

## **Tentamen Octrooigemachtigden**

Tentamen: "Schrijven van een advies"

---

**28 november 2022**

**09.30 – 17.45 uur**

**(inclusief 15 minuten pauze)**

## TENTAMEN 'SCHRIJVEN VAN EEN ADVIES' 2022

### **Conjugaat-vaccins**

5 Uw cliënt werkt bij een farmaceut, en legt u uit dat zij een nieuw product op de markt willen brengen. Het gaat om een vaccin voor meningokokken, een bacterie die meningitis kan veroorzaken. Omdat meningitis ernstig is, is meningokokkenvaccinatie een onderdeel van het Nederlandse  
rijksvaccinatieprogramma. Ook in andere landen wordt standaard tegen meningokokken  
gevaccineerd. Het gaat dus om een product met een flinke markt. Om zich een beeld te vormen van  
10 kansen en bedreigingen op octrooigebied, heeft uw cliënt een serie vragen voor u (zie het einde van deze inleiding).

Het menselijk immuunsysteem is erg goed in het opbouwen van een afweer tegen lichaamsvreemde eiwitten. Een respons tegen een suikerketen (een polysaccharide) is veel moeilijker om op te bouwen,  
15 en is ook minder krachtig. Veel bacteriën hebben zo'n suikerketen aan de buitenkant. Dit maakt dit soort bacteriën (zoals ook meningokokken) gevaarlijk: deze bacteriën zijn omgeven door een huls van polysaccharide, waardoor het lichaam alleen deze suikerketens "ziet", en er dus een zwakke  
immuunrespons opgewekt wordt. Om te vaccineren tegen zo'n bacterie, zal ook met zo'n  
polysaccharide gevaccineerd moeten worden, wat dan ook tot een weinig effectief vaccin leidt.

20 Een belangrijke technologische doorbraak uit het verleden was daarom het ontwikkelen van de zogenaamde conjugaat-vaccins. Hierbij worden twee componenten aan elkaar verbonden, ofwel geconjugerd: een polysaccharide en een eiwit. Wanneer het menselijk immuunsysteem, met name een zogenaamde witte bloedcel (een Th1 cel) zo'n polysaccharide detecteert en een respons begint  
25 op te bouwen, dan merkt de cel tegelijkertijd ook het eiwit op. Hierdoor schakelt de cel over op het mechanisme waarmee de sterkere immuunrespons wordt opgebouwd. Als resultaat volgt een bescherming "van eiwit-niveau" tegen een polysaccharide. Deze techniek heeft het mogelijk gemaakt om vaccinaties tegen bacteriën al op jonge leeftijd effectief te maken, wanneer bij kinderen het immuunsysteem nog niet volledig op kracht is.

30 Momenteel is het nieuwe product van uw cliënt nog volledig geheim. De codenaam Lecvac wordt gebruikt – dit omdat het vaccin gebruik maakt van eiwitten die lectines worden genoemd. Het is een vaccin met zowel een polysaccharide als een eiwit. Lecvac heeft een nieuw ontwerp, waardoor het verschilt van bestaande conjugaat-vaccins. Zie A1 voor een beschrijving van Lecvac.

35 Boven uw bureau hangt document A2, een handige verzameling citaten uit een lesboek uit uw studietijd. Andere documenten die u voor deze zaak tot uw beschikking heeft, zijn de documenten die uw cliënt na eigen onderzoek aan u heeft aangeleverd. Uw cliënt heeft vragen over bestaande octrooien over vaccins voor dezelfde medische indicaties, zie de vragen hieronder. Uw cliënt heeft ook  
40 een strategie, die als document A8 tot uw beschikking staat.

## DOCUMENTEN

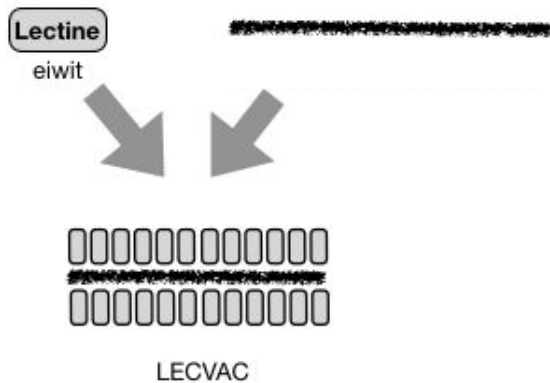
A1	Productbeschrijving Lecvac, het nieuwe product van uw cliënt
A2	Tekstfragmenten uit een handboek over vaccin-ontwikkeling
A3	Een octrooi over Conjovac, het conjugaat-vaccin dat momenteel in het
5	rijksvaccinatieprogramma is opgenomen
A4	Een octrooi over Polivac, een conjugaat-vaccin met meervoudige werking
A5	Tekstfragmenten uit het EPO archief uit de verleningsgeschiedenis van A4
A6	Een octrooi over een hepatitis B vaccin
A7	Een octrooi over een tetanus vaccin
10	A8 Strategisch document over de ontwikkelingsplannen voor Lecvac

### **Uw cliënt heeft de volgende vragen voor u:**

*De getallen tussen haken zijn een aanduiding van hoeveel punten er met het juiste antwoord ongeveer te verdienen zijn.*

1. (20) Maakt Lecvac in Nederland inbreuk op A3?
2. (5) Het lijkt er op dat in de USA minder conclusies zijn verleend. Als uw cliënt Lecvac exporteert naar de USA, is er dan sprake van inbreuk op de US versie van A3?
- 20 3. (15) Maakt Lecvac in Nederland inbreuk op A4?
4. (40) In hoeverre is A4 geldig in Nederland?
5. (10) Denk u dat Lecvac nog octrooieerbaar is? Kunt u één enkele voorbeeld-conclusie maken, en uitleggen waarom deze wel of niet octrooieerbaar zou zijn?
- 25 6. (10) Wat zou u uw cliënt als strategisch advies meegeven betreffende het op de markt brengen van Lecvac? U hoeft geen rekening te houden met zaken die niet in bijlagen staan, zoals mogelijke ongepubliceerde aanvragen of aanvullende beschermingscertificaten.

## A1 – Productbeschrijving LECVAC



Getest: Vaccin	Th1-respons
Polysaccharide	5
Conjovac	300
LECVAC	350

### 5 Onze unieke technologie...

...maakt het mogelijk om vaccins te maken waarmee een eiwit-respons kan worden opgebouwd tegen een polysaccharide. We maken gebruik van lectines, dat zijn eiwitten die van nature specifiek bepaalde polysacchariden kunnen herkennen. Door de lectine zo uit te kiezen dat deze aan de gewenste polysaccharide bindt, wordt een vaccin gevormd waarin het lectine als eiwit meehelpt om de  
10 immuunrespons tegen het polysaccharide op te bouwen. Met dit platform kunnen eiwitten modulair aan polysacchariden verbonden worden om combinatie-vaccins te maken, via supramoleculaire bindingen.

### 15 Ongeëvenaarde resultaten

LECVAC is beter in het opbouwen van een duurzame immuunrespons tegen polysacchariden dan bestaande vaccins. Bovenstaande tabel laat de resultaten zien uit een studie onder een statistisch relevante hoeveelheid muizen. Muizen werden gevaccineerd met het vaccin zoals aangegeven, en twee weken later werd de muis blootgesteld aan meningokokken. Daarna werd de immuunrespons gemeten. Het kale polysaccharide had de bekende respons van 5, en het vaccin uit het  
20 rijksvaccinatieprogramma had de bekende respons van 300. Alleen LECVAC had een respons van meer dan 349!

*LECVAC – vaccin voor injectie omvattende het combinatie-vaccin zoals hier beschreven, opgelost in een formulering voor injectie (1mL water op pH 7.4 met naar gewicht 0.01% KCl, 0.9% NaCl, 2%  
25 glucose, 0.5% citroenzuur, 0.05% polysorbaat, en 1% van het combinatie-vaccin)*

30

35

## A2 - Tekstfragmenten uit een handboek over vaccin-ontwikkeling

Publicatiedatum: allen uit tekstboeken tussen 2005 en 2010

- 5 **Antigeen / Immunogeen** Een antigeen is iets waartegen een immuunrespons (immuunreactie) kan worden opgebouwd. Zo'n stof is dan immunogeen. Een verbinding kan zwak immunogeen zijn, zodat de immuunrespons niet sterk is. Dit is bij polysacchariden vaak het geval. Iets kan ook sterk immunogeen zijn, zodat de immuunrespons sterk is, zoals bij eiwitten vaak het geval is.
- 10 **Isotoon** oplossing met even veel opgeloste deeltjes als een referentie-oplossing. In een medische context wordt hiermee vaak bedoeld dat de oplossing een oplossing van water is met even veel daarin opgeloste deeltjes als in menselijk bloed. Een exacte gelijkheid in deeltjes is niet realistisch te verschaffen omdat de betrokken systemen vaak dynamisch zijn, maar als het verschil klein genoeg is, is een negatief effect nihil.
- 15 **Excipiënt** Hierom mogen nauwkeurige benaderingen vaak toch als isotoon beschouwd worden. hulpmiddel dat als toevoeging in een medisch preparaat zoals een vaccin kan zitten. Het geeft vaak gunstige eigenschappen aan een vaccin mee, maar is zelf niet een actief immunogeen ingrediënt. Water is een excipiënt: het is niet immunogeen maar het zorgt voor een handige vloeibare toedieningsvorm. Andere veel voorkomende excipiënten zijn zouten, buffers en emulgatoren.
- 20 **Th1-respons** Th1 is een type cel in het menselijke immuunsysteem. De Th1 respons is een bekende schaal die wordt gebruikt om de kwaliteit van een immuunrespons uit te drukken. Het Th1-model is een dimensieloze en lineaire schaal waar een hoger getal een betere respons aanduidt.
- 25 **Covalente binding** chemische binding tussen twee atomen. Atomen die covalent aan elkaar verbonden zijn, vormen samen een molecuul.
- Supramoleculaire binding** binding tussen twee moleculen die niet covalent is, maar die de twee moleculen wel met elkaar verbindt door fysische interactie.
- 30 **Conjugaat** een complex waarin twee of meer moleculen aan elkaar verbonden zijn. De verbinding tussen de onderdelen van het conjugaat is normaal gesproken zo sterk dat de twee moleculen onder normale omstandigheden aan elkaar blijven zitten. Binnen een conjugaat is elk molecuul nog als zodanig te herkennen, en heeft elk deel vaak ook nog dezelfde functie als de losse moleculen al hadden. Een voorbeeld van een conjugaat is een fluorescent label dat covalent aan een eiwit verbonden is zodat het eiwit met een
- 35 **microscopie** gevolgd kan worden binnen een cel. Een ander voorbeeld is een conjugaat-vaccin waarin een polysaccharide covalent aan een eiwit is gebonden. Omdat het voor conjugaten vaak belangrijk is dat de oorspronkelijke moleculaire functies behouden blijven, is vaak specifieke chemie nodig om de benodigde binding op een voorspelbare plek te laten ontstaan.

- Antilichaam** eiwit van het menselijk immuunsysteem, dat een bepaald antigeen herkent; een antigeen is een immunogene stof. Een antigeen kan vrijwel elk soort molecuul zijn, en een antilichaam bindt supramoleculair aan dat molecuul met een bindingssterkte die bijna net zo sterk is als een covalente binding.
- 5 **Polysaccharide** een polymeer van suikers. Biologisch relevant zijn polysacchariden die in de celwand van cellen en eencelligen zoals bacteriën voorkomen. Elk organisme heeft een uniek soort polysaccharide op de celwand, en een organisme kan wat dat betreft ook herkend worden aan het soort polysaccharide dat in de celwand te vinden is.
- 10 **Lectine** eiwit dat specifiek aan een polysaccharide bindt. Elk soort lectine herkent één soort polysaccharide, met een bindingskracht die te vergelijken is met een binding tussen een antilichaam en een antigeen. Lectines worden uit de natuur gewonnen, omdat ze nog niet door de mens ontworpen kunnen worden. Zodra ze zijn gevonden, kunnen ze wel geanalyseerd en industrieel nagemaakt worden. Lectines voor bacteriële polysacchariden worden door de bacterie zelf geproduceerd, zodat de bacterie-cellen
- 15 **Pathofoon** ten grondslag liggend aan een pathologie – een ziekmaker. Kan zowel als bijvoeglijk naamwoord als als zelfstandig naamwoord gebruikt worden.

20 **Noot over technische inhoud van dit examen:** *conjugaat-vaccins als zodanig bestaan echt, en werken in veel gevallen ook echt beter dan de ongeconjugeerde polysacchariden. Meningokokken zijn hier een werkelijk voorbeeld van. Maar de verdere inhoud van dit examen is zo sterk vereenvoudigd dat een vooraf bestaande kennis van zulke vaccins niet als voordeel gezien kan worden.*

## A3 - Octrooi over Conjovac

Indiendatum: februari 2004

Publicatiedatum: augustus 2005

5 [001] De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een conjugaat dat geschikt is voor gebruik als geneesmiddel, met name als vaccin. De uitvinding maakt het mogelijk om een sterke respons tegen polysacchariden op te bouwen door deze te conjugeren aan een eiwit.

[002] Zoals bekend is de Th1-respons voor immunogene polysacchariden over het algemeen erg laag.  
10 Dit is nadelig omdat er een grote groep aan veel voorkomende pathogenen bestaat waarvan polysacchariden de belangrijkste immunogenen zijn. Een belangrijk voorbeeld hiervan is de groep van bacteriën die kinderziektes kan veroorzaken, of die ziektes veroorzaken die op kinderleeftijd erg gevaarlijk zijn. Leden van deze groep zijn meningokokken (veroorzaken hersenvliesontsteking), *Clostridium tetani* (veroorzaakt tetanus), en *Bordetella pertussis* (veroorzaakt kinkhoest).

15 [003] Bestaande vaccins tegen bijvoorbeeld meningokokken zijn algemeen bekend en breed in gebruik. Ze omvatten een polysaccharide van de meningokok, plus excipiënten (veelal water en zouten). Deze vaccins behalen slechts een Th1-respons van ongeveer 5, waar een respons onder de 100 over het algemeen als onvoldoende gezien wordt. De reden dat deze vaccins alsnog in gebruik zijn, is de grote  
20 vraag naar bescherming tegen meningokokken.

[004] De huidige uitvinding maakt het mogelijk om de Th1-respons tegen polysacchariden sterk te verhogen. Dit gebeurt door het gewenste polysaccharide te conjugeren aan een eiwit. Een immuuncel die een respons opbouwt tegen het polysaccharide zal door het geconjugeerde eiwit tot een sterkere  
25 respons komen. De aard van het eiwit is niet van belang, het eiwit dient enkel om de standaard zwakke polysaccharide respons om te bouwen tot een sterke eiwit respons.

[005] Derhalve voorziet de uitvinding in een methode voor het vervaardigen van een verbeterd polysaccharide-vaccin, waarin de methode de volgende stappen omvat:  
30 i) het voorzien van een gewenst polysaccharide;  
ii) het voorzien van een eiwit;  
iii) het vormen van een polysaccharide-eiwit conjugaat door het polysaccharide en het eiwit covalent aan elkaar te verbinden.

35 [006] Het polysaccharide kan elk polysaccharide van een microbieel pathogeen zijn. Bij voorkeur gaat het om bacteriële pathogenen zoals meningokokken, *Clostridium tetani*, en *Bordetella pertussis*. Vooral met polysaccharide van meningokokken werden goede resultaten bereikt..

[007] Het eiwit kan in principe elk eiwit zijn, omdat het technisch effect van het eiwit ligt in het zijn van  
40 een eiwit. Toch zijn sommige eiwitten gunstiger in gebruik dan andere eiwitten. Zo is het voordelig om

bekende eiwitten van lage complexiteit te gebruiken. Dit maakt niet alleen de chemische synthese van het conjugaat eenvoudiger, maar ook de regulatoire markttoelating van het uiteindelijke product. Voorbeelden van geschikte eiwitten zijn bloedeiwitten (serum albumines) zoals humaan serum albumine (HSA) en uit kippeneiwit verkrijgbare eiwitten zoals Hen egg white lysozyme (HEWL). Ook bacteriële eiwitten zoals bacterieel polymerase (BacP) kunnen gebruikt worden.

[008] Het vormen van een conjugaat kan op elke bekende methode uitgevoerd worden. Het doel van de conjugaatvorming is het in de ruimte samenbrengen van het eiwit en het polysaccharide, iets waarvoor een covalente binding tussen de twee doeltreffend is. De band tussen het eiwit en het polysaccharide moet zo sterk zijn, dat die band bij opslag en gebruik niet los kan gaan. Voorbeelden van geschikte methoden voor het vormen van een conjugaat zijn: A) reductieve aminering voor het vormen van een covalente band tussen het uiteinde van het polysaccharide en een vrijwel willekeurige plek op het eiwit; B) het vormen van een covalente band tussen een uiteinde van het polysaccharide en een vrijwel willekeurige plek op het eiwit door gebruik van een amide-koppelingsreagens; C) het gezamenlijk opkoken van de polysaccharide en het eiwit in een zure of basische omgeving, voor het vormen van covalente banden tussen het uiteinde van het polysaccharide en vrijwel willekeurige plekken op het eiwit.

[009] Omdat eiwitten erg complex zijn, is het lastig om gedefinieerde conjugaten met eiwitten te vormen indien het van belang zou zijn op welke precieze plek op het eiwit er een covalente band gevormd wordt. In de praktijk wordt voor een eiwit-conjugaat de band met het polysaccharide vrijwel altijd op een willekeurige positie op het eiwit gevormd. Dit heeft naar het huidige technische inzicht geen effect op de effectiviteit van de gevormde conjugaten. Mede hierom lijkt de keuze van het specifieke eiwit niet van belang te zijn voor het behalen van een goede Th1-waarde.

[010] Omdat polysacchariden aan hun uiteinden reactieve chemische groepen hebben, is het gunstig om conjugaten met polysacchariden ook via deze uiteinden te vormen. Zo kan voorkomen worden dat een eiwit een covalente binding aangaat met een polysaccharide, waarna dat polysaccharide met een volgend eiwit een covalente binding aangaat, en zo voorts. Dit zou leiden tot een uitgebreid netwerk van moleculen dat uiteindelijk een onoplosbare en onbruikbare massa vormt.

[011] Reductieve aminering (methode A) is een aantrekkelijke chemische strategie voor het vormen van een conjugaat volgens de uitvinding, omdat het geen grote hoeveelheden energie vergt zoals benodigd voor het opkoken van een reactorvat (zoals nodig bij methode C). Ook zijn de gerelateerde afvalstoffen slechts wateroplosbare zouten, en geen toxische chemicaliën zoals restproducten van amide-koppeling (zoals bij methode B).

[012] Het is gebleken dat elke bekende methode (A, B en C) voor het vormen van een conjugaat leidt tot een conjugaat waarbij het eiwit in het centrum van het conjugaat zit, en er op willekeurige plekken een uiteinde van een polysaccharide verbonden is. Zo ontstaat het beeld van een centraal, vrijwel rond



eiwit-deel (als het ware een zon) met daar vandaan lopende langwerpige polysaccharide-delen (als het ware zonnestrallen). Hierdoor zullen immuuncellen in eerste instantie alsnog met het polysaccharide in aanraking komen, en zal de invloed van het eiwit dus pas optreden als de opbouw van een respons al in gang is. Dit suboptimale eiwit-contact heeft mogelijk een remmende werking op de immunrespons, maar de response is uiteindelijk in elk getest conjugaat van goed niveau gebleken.

[013] De uitvinding heeft ook betrekking op de conjugaten die verkrijgbaar zijn middels de hiervoor beschreven methode.

[014] De conjugaten kunnen geformuleerd worden als vaccin, in samenstellingen met de gebruikelijke excipiënten.

[015] De volgende conjugaten zijn met name onderdeel van de uitvinding: een conjugaat van het polysaccharide van meningokokken en een geschikt eiwit, een conjugaat van het polysaccharide van *Clostridium tetani* en een geschikt eiwit, en een conjugaat van het polysaccharide van *Bordetella pertussis* en een geschikt eiwit. Bij voorkeur zijn deze conjugaten verbonden middels covalente bindingen ten gevolge van reductieve aminering (methode A). Bij voorkeur is het eiwit HEWL. Het conjugaat met de grootste voorkeur is het conjugaat waar polysaccharide van meningokokken met reductieve aminering covalent aan HEWL verbonden is.

[016] De conjugaten zijn geschikt voor gebruik als geneesmiddel. De geneesmiddelen kunnen gebruikt worden voor de behandeling van bacteriële infecties, of bij voorkeur voor het voorkomen er van. Bacteriële infecties die goed behandeld kunnen worden zijn bijvoorbeeld hersenvliesontsteking, kinkhoest, en tetanus.

[017] De conjugaten zijn met name geschikt als vaccin wanneer een geschikte farmaceutisch aanvaardbare formulering gebruikt wordt. Een vaccin moet altijd farmaceutisch aanvaardbaar geformuleerd zijn, omdat het anders niet kan functioneren als vaccin.

## VOORBEELDEN

[018] Alle genoemde materialen en chemicaliën, inclusief eiwitten, werden gekocht bij gespecialiseerde handelaars. Polysacchariden van pathogenen zijn commercieel moeilijk verkrijgbaar en werden zelf geïsoleerd uit opgekweekte bacteriën. In het kort werd de relevante bacterie-cultuur met bekende methoden opgekweekt tot een verwachte 500 milligram aan bacteriën middels centrifugatie verkregen kon worden. Hierna werden de bacteriën geïnactiveerd door blootstelling aan surfactanten en natronloog. Dit deed de bacteriën uit elkaar vallen in hun losse componenten. Met ultrafiltratie werden de grote polysacchariden gescheiden van de kleinere moleculen. De verkregen polysacchariden werden hierna gedroogd. Een monster van de gedroogde polysacchariden werd op identiteit geverifieerd door te bevestigen dat een fluorescent gelabeld lectine er aan bond.

[019] 20 milligram meningokokken polysaccharide werd opgelost in 30 mL ultrapuur water. Deze oplossing werd toegevoegd aan een buis waarin zich 1 milligram HEWL en 3 milligram zouten voor reductieve aminering bevond. Op moleculair niveau was de verhouding tussen polysaccharide, eiwit, en zouten ongeveer 20:1:22. De gevormde conjugaten werden gewassen door deze meermaals te isoleren op een filter en daarna opnieuw op te lossen. De volgende conjugaten werden met de gelijke verhoudingen vervaardigd:

Nummer	Polysaccharide	Eiwit	Th1-score
1	Meningokokken	HEWL	300
10 2	Meningokokken	HSA	295
3	Meningokokken	BacP	305
4	<i>Clostridium tetani</i>	HEWL	300
5	<i>Bordetella pertussis</i>	HEWL	295
15 6	Meningokokken	<i>geen</i>	5

[020] de conjugaten werden getest op hun beschermende werking door de Th1-respons te bepalen. Dit gebeurde middels het bekende Th1-model dat steeds zoals gebruikelijk was aangepast op de relevante ziekte waarvoor de respons bepaald werd. De resultaten staan in het overzicht hierboven.

20 [019] Zoals bekend is een respons van 100 of meer geschikt voor jeugd vaccinatie. Resultaten van ongeveer 300 of meer staan mogelijk het gelijktijdig toedienen van meerdere vaccins toe, zonder dat de vaccins elkaar negatief beïnvloeden. Resultaten van 350 of meer zouden microdosis vaccinatie toestaan, een bekende strategie die bijwerkingen kan verlagen of voorkomen.

25 [020] Voor stabiliteitsstudies werden conjugaten zoals weergegeven voor nummers 1, 4, en 5 opgelost in dimethylformamide (DMF). DMF is een goed oplosmiddel maar is niet farmaceutisch aanvaardbaar. De monsters werden in een koelkast bewaard en elke maand werd geverifieerd of de binding tussen eiwit en polysaccharide nog intact was. Dit was voor alle drie de monsters het geval, tot wel 12 maanden na aanvang. Hierna werden de monsters samengevoegd en later afgevoerd.

30

## CONCLUSIES

1. Methode voor het vervaardigen van een polysaccharide-eiwit conjugaat, waarin de methode de volgende stappen omvat:
- 5 i) het voorzien van een polysaccharide;  
ii) het voorzien van een eiwit;  
iii) het vormen van een polysaccharide-eiwit conjugaat door het polysaccharide en het eiwit covalent aan elkaar te verbinden.
- 10 2. Polysaccharide-eiwit conjugaat voor gebruik als geneesmiddel.

### 15 **Uit de registers:**

- Het EP octrooi is verleend zoals het hierboven getoond is, en is in NL gevalideerd.
  - Het US octrooi is tijdens de verleningsprocedure na een 'restriction requirement' ingeperkt tot alleen conclusie 1. Conclusie 2 is ingetrokken zodat de aanvraag voor conclusie 1 snel verleend kon worden,
- 20 in 2005. Hierna is geen afsplitsing of voortzetting meer gedaan.

## A4 - Octrooi over Polivac

Indiendatum: september 2017

Verleende tekst

- 5 [001] Veel patiënten, vooral jonge kinderen, ervaren een injectie met een naald niet als iets plezierigs. Om deze reden worden vaak alternatieve toedieningsvormen voor medicijnen gezocht, zoals medicijnen in pilvorm of als drank. Helaas is het voor vaccins vaak nog niet mogelijk om deze in een andere vorm dan als injectie toe te dienen.
- 10 [002] De huidige uitvinding maakt het mogelijk om het aantal injecties te verlagen door het toedienen van een mengsel van antigenen via één enkele injectie. Het lichaam bouwt dan een respons op tegen elk antigen uit het mengsel, waardoor het aantal injecties verlaagd kan worden. Dit verhoogt de bereidheid tot vaccinatie.
- 15 [003] Er is gevonden dat een vaccin geformuleerd kan worden voor hersenvliesontsteking, tetanus, en kinkhoest. Bekende vaccins bleken verrassenderwijs gecombineerd te kunnen worden zonder verlies van beschermende werking voor een van de losse componenten. Derhalve voorziet de uitvinding in een samenstelling omvattende een bacterieel polysaccharide van meningokokken, een polysaccharide van de familie *Clostridium*, en een polysaccharide van de familie *Bordetella*.
- 20 [004] Aantrekkelijke vaccins zijn conjugaat-vaccins, waarin een immunogeen polysaccharide geconjugeerd wordt aan een eiwit om zo een betere respons op te wekken. Bij voorkeur worden bacteriële polysacchariden daarom verschaft als combinatie van een eiwit met het bacterieel polysaccharide. De samenstellingen van de uitvinding zijn goed te verwerken tot vaccin, en ook als
- 25 zodanig toe te passen.
- [005] Polysacchariden zijn niet altijd vrij mengbaar. Het is bekend dat oplossingen waarin verschillende soorten polysacchariden zijn opgelost soms tot ongewenste conglomeratie en zelfs neerslag leidt. Zulke conglomeraten kunnen klein genoeg zijn om niet eenvoudig met het blote oog waarneembaar te zijn,
- 30 maar kunnen dan nog altijd tot verstoppingen in haarvaten leiden na injectie en veroorzaken in ieder geval een reductie van effectiviteit. Hierom is het niet voor de hand liggend dat verschillende polysacchariden samen in één oplossing voor injectie toegepast kunnen worden.
- [006] Er is ontdekt dat een bepaalde formulering de combinatie mogelijk maakt van de hierboven
- 35 genoemde polysacchariden, zonder dat conglomeratie optreedt. Met lichtverstrooiingsstudies is bevestigd dat er geen sprake was van conglomeratie of neerslag van de polysacchariden in de formulering na opslag voor ten minste een maand op vier graden Celsius. Dit staat een stabiele opslag in gangbare koelkasten toe, wat aantrekkelijk is voor een vaccin.

[007] De gevonden formulering is een vloeistof voor gebruik als excipiënt voor een vaccin, omvattende water en 0.1-2 gewichtsprocent NaCl, 0.1-5 gewichtsprocent glucose, en 0.05-0.1 gewichtsprocent van een surfactant. De pH van de vloeistof ligt in het bereik van 6.5-8, maar om irritatie bij injectie te voorkomen is een pH in het bereik van 7.0-7.4 aantrekkelijker.

5

[008] NaCl is een gunstig middel om de toniciteit van de samenstelling mee te helpen bepalen. Bij voorkeur wordt 0.5 tot 1.5 gewichtsprocent NaCl gebruikt, maar bij grotere voorkeur 0.6 tot 1.3 gewichtsprocent. De hoeveelheid NaCl in gewichtsprocent is bij grootste voorkeur van een waarde waarmee het mogelijk is om fysiologische isotoniciteit te benaderen.

10

[009] Om de integriteit van vaccins te waarborgen tijdens bevriezing en ontdooiing, kunnen suikers toegevoegd worden. Dit is de vakman wel bekend, en een grote verscheidenheid aan suikers is bruikbaar, over een groot bereik aan gewichtsprocenten van de samenstelling. Goede resultaten werden behaald met glucose, vooral wanneer 2-3 gewichtsprocent gebruikt werd.

15

[010] De uitvinders hebben nu gevonden dat door het gebruik van surfactanten de concentratie van een polysaccharide-immunogeen verhoogd kan worden. Hierdoor kunnen injectievolumes kleiner blijven, wat tot verlaagde irritatie van de huid en weefsels leidt bij de patiënt. Door de verhoogde concentratie is het nu mogelijk om mengsels van polysacchariden stabiel te houden. Hierdoor kunnen vaccins gemaakt worden waarmee meerdere immuunreacties tegelijk verkregen kunnen worden. Een geschikte surfactant is polysorbaat.

20

## CONCLUSIES

1. Samenstelling omvattende een combinatie van een eiwit met een bacterieel polysaccharide van meningokokken, een combinatie van een eiwit met een polysaccharide van de familie *Clostridium*, en een combinatie van een eiwit met een polysaccharide van de familie *Bordetella*.
2. Vaccin omvattende een samenstelling volgens conclusie 1.
3. Vloeistof voor gebruik als excipiënt voor een vaccin, omvattende water en  
0.5-1.5 gewichtsprocent NaCl,  
0.1-5 gewichtsprocent glucose, en  
0.05-0.1 gewichtsprocent van een surfactant.
4. Vloeistof volgens conclusie 3, waarin de pH van de vloeistof in het bereik 7.1-7.4 ligt.
5. Vloeistof volgens conclusie 3, omvattende 0.9 gewichtsprocent NaCl, 2-3 gewichtsprocent glucose, en 0.05-0.1 gewichtsprocent polysorbaat.

35

## A5 – Tekstfragmenten uit het EPO archief behorende bij A4

**Maart 2019** Publicatie met de volgende conclusies zoals ingediend:

- 5 1. Samenstelling omvattende een bacterieel polysaccharide van meningokokken, een polysaccharide van de familie *Clostridium*, en een polysaccharide van de familie *Bordetella*.
2. Vaccin omvattende een samenstelling volgens conclusie 1.
3. Vloeistof voor gebruik als excipiënt voor een vaccin, omvattende water en  
10 0.1-2.0 gewichtsprocent NaCl,  
0.1-5 gewichtsprocent glucose, en  
0.05-0.1 gewichtsprocent van een surfactant.
4. Vloeistof volgens conclusie 3, waarin de pH van de vloeistof in het bereik 7.0-7.4 ligt.
5. Vloeistof volgens conclusie 3, omvattende 0.9 gewichtsprocent NaCl, 2-3 gewichtsprocent glucose, en 0.05-0.1 gewichtsprocent polysorbaat.

15

**Maart 2020** Bezwaren van het Europees Octrooibureau:

- dat conclusie 1 niet geloofwaardig een probleem oplost in het licht van A3 omdat de respons op de geclaimde componenten niet geloofwaardig een combinatie toestaat.
- Ook wordt het bezwaar gemaakt dat conclusie 3 een arbitraire variatie is op de stand der  
20 techniek zoals beschreven in A6 en A7.
- A6 beschrijft ook een pH van 7.0, zodat claim 4 ook niet inventief is.

**Juli 2020** Aanvrager past conclusies aan tot huidige vorm, en schrijft daarbij het volgende:  
25 *“Conjugaat-vaccins zoals nu geclaimd hebben Th1-responsen met een kracht waarvan qua amplitude bekend is dat deze in combinatie gebruikt kunnen worden. Conclusie 1 is daarom nu geloofwaardig functioneel over het hele bereik. Conclusie 3 is ingeperkt tot samenstellingen met 0.5-1.5 gewichtsprocent NaCl, wat een isotoon vaccin mogelijk maakt. Verrassenderwijs kan dit polysaccharidevaccin stabiel geformuleerd worden in een isotone vloeistof om zo bijwerkingen van injecties tegen te gaan. Conclusie 4 is verder van A6 gebracht om de inventiviteit van deze conclusie  
30 nog meer te benadrukken.”*

**5 Januari 2022** Intention to grant met oorspronkelijke tekst en de nieuwe conclusies.

**5 juni 2022** Mention of grant; er zijn verder geen afgesplitste aanvragen binnen deze familie.

35

## A6 - Octrooi over een hepatitis B vaccin

Indiendatum: januari 1970

Publicatiedatum: juli 1971

5 [001] De recente succesvolle isolatie van hepatitis virussen heeft veel onderzoekers geïnspireerd. Hepatitis is een familie van ziektes die een zware last op de maatschappij legt omdat het bijvoorbeeld in ziekenhuizen makkelijk onder personeel kan verspreiden. Er is daarom grote vraag naar een vaccin tegen hepatitis.

10 [002] Vooral hepatitis B is een ziekte die veel voorkomt en waarvoor de vraag naar een vaccin daarom ook nog groter is dan naar bijvoorbeeld vaccins tegen hepatitis A of C. De uitdaging om de isolatie van het virus om te kunnen vertalen naar een succesvol vaccin hangt samen met veel factoren. Zo moet het immunogene eiwit op voldoende schaal vervaardigd kunnen worden, en zo moet de formulering stabiel zijn om transport en opslag van het vaccin mogelijk te maken. Ook moet na toedienen bij mensen, er  
15 een zo laag mogelijke irritatie op de injectieplaats komen.

[003] De uitvinding voorziet in een hepatitis B vaccin waarin een hepatitis B eiwit is opgelost in een vloeistof omvattende water, normaal keukenzout (NaCl), glucose, en citroenzuur. Het is nodig dat het zout bij 0.9 gewichtsprocent aanwezig is, want dit zorgt voor een isotone oplossing. Oplossingen met  
20 0.8 of 1.0 gewichtsprocent zout kunnen eventueel ook gebruikt worden omdat deze waarden volgens sommige toegeeflijkere definities ook als isotoon gezien kunnen worden. Waarden buiten dat bereik geven te veel negatieve bijwerkingen, zoals osmotische shock na injectie.

[004] Voor vaccins is over het algemeen vraag naar alleen die formuleringen die het beste functioneren.  
25 Daarom wordt in deze uitvinding 0.9 gewichtsprocent zout gebruikt. Een isotone oplossing vermindert irritatie en ontsteking rondom de injectieplek, wat tot een sterkere immunrespons kan leiden en wat comfortabeler is voor de patiënt. Ook verlaagt het mogelijke gevoelens van flauwte na injectie.

[005] Het is ongunstig dat vaccins over het algemeen niet gemengd kunnen worden, omdat het lichaam  
30 niet altijd genoeg 'afweerkracht' heeft om tegen meerdere immunogenen tegelijkertijd een respons op te bouwen. Gelukkig is dit remmende effect het sterkst wanneer het immunogeen een polysaccharide is, en bij hepatitis zijn de immunogenen altijd eiwitten. Toch heeft een poging om verschillende de hepatitis vaccins te mengen niet geleid tot beschermende immuniteit, en was dus van een vaccin geen sprake.

35 [006] Als verdere excipiënt kunnen macromoleculen toegevoegd worden om stabiliteit tijdens vriezen en dooien te bevorderen. Geschikte macromoleculen zijn serum-eiwit, polysaccharide, en poly(ethyleen glycol). Voor deze uitvinding zijn serum-eiwitten en poly(ethyleen glycol) het meest geschikt, omdat bekend is dat deze niet precipiteren wanneer er zout aanwezig is in de oplossing.

40

[007] De pH van de samenstelling is bij voorkeur fysiologisch, waarbij rekening gehouden kan worden met mogelijke verzuurde bloedwaarden in geval van ziekte. Voor hepatitis B hebben wij ontdekt dat een pH van 7.0 de meest gunstige resultaten geeft.

## 5 [008] VOORBEELDEN

[009] Van een gedroogd hepatitis B eiwit, op de gebruikelijke wijze verschaft, werd 1 mg opgelost in 1 mL van de volgende oplossing: 9 mg NaCl, 20 mg glucose, en 5 mg citroenzuur, aangevuld met water tot 1000 mg. Dit wordt Vaccin 1 genoemd. Daarnaast werd eenzelfde hoeveelheid hepatitis B eiwit opgelost in 1000 mg water. Dit werd als vergelijking gebruikt.

[010] Twee groepen van 12 muizen werden gevaccineerd met de twee hierboven beschreven oplossingen. Een groep met Vaccin 1 (groep A), de andere groep met de vergelijkingsoplossing (groep B). Een derde groep van 12 muizen werd geïnjecteerd met water (groep C).

[011] Drie weken na behandeling werden de muizen blootgesteld aan hepatitis B virus. Na vier weken waren uit groep A nog 11 muizen in leven, uit groep B nog 3, en uit groep C geen.

[012] Dit is de eerste demonstratie van een samenstelling van excipiënten die een dermate groot effect heeft op de efficiëntie van een eiwithoudend vaccin. De uitvinders hebben verdere eiwithoudende vaccins in ontwikkeling met een soortgelijk ontwerp. Zonder zich te willen binden aan een theorie, stellen de uitvinders voor dat het positieve effect van de excipiënten huist in de stabilisatie van het eiwit, waardoor een Th1-respons tegen de meest natuurlijke vorm van het eiwit opgebouwd wordt, en niet tegen een ingedroogde of anderszins gedenatureerde variant.

## 25 CONCLUSIES

1. Hepatitis B vaccin waarin een hepatitis B eiwit is opgelost in een vloeistof omvattende water, NaCl, glucose, en citroenzuur, waarbij de NaCl bij 0.9 gewichtsprocent aanwezig is.
2. Hepatitis B vaccin volgens conclusie 1, waarin het citroenzuur de pH van het vaccin op 7.0 handhaaft.



## A7 - Octrooi over een tetanus vaccin

Indiendatum: januari 1971

Publicatiedatum: juli 1972

[001] Veel bacteriën kunnen ziektes opwekken. Een bijzonder riskante bacterie is *Clostridium tetani*.

5 Deze bacterie is al sinds de oudheid bekend en veroorzaakt tetanus. De bacterie komt over de gehele wereld voor, maar is het meest aanwezig in warme en vochtige klimaten. In 1974 zijn naar schatting meer dan 200,000 mensen besmet geraakt met tetanus, en zijn bijna 100,000 mensen overleden.

[002] Tetanus is zo gevaarlijk omdat de bacterie op bijna elk oppervlakte kan voorkomen, alsmede in stof, aarde, mest, of speeksel van besmette of dragende wezens. Het tetanus toxine is uitzonderlijk giftig waardoor er geen vaccin van kan worden gemaakt: elk proefdier waarin een respons wordt  
10 geprobeerd op te wekken tegen het toxine, overlijdt voordat een respons is opgebouwd.

[003] Hierdoor is het noodzakelijk om de respons op te wekken tegen de polysacchariden van de bacterie, omdat een vaccin anderszins niet mogelijk is. Helaas is eerder al door verschillende onderzoeksgroepen vastgesteld dat een immuunrespons tegen een polysaccharide slecht opgebouwd  
15 wordt, en vaak zwak is.

[004] De uitvinders hebben ontdekt dat een werkbaar niveau van respons opgewekt kan worden wanneer de concentratie van het bacteriële polysaccharide bijzonder hoog is, namelijk boven de 5 mg/mL. Gebruikelijk worden concentraties van 1 mg/mL al als hoog gezien voor zulke complexe moleculen. Daarnaast is het algemeen bekend dat complexe polysacchariden niet altijd stabiel blijven  
20 in oplossing, en dat hogere concentraties dit effect verergeren. Onder eenvoudige polysacchariden wordt bijvoorbeeld zetmeel verstaan, maar celwand-polysacchariden van pathogenen zijn over het algemeen complex.

[005] Om de hoge concentratie mogelijk te maken wordt volgens de uitvinding gebruik gemaakt van een surfactant. Zoals bekend, hebben surfactanten een emulgerende werking. Doordat ze coördineren aan  
25 bepaalde moleculen die niet stabiel in een waterige oplossing willen blijven, worden deze slecht oplosbare moleculen toch in oplossing gehouden. Effectief kan zo de oplosbaarheid van slecht oplosbare moleculen verhoogd worden. In de praktijk wordt dit bijvoorbeeld toegepast in voedingsmiddelen, om vetten ook in een homogene emulsie te houden wanneer zout aan de samenstellingen toegevoegd worden. Het was nog niet bekend dat dit effect ook optrad voor complexe  
30 polysacchariden.

[006] Het effect van een surfactant kan dynamisch zijn, en er is daarom geen directe correlatie tussen de gebruikte hoeveelheid surfactant, en de bereikte verhoging in oplosbaarheid. Over het algemeen wordt een goed resultaat bereikt met 0.01-1 gewichtsprocent van een surfactant. Bij gebruik van meer dan 0.1 gewichtsprocent surfactant kunnen andere complexen uit de samenstelling mogelijk verstoord  
35 raken. Gelukkig is geen verschil in positief effect gevonden tussen 0.1 en 1 gewichtsprocent.

[007] Surfactanten zijn algemeen verkrijgbaar en een vakman is in staat om zelf een geschikte surfactant te selecteren voor een bepaalde toepassing. Voorbeelden van geschikte surfactanten voor het huidige

vaccin zijn alkylglucose, polysorbaat, en fosfolipiden. Voor polysacchariden zijn met name alkylglucoses en polysorbaten zeer geschikt omdat die ook een suikergroep hebben.

#### [008] VOORBEELDEN

5 [009] Vaccins werden geformuleerd met 1, 3, en 5 mg bacterieel tetanus polysaccharide per mL zuiver water. Deze drie monsters werden in tweeën gesplitst en elk voorzien van 0.1 mg/mL alkylglucose. Daarna werden de monsters een uur bij kamertemperatuur op een rustig zwenkende plaat geplaatst. Alleen monsters met alkylglucose of met ten hoogste 1 mg/mL polysaccharide waren na dit uur nog helder. In andere monsters was met het blote oog al waar te nemen dat de polysaccharide samengeklonterd was en niet meer goed in oplossing was.

10 [010] Bovenstaand experiment werd herhaald nadat aan elk monster ook 1 mg/mL groen fluorescerend eiwit was toegevoegd. Na het uur was elke oplossing nog net zo groen, wat aantoont dat de surfactant geen negatieve invloed heeft op eiwitten.

[011] Een immuunrespons werd gemeten volgens de Th1-methode. Resultaten waren als volgt:

15	<u>Polysaccharide</u>	<u>Alkylglucose</u>	<u>Th1-respons</u>
	1 mg/mL	Nee	1
	1 mg/mL	Ja	1
	3 mg/mL	Ja	3
	5 mg/mL	Ja	5

20

[012] Bovenstaande tabel werd ook opgesteld aan de hand van vergelijkbare experimenten, waarbij als enige verschil 0.02 mg/mL alkylglucose werd gebruikt in plaats van 0.1 mg/mL. De resultaten lagen binnen 99% van elkaar.

25 [013] Hoewel een Th1- respons bij voorkeur hoger is dan 100, is een respons van 5 werkbaar wanneer de vraag naar vaccinatie erg hoog is. Dit maakt de huidige uitvinding dus mogelijk. Het is jammer dat oplosbaarheid boven 5 mg/mL niet bereikt kon worden. Toekomstig onderzoek zal zich richten op methoden om ontsteking rondom de injectieplek te verminderen, en om na injectie flauwte bij patiënten te voorkomen.

#### 30 CONCLUSIE

1. Farmaceutische samenstelling omvattende bacterieel polysaccharide van *Clostridium tetani*, water, en een surfactant.

## A8 – Strategisch document van uw klant, met LECVAC ontwikkelingsplannen

Omdat ons LECVAC product superieur is aan bestaande conjugaten, zijn we van plan het zo snel mogelijk naar de markt te brengen. Er is veel omzet te behalen omdat over de gehele wereld veel tegen meningokokken gevaccineerd wordt. In Nederland is het zelfs onderdeel van het  
5 rijksvaccinatieprogramma, iets waar wij ons toekomstige product graag voor ingezet zouden zien worden. Onze tijdsplanning is als volgt:

Huidige stand van zaken: in vitro onderzoek heeft de LECVAC formulering zoals beschreven in A1  
10 opgeleverd. Het vaccin is stabiel en lang houdbaar, en geeft in proefdieren een zeer goede respons.

December 2022                      Aanvang clinical trials (fase 1) waarin we onderzoek aan LECVAC zullen doen om vast te stellen of het product in patiënten getolereerd wordt. Dit zal de eerste keer zijn dat het aan mensen toegediend wordt.  
15

Juli 2024                              Aanvang clinical trials (fase 2) waarin we onderzoek met LECVAC zullen doen om vast te stellen welke dosis een goede bescherming biedt tegen hersenvliesontsteking.

Januari 2026                      Aanvang clinical trials (fase 3) waarin we onderzoek met LECVAC zullen doen om op grote schaal te bevestigen dat de uitkomsten van de eerdere twee studies juist waren.  
20

Januari 2028                      Verhoopte markttoelating.