i-.
- Caspers y col. (1989) *The circumsporozoite protein gene from NF54, a Plasmodium falciparum isolate used in malaria vaccine trials*. Mol. Biochem. Parasitol 35, 185-190.
- Chulay y col. (1986) *Malaria transmitted to humans by mosquitoes infected from cultured Plasmodium falciparum*. Am J Trop Med Hyg. Jan: 35 (1): 66-8.
- Doherty J, Pinder M, Tornieporth N, Carton C, Vigneron L, Milligan P, y col. (1999) *A phase I safety and immunogenicity trial with the candidate malaria vaccine RTS,S/SBAS2 in semi-immune adults in The Gambia*. Am J Trop Med Hyg; 61 (6): 865-868.
- Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, Noor AM, Snow RW. (2004) *The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future*. The Lancet Infectious Diseases; 4 (6): 327-336.
- Hilgers y col. (1986). *Synergistic effects of synthetic adjuvants on the humoral immune response*. Int. Arch. Allergy. Immunol., 79 (4): 392-6.
- Hilgers y col. (1987). *Synthetic sulpholipopolysaccharides: novel adjuvants for humoral immune responses*. Immunology, 60 (1): 141-6.
- Hoffman SL (1996) "Malaria Vaccine Development: a multi-immune response approach" Am Soc Microbiol Press Ed Hoffman SL, capítulo 3 "Attacking the infected hepatocyte"
- Kensil CR, Patel U, Lennick M, Marciani D. (1991) *Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from Quillaja saponaria Molina cortex*. J. Immunology vol 146, 431-437.

- Kensil, C. R. (1996) *Saponins as vaccine adjuvants*. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 12 (1-2):1-55.
- Kester KE, McKinney DA, Tornieporth N, y col. (2001) *Efficacy of recombinant circumsporozoite protein vaccine regimens against experimental Plasmodium falciparum malaria*. J.Infect.Dis.; 183 (4): 640-7.
- Lacaille-Dubois, M and Wagner H.,(1996) *A review of the biological and pharmacological activities of saponins*. Phytomedicine vol 2 págs. 363-386.
- 10 • Lalvani A, Moris P, Voss G, y col. (1999) *Potent induction of focused Th1-type cellular and humoral immune responses by RTS,S/SBAS2, a recombinant Plasmodium falciparum malaria vaccine*. J. Infect. Dis.; 180 (5): 1656-64.
- Macete E, Aponte JJ, Guinovart C, Sacarlal J, Mandomando I, Espasa M, y col. *Safety, reactogenicity and immunogenicity of the RTS,S/AS02A candidate malaria vaccine in children aged 1 to 4 years in Mozambique*. Vaccine submitted.
- 15 • Mosmann, T.R. and Coffman, R.L. (1989) *Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties*. Annual Review of Immunology, 7, pág. 145-173.
- 20 • Musti A.M. y col., (1983) *Transcriptional mapping of two yeast genes coding for glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase isolated by sequence homology with the chicken gene*. Gene 1983, 25 133-143.

- Powell and Newman (Editors) (1995) *Vaccine Design - the subunit and adjuvant approach*. Pharmaceutical Biotechnology, Vol. 61, Plenum Press Nueva York.
- 5 • Ribi y col. (1986) *Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by a structurally established nontoxic lipid A*. Immunobiology and Immunopharmacology of bacterial endotoxins. Plenum Publ. Corp., NY, págs. 407-420.
- 10 • Stoute J, Slaoui M, Heppner D, Momin P, Kester K, Desmons P, y col. (1997) *A preliminary evaluation of a recombinant circumsporozoite protein vaccine against Plasmodium falciparum malaria. RTS,S Malaria Vaccine Evaluation Group*. N Engl J Med; 336 (2): 86-91.
- 15 • Stoute, JA, Kester KE, Krzych U, Wellde BT, Hall T, White K, Glenn G, Ockenhouse CF, Garçon N, Schwenk R, Lanar DE, Momin P, Golenda C, Slaoui M, Wortmann G, Cohen J, Ballou WR. (1998) *Long Term Efficacy and Immune Responses Following Immunization with the RTS,S Malaria Vaccine*. J Infect Dis 178: 1139-44.
- 20 • Sun P, Schwenk R, White K, Stoute JA, Cohen J, Ballou WR, Voss G, Kester KE, Heppner DG, Krzych U. (2003) *Protective immunity induced with malaria vaccine, RTS,S, is linked to Plasmodium falciparum circumsporozoite protein-specific CD4(+) and CD8(+) T cells producing IFN-gamma*. J Immunol. Dec 15; 171 (12): 6961-7.
- Valenzuela P, Gray P, Quiroga M, Zaldivar J, Goodman H, Rutter W. (1979) *Nucleotide sequence of the gene coding for the major protein of hepatitis B virus surface antigen*. Nature 280, 815 - 819.

- Voller y col. (Editor) (1978) *New Trends and Developments in Vaccines*.
University Park Press, Baltimore, Maryland, Estados Unidos.

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

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, en la fabricación de un medicamento para inmunizar viajeros a regiones endémicas contra infección productiva por malaria.
- 10 2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el antígeno de *Plasmodium* es la proteína circumsporozoíto (CS) o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma capaz de provocar una respuesta inmune contra *Plasmodium*.
- 15 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la proteína CS o fragmento se fusiona con el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).
- 20 4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la proteína CS o fragmento está en forma de una proteína híbrida que comprende sustancialmente toda la porción C-terminal de la proteína CS de *Plasmodium*, cuatro o más repeticiones en tándem de la región inmunodominante de la proteína CS, y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).

5. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la proteína híbrida comprende una secuencia de la proteína CS de *P. falciparum* que corresponde sustancialmente a los aminoácidos 207-395 de la proteína CS del clon 3D7 de la cepa NF54 de *P. falciparum* fusionada en fase
5 mediante un enlazante lineal al extremo N-terminal de HBsAg.
6. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la proteína híbrida es RTS.
- 10 7. El uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el RTS está en forma de partículas RTS,S mixtas.
8. El uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la cantidad de RTS,S es 25 ó 50 µg por dosis.
- 15 9. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el adyuvante comprende 3D-MPL y QS21.
10. El uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el QS21 está
20 inactivado en liposomas que contienen colesterol.
11. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, junto con un polinucleótido que codifica el antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo, en el que la mezcla antígeno/adyuvante y
25 el polinucleótido son para su uso secuencial en cualquier orden.

12. El uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el polinucleótido se usa primero.

5 13. Una formulación que comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante, que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, para su uso en la inmunización de viajeros a regiones endémicas contra infección productiva por malaria.

10

14. Una formulación de acuerdo con la reivindicación 13, en la que el antígeno de *Plasmodium* es la proteína circumsporozoíto (CS) o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma, capaz de provocar una respuesta inmune contra *Plasmodium*.

15

15. Una formulación de acuerdo con la reivindicación 14, en la que la proteína CS o fragmento se fusiona con el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).

20 16. Una formulación de acuerdo con la reivindicación 15, en la que la proteína CS o fragmento está en forma de una proteína híbrida que comprende sustancialmente toda la porción C-terminal de la proteína CS de *Plasmodium*, cuatro o más repeticiones en tándem de la región inmunodominante de la proteína CS, y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).

25

17. Una formulación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en la que la proteína híbrida comprende una secuencia de la proteína CS de *P. falciparum* que corresponde sustancialmente a los aminoácidos 207-395 de la proteína CS del clon 3D7 de la cepa NF54 de *P. falciparum* fusionada en fase mediante un enlazante lineal al extremo N-terminal de HBsAg.
18. Una formulación de acuerdo con la reivindicación 17, en la que la proteína híbrida es RTS.
19. Una formulación de acuerdo con la reivindicación 18, en la que el RTS está en forma de partículas RTS,S mixtas.
20. Una formulación de acuerdo con la reivindicación 19, en la que la cantidad de RTS,S es 25 ó 50 µg por dosis.
21. Una formulación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 20, en la que el adyuvante comprende 3D-MPL y QS21.
22. Una formulación de acuerdo con la reivindicación 21, en la que QS21 está inactivado en liposomas que contienen colesterol.
23. Una formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 22, para su uso como parte de un régimen de sensibilización/refuerzo, en la que una parte adicional comprende un polinucleótido que codifica el antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo, en la que la

mezcla antígeno/adyuvante y el polinucleótido son para su uso secuencial en cualquier orden.

24. La formulación de acuerdo con la reivindicación 23, en la que el
5 polinucleótido se usa primero.

25. Un procedimiento para la profilaxis de infección productiva por malaria en viajeros a regiones endémicas que comprende la administración de cantidades adecuadas de una formulación que comprende un antígeno de
10 *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante, que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma.

26. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 25, en el que el
15 antígeno de *Plasmodium* es la proteína circumsporozoíto (CS) o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma capaz de provocar una respuesta inmune contra *Plasmodium*.

27. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 26, en el que la
20 proteína CS o fragmento se fusiona con el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).

28. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 27, en el que la
25 proteína CS o fragmento está en forma de una proteína híbrida que comprende sustancialmente toda la porción C-terminal de la proteína CS de *Plasmodium*,

cuatro o más repeticiones en tándem de la región inmunodominante de la proteína CS, y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).

29. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 25 a 28, en el que la proteína híbrida comprende una secuencia de la proteína CS de *P. falciparum* que corresponde sustancialmente a los aminoácidos 207-395 de la proteína CS del clon 3D7 de la cepa NF54 de *P. falciparum* fusionada en fase mediante un enlazante lineal al extremo N-terminal de HBsAg.

10 30. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 29, en el que la proteína híbrida es RTS.

31. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 30, en el que el RTS está en forma de partículas RTS,S mixtas.

15

32. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 31, en el que la cantidad de RTS,S es 25 ó 50 µg por dosis.

33. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 20 25 a 32, en el que el adyuvante comprende 3D-MPL y QS21.

34. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 33, en el que QS21 está inactivado en liposomas que contienen colesterol.

35. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 25 a 34, que comprende adicionalmente la administración de un polinucleótido que codifica el antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo, para su uso en un régimen de sensibilización/refuerzo.

5

36. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 35, en el que el polinucleótido se usa primero.

37. El uso de un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, en la fabricación de un kit para inmunizar viajeros a regiones endémicas contra infección por malaria, en el que el antígeno se proporciona en forma liofilizada y el antígeno y el adyuvante se mezclan antes de la administración.

15

38. El uso de acuerdo con la reivindicación 37, en el que el antígeno de *Plasmodium* es la proteína de circumsporozoíto (CS) o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma capaz de provocar una respuesta inmune contra *Plasmodium*.

20

39. Un kit que comprende;

- un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo proporcionado en forma liofilizada,
- un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma, e

25

- instrucciones que especifican que el antígeno, adyuvante, y opcionalmente un vehículo adicional, tienen que mezclarse antes de la administración a un viajero a una región endémica, protegiendo de este modo a dicho viajero contra infección productiva por malaria.

40. Un kit de acuerdo con la reivindicación 39, que comprende adicionalmente un polinucleótido que codifica el antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo;
- 10 en el que la mezcla antígeno/adyuvante y el polinucleótido son para su uso secuencial en cualquier orden, pero particularmente en el que el polinucleótido se usa como sensibilización y la mezcla antígeno/adyuvante se usa como refuerzo.
- 15 41. Un kit de acuerdo con las reivindicaciones 39 ó 40, en el que el antígeno de *Plasmodium* es la proteína de circumsporozoíto (CS) o un fragmento inmunogénico o derivado de la misma, capaz de provocar una respuesta inmune contra *Plasmodium*.
- 20 42. Un procedimiento para evaluar la eficacia de una vacuna candidata, en particular una vacuna candidata pre-eritrocítica, en la prevención de la malaria, comprendiendo dicho procedimiento medir el nivel de células CD4 surgidas en un individuo contra la vacuna candidata.

43. Un procedimiento para evaluar la eficacia de una vacuna candidata, en particular una vacuna candidata pre-eritrocítica, en la prevención de la malaria, comprendiendo dicho procedimiento medir la concentración de anticuerpos específicos surgidos en un individuo contra la vacuna candidata.
- 5
44. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 42 o la reivindicación 43, en el que la vacuna comprende un antígeno de *Plasmodium* o un fragmento inmunogénico o derivado del mismo y un adyuvante que comprende un derivado de lípido A y una saponina en una formulación de liposoma.
- 10
45. Un procedimiento para determinar si un individuo está protegido contra la malaria después de la administración de una composición de antígeno de la malaria, en particular una composición de antígeno pre-eritrocítica, al individuo, dicho procedimiento comprende medir el nivel de células T CD4 surgidas en el
- 15 individuo específicas para el antígeno de la malaria.
46. Un procedimiento para determinar si un individuo está protegido contra la malaria después de la administración de una composición de antígeno de la malaria, en particular una composición de antígeno pre-eritrocítica, al individuo,
- 20 dicho procedimiento comprende medir la concentración de anticuerpos surgidos en el individuo específicos para el antígeno de la malaria.

Figura 1 - Respuesta de Células T CD4 Contra CSP (Primera Cohorte)

5

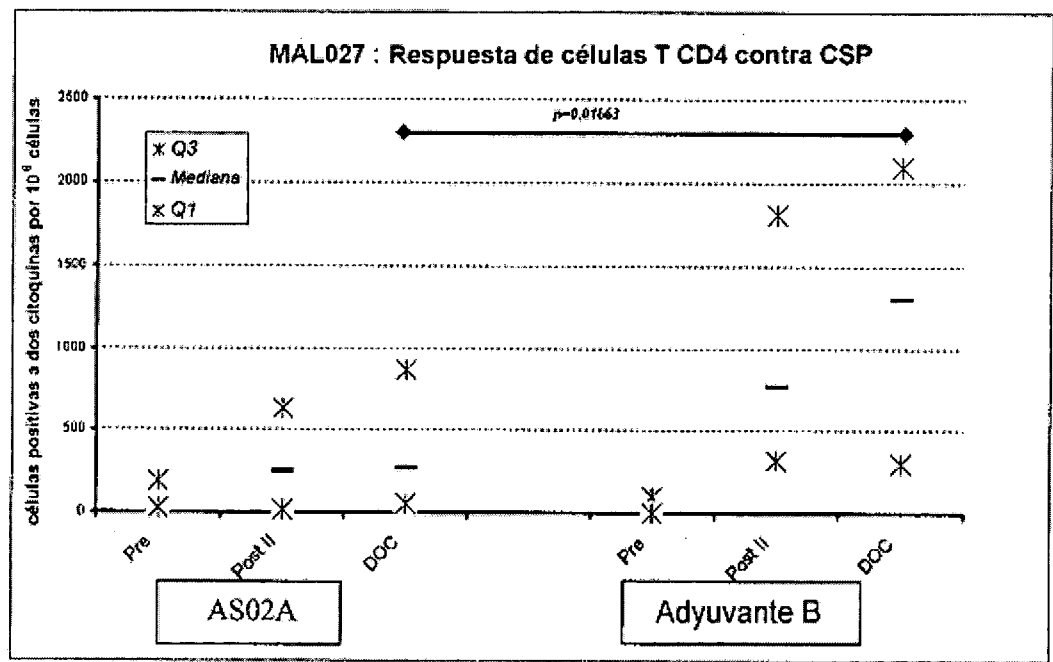


Figura 2 - Respuesta de Células T CD4 Contra CSP (Ambas Cohortes)

5

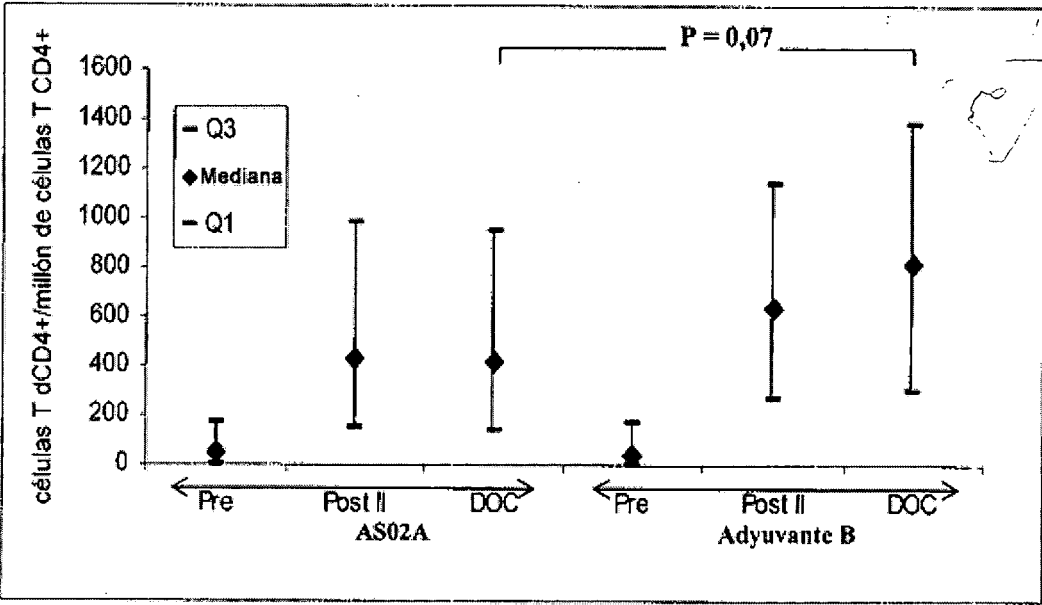


Figura 3 - Respuesta de Células T CD4 Contra CSP (Primera Cohorte)

5

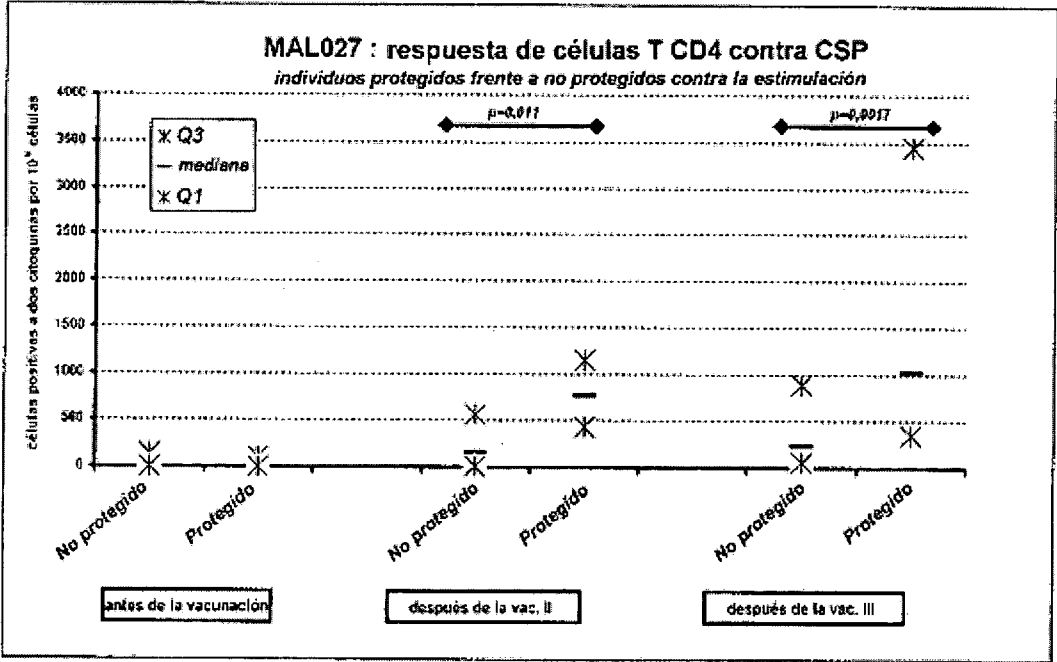
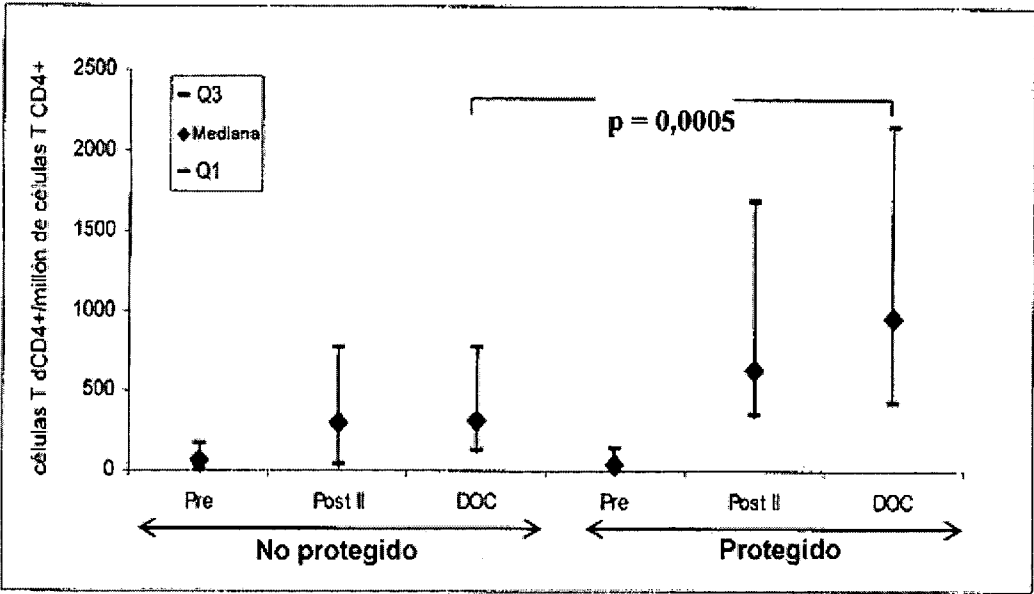


Figura 4 - Respuesta de células T CD4 Contra CSP (Ambas Cohortes)

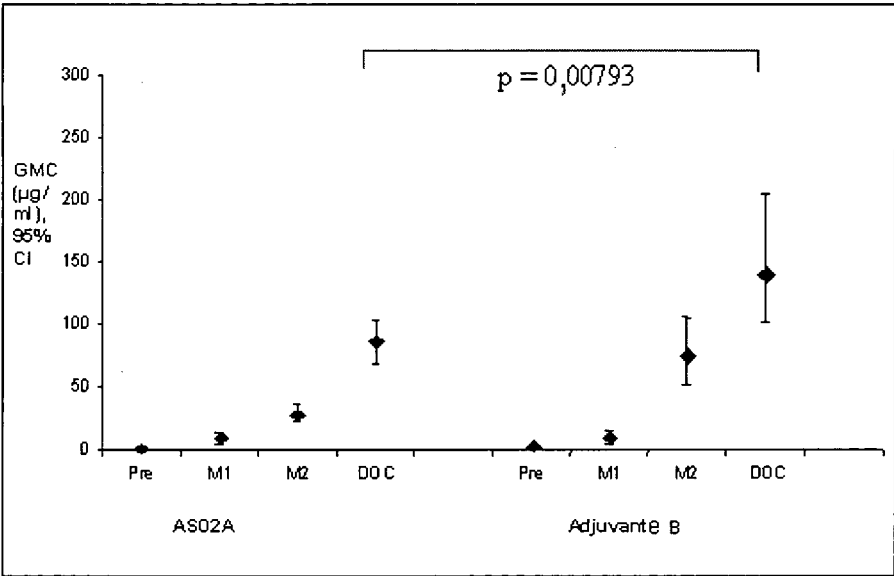


5

10

15

Figura 5 - Respuesta de anticuerpo Anti-CSP (Ambas Cohortes)

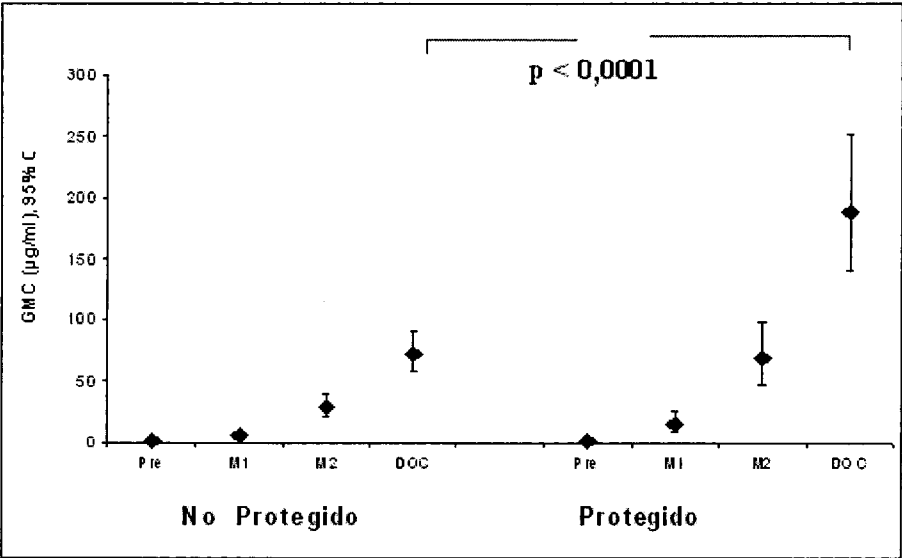


5

10

15

Figura 6 - Respuesta de anticuerpo Anti-CSP (Ambas Cohortes)



VB61495 sec list
LISTADO DE SECUENCIA

<110> GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A.
Cohen, Joseph

<120> VACUNAS

<130> VB61495/PCT

<150> GB 0513421.8

<151> 2005-06-30

<160> 3

<170> Version 3.3 de Patentin

<210> 1

<211> 4

<212> PRT

<213> plasmodium falciparum

<400> 1

Asn Ala Asn Pro

1

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> plasmodium falciparum

<400> 2

Asn val ASp pro

1

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Virus de hepatitis B

<400> 3

Pro Val Thr Asn

1

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-128783- -00000-0000

Fecha: 2007-12-05 16:04:03 Dep. 2020 NUECREACIONE
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 103



Industria y Comercio
 SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION ☒ [X]MODELO DE UTILIDAD ☐ []

- ♦ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒ [X] 1
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒ [X] 1
- ♦ Descripción de la invención ☒ [X] 1
- ♦ Dibujos de ser estos pertinentes ☒ [X] 1
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒ [X] 2

COMPLETA ☒ [X]INCOMPLETA ☐ []DISEÑO INDUSTRIAL ☐ []

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de 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 ☐ []

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado I ☐ []
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐ []
- ♦ Representación gráfica del esquema trazado ☐ []
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐ []

COMPLETA ☐ []INCOMPLETA ☐ []

Firma Responsable

Fecha 5 DIC. 2007

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
 Conmutador: 3 82 08 40
 Fax: 350 52 20
 E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
 Bogotá, D.C., Colombia