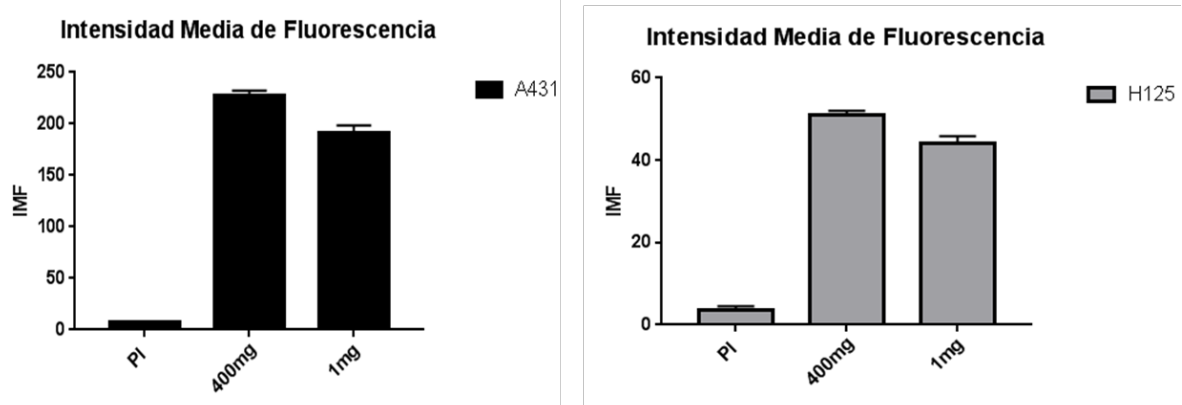


Reconocimiento de líneas tumorales Her1+/Her2+ con diferentes niveles de expresión de los receptores, por los sueros inducidos por la vacuna bivalente Her1+Her2 formulada con 400ug de cada receptor en comparación con la vacuna formulada con 1mg de cada receptor.

Sueros provenientes de ratones BALB/c inmunizados con la vacuna bivalente Her1+Her2 a una concentración de 400µg de cada receptor (VB-400) o con la vacuna bivalente Her1+Her2 a una concentración de 1000µg de cada receptor (VB-1000) diluidos 1:200, se incubaron durante 20 min con 10^5 células de las líneas tumorales que co-expresan los receptores Her1 y Her2. Se utilizaron las líneas A431 (derivada de carcinoma epitelial de vulva) y H125 (derivada de carcinoma de pulmón). Se utilizó como control negativo de especificidad los sueros preinmunes. El reconocimiento se evaluó por citometría de flujo.

En la Figura 1 se aprecia que los sueros generados por la VB-400 reconocieron con un valor mayor de intensidad media de fluorescencia (IMF) en las dos líneas celulares evaluadas, que los sueros generados por la VB-1000.

Figura 1. Intensidad media de fluorescencia medida por citometría de flujo de los sueros generados por la vacuna bivalente a diferentes concentraciones.



Comparación de la capacidad de los anticuerpos policlonales del suero inmune inducido por la vacuna bivalente Her1+Her2 formulada con 400ug de cada receptor en comparación con la vacuna formulada con 1mg de cada receptor de inhibir la activación de los receptores HER1 y HER2.

Tabla 1. Normalización de los valores contra el control de beta-actina.

muestra	pHer1/bA	pHer2/bA
células	0.42	0.43
EGF	5.68	0.90
ITC	1.56	0.40
PI	4.69	1.34
VB-400	1.92	0.25
VB-1000	3.11	0.45

**PLIEGO REIVINDICATORIO MODIFICADO EN RESPUESTA AL
OFICIO 8884 – EXPEDIENTE 15 0307122**

- 1- Una composición vacunal que comprende como principio activo 100 a 800 µg de los dominios extracelulares de los receptores Her1 y Her2 en la misma proporción y 1,2 mg de VSSP-GM3.
- 2- La composición vacunal de la reivindicación 1 caracterizada porque adicionalmente comprende un adyuvante seleccionado del grupo comprendido por Montanide ISA 51 o Alúmina.

Señor
Director de la Dirección de Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio
Ministerio de Comercio, Industria y Turismo
E. S. D.

Re.: Expediente No. **15307122**
Solicitud de patente PCT, entrada en fase nacional, para: **“COMPOSICIONES VACUNALES BIVALENTES”**
Solicitante: **CENTRO DE INMUNOLOGIA MOLECULAR**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **8884** notificado el **16 de junio de 2017**, atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Modificación a las reivindicaciones

De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el examinador, en esta oportunidad se presenta a consideración un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 6 reivindicaciones, en donde se han realizado las siguientes modificaciones:

- La reivindicación 1 se enmendó para especificar las cantidades precisas de cada uno de los principios activos en términos de peso.

Se solicita atentamente tener en cuenta este nuevo pliego reivindicatorio para el análisis de patentabilidad, toda vez que no implica una ampliación de la materia inicialmente solicitada y además permite superar las objeciones comunicadas por el examinador.

2. Claridad y concisión del pliego reivindicatorio

Tal como se indica arriba, el pliego reivindicatorio ha sido modificado para que resulte más claro y conciso. No obstante, se solicita atentamente tener en cuenta los siguientes aspectos para cada una de las objeciones planteadas por el examinador:

- El examinador objeta que la reivindicación 1 no es clara ya que se refiere a una composición vacunal que comprende los receptores Her1 y Her 2, no obstante la misma no se define a través de todos sus componentes y las proporciones de los mismos.

Al respecto, se hace notar que la reivindicación 1 tal como ha sido modificada en esta oportunidad especifica una cantidad precisa de 100 a 800 µg de los dominios extracelulares de los receptores Her1 y Her2 y 1,2 mg de VSSP-GM3. Por lo tanto, el nuevo pliego reivindicatorio no da lugar a la objeción.

- El examinador señala que la reivindicación 1 no es clara ya que menciona las expresiones *“proteoliposomas de muy pequeña talla derivados de la membrana externa de (...)”* la cual se considera imprecisa, en razón a que no puede establecerse la estructura de dichos proteoliposomas ya que no se mencionan las proteínas y los lípidos componentes de los mismos y en razón a que la expresión: *“de muy pequeña talla”* no se considera como una expresión válida para referirse al tamaño de una molécula.

Al respecto, se hace notar que dichas expresiones hacen referencia al término científico *“proteoliposomas de muy pequeña talla derivados de proteínas”*, el cual corresponde a la traducción al español del término en inglés *“very small size proteoliposomes”* o VSSP. Tal como se describe en la descripción de la solicitud PCT (véase pág. 6, líneas 3 a 11), dicho término es ampliamente utilizado y aceptada en el arte para denominar a las proteínas de la membrana externa de *Neisseria meningitidis* constituidos por la asociación de los gangliósidos GM3 (N-acetilado), y N-GlicolilGM3 (N-AcGM3) y (NGcGM3), con el complejo proteico de la membrana externa (OMP o CPME) de la bacteria *Neisseria meningitidis*. Dichos inmunógenos, N-AcGM3/VSSP y N-GcGM3/VSSP, son de tamaño muy pequeño, prácticamente invisibles al microscopio electrónico, solubles en agua y de gran flotabilidad. La combinación de dichos VSSP con el glangliósido GM3 se denomina GM3. Solo con el propósito de darle continuidad al trámite de la patente, en la reivindicación 1 del actual pliego reivindicatorio se sustituyó el término *“proteoliposomas de muy pequeña talla derivados de proteínas de la membrana externa de Neisseria meningitidis y el gangliósido GM3”* por sus correspondiente siglas VSSP-GM3.

- La reivindicación 2 no es clara ya que se refiere al adyuvante: Montanide ISA 51L, que es una marca registrada y por tanto no definen al producto porque su composición puede cambiar con el paso del tiempo aunque conserve el mismo nombre.

Con respecto a la objeción sobre que el término *“Montanide ISA-51L”* en la reivindicación 2 corresponde a una marca comercial, creemos que el examinador se refiere en realidad al término *“Montanide ISA-51”*, puesto que el término *“Montanide ISA-51L”* no parece utilizado en ninguna parte de la solicitud ni corresponde a un adyuvante del estado del arte. Al respecto, consideramos apropiado hacerle notar al examinador que el término *“Montanide ISA-51”* no corresponde a un nombre comercial (solo el término Montanide ISA aparece registrado como marca comercial pero no el término Montanide ISA 51), sino al nombre común usado en el arte para referirse a una emulsión de agua en aceite obtenida mezclando aceite mineral con un surfactante de la familia de los monoleatos de manida y que se emplea en una proporción 50:50. Dicha emulsión se utiliza como adyuvante, ya que en combinación con un antígeno permite potenciar la respuesta inmune. Además, es importante señalar que *“Montanide ISA-51”* se identifica con el número de registro Cas No: 190396-06-6, el cual corresponde a una identificación numérica única para compuestos químicos que permite a la persona del oficio normalmente versada en la materia garantizar que utiliza el mismo adyuvante divulgado en la solicitud sin importar el paso del tiempo. Por lo tanto, consideramos que definir de otra forma el adyuvante usado en la composición vacunal de la presente solicitud le restaría claridad a las reivindicaciones y no permitirá a la persona del oficio normalmente versada en la materia reproducir adecuadamente la invención.

3. Determinación del estado de la técnica

Para la evaluación de este requerimiento el examinador citó los siguientes documentos:

D1: WO2002045746 publicada el 13 de junio de 2002 y titulada “*Composiciones farmacéuticas para potenciar la inmunogenicidad de antígenos poco inmunogénicos*”.

4. Examen de patentabilidad

4.1 Nivel inventivo

El examinador objeta que las reivindicaciones cumplen con el requisito de novedad pero no cumplen con el requisito de nivel inventivo a la luz del arte previo contenido en **D1**. Específicamente, el examinador sostiene que la persona del oficio normalmente versada en la materia, determinaría la concentración óptima de los antígenos de los valores señalados en el rango documento D1, y optimizaría consecuentemente la composición allí divulgada, para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia.

Al respecto, el artículo 18 de la Decisión 486 establece que “*se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para la persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica*”, con lo que queda claro que el examinador o experto en la materia debe realizar el esfuerzo intelectual de ubicarse al momento de la prioridad de la solicitud con el fin de determinar el problema analizado por los inventores y plantear la solución al mismo partiendo del estado del arte y su conocimiento en ese preciso momento. Por lo tanto, a continuación se presentan argumentos que dejan ver que la invención tal como ha sido modificada, en efecto, cuenta con nivel inventivo a la luz del arte previo.

El documento **D1** entre otros reclama una composición que comprende los receptores de factores de crecimiento HER-1, HER-2, R-PDGF o cualquiera de sus variantes que contenga el dominio extracelular con y sin región transmembrana. Sin embargo, dicha solicitud ni ningún otro documento de la técnica enseña cómo combinar dos receptores, particularmente, cómo combinar los dominios extracelulares (DECs) de los receptores Her1 y Her2 para producir una vacuna bivalente que sea eficaz en inducir la producción de anticuerpos en el individuo vacunado.

Sorprendentemente, los inventores de la presente invención descubrieron que al mezclar en la misma proporción los DECs de los receptores Her1 y Her2 se obtiene una composición vacunal que es capaz de inducir la producción de títulos de anticuerpos que inhiben la fosforilación de Her1 y Her2, como se muestra en el Ejemplo 4, Figura 4a y 4b de la presente solicitud. Además, dichos anticuerpos tienen un efecto antitumoral, en términos de efecto antiproliferativo, sobre células tumorales como se observa en el Ejemplo 5 y Figura 5.

En el Ejemplo 6 y la Tabla 2 de la presente invención se muestra que dosis no equivalentes del DEC-Her1 y el DEC-Her2 disminuyen la capacidad de los anticuerpos que se generan de reconocer la línea tumoral H125/Her1+/Her2+; por lo que el efecto antiproliferativo y la inhibición de la proliferación que producen dichos anticuerpos serán menores en comparación con los producidos por dosis equivalentes de DEC-Her1 y el DEC-Her2. De lo anterior se evidencia que la proporción en que se combinan los DECs de los receptores Her1 y Her2 es decisiva para la obtención de la respuesta inmune deseada, es decir, no es cualquier combinación de los DECs de los receptores Her1 y Her2 la que desencadena dicha respuesta inmune. La combinación de ambos

principios activos, mezclados en otras proporciones no provoca el efecto deseado sobre el sistema inmune.

El Ejemplo 4 de D1 solo muestra la obtención de una composición vacunal que comprende los DEC de Her1 y Her2 en cantidades de 1 mg pero no muestra ningún resultado que demuestre el efecto antitumoral de dicha composición y mucho menos que los receptores Her1 y Her2 se deban encontrar en igual proporción para lograr el efecto antitumoral deseado. En D1 se reclama una composición farmacéutica para potenciar la inmunogenicidad de antígenos poco inmunogénicos que entre sus componentes tiene uno o más antígenos poco inmunogénicos, los que pueden ser los DEC-Her1 y el DEC-Her2 pero a diferencia de la presente solicitud no se establece que ambos tengan que estar en igual proporción en dicha composición.

En D1 no se realizó un trabajo experimental adecuado para demostrar que cantidades equivalentes de ambos receptores desencadenan una mejor respuesta. Además, a diferencia de D1, en la presente solicitud se establece el mejor rango de concentraciones en el que deben encontrarse ambos receptores (entre 100 a 800 ug/dosis) para lograr la respuesta observada, en el caso de D1 está concentración fue seleccionada de manera arbitraria y fue por encima de la anterior (1mg/dosis).

Adjunto evidencias experimentales donde se demuestra que la formulación vacunal bivalente compuesta por Her-1 y Her-2 a concentraciones equivalentes de ambos receptores y empleándolos en dosis inferiores que 1 mg/dosis tiene un efecto superior en comparación con dicha composición cuando se emplea a una concentración de 1 mg/dosis.

Es evidente que la persona del oficio no podría a partir de D1 derivar en el efecto mejorado anteriormente descrito de la composición vacunal bivalente. Por lo tanto, el objeto de la reivindicación 1 propuesta tiene una actividad inventiva a la luz de D1.

En consecuencia, al menos por las razones aquí descrita, es posible determinar que la presente solicitud, tal como se reivindica en el nuevo pliego reivindicatorio, cumple con el requerimiento de nivel inventivo, según lo estipulado en el Artículo 16 de la Decisión 486.

5. Conclusión

Teniendo en cuenta las modificaciones introducidas en esta oportunidad y los argumentos que se presentan, es posible establecer que las reivindicaciones cumplen con los requerimientos de la Decisión 486.

6. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por dos (2) reivindicaciones.
- Resultados experimentales donde se demuestra que la formulación vacunal bivalente compuesta por Her-1 y Her-2 a concentraciones equivalentes de ambos receptores y empleándolos en dosis inferiores que 1 mg/dosis tiene un efecto superior en comparación con dicha composición cuando se emplea a una concentración de 1mg/dosis.

Señor Director,


Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. **39.779.654** de Bogotá
T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.
Calle 94A No. 7A-09 - Bogotá, D.C.
Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.
MCA/nm
P4264
RESPUESTA EXAMEN DE FONDO